

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
FACULTAD DE AGRONOMÍA
CARRERA DE INGENIERIA AGRONÓMICA
PROGRAMA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



TESIS DE GRADO

**VALIDACIÓN DE LA TRANSFERENCIA DE EMBRIONES EN OVINOS
CRIOLLOS (*Ovis aries*) EN LA COMUNIDAD TARACO**

RUTH SIÑANI MAMANI

LA PAZ - BOLIVIA

2021

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRES
FACULTAD DE AGRONOMÍA
CARRERA DE INGENIERIA AGRONÓMICA
PROGRAMA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
VALIDACIÓN DE LA TRANSFERENCIA DE EMBRIONES EN OVINOS CRIOLLOS
(*Ovis aries*) EN LA COMUNIDAD TARACO

Tesis de Grado presentado como requisito
parcial para optar el título de
Médico Veterinario Zootecnista

RUTH SIÑANI MAMANI

Asesor (es):

MVZ, M.Sc, Ph.D. CELSO AYALA VARGAS

Ing. DANTE HERMES MARCA CHOQUECAHUA

Tribunal examinador:

Ing. M. Sc. Rubén Tallacagua Terrazas

Ing. M. Sc. Patricia Fernandez Osinaga

Ing. Eloy Hernán Huacani Rivera

La Paz – Bolivia

2021

DEDICATORIA

A mis padres: Secundino Siñani L. y Wilma V. Mamani M., desde que se enteraron de que ya existía, desde mis primeros pasos, mis primeras palabras, mis primeras experiencias, desde mi primer día de clases en la escuela y en la universidad, en todas mis buenas y malas, ellos estaban ahí, a ellos que cuando estábamos pasando por los peores momentos, no lo sé, pero el pan nunca faltó en la mesa, ni su amor, ni educación; papá: reconozco todo el sacrificio que hiciste por tu familia, eres mi héroe; mamá: una mujer ejemplo a seguir, en tus brazos encuentro paz y fortalece mi ser...los amo.

A mi abuelo, Cecilio Mamani A. que está en el cielo, por tu confianza en mí, cuando elegí esta linda carrera en una de las mejores universidades del país, me apoyaste, siempre alentándome a seguir, a superarme siempre, eres otro de mis ejemplos a seguir, algún día yo sé que te volveré a ver.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por tantas bendiciones, desde la vida, por unos padres maravillosos que siempre estuvieron para mí, son los pilares de mi vida.

A mis hermanos Gustavo, Lady y Sharon por inspirarme y sus ganas de superarse. Gracias Dios mío por mi abuela Teodora que sigue con nosotros, a mi sobrinita Sarahi, tu llegada fue lo mejor que nos pasó, y gracias a toda mi familia.

A la Universidad Mayor de San Andrés, la mejor, por ser mi segunda casa, por las enseñanzas de mis docentes para mi formación profesional y así contribuir con el desarrollo de mi querido país Bolivia.

Gracias al MVZ, M.Sc, Ph.D. Celso Ayala Vargas mi primer asesor, excelente profesional, docente e investigador, por su paciencia durante todo el proceso de la Tesis, por sus consejos, por enseñarme a ser mejor persona, por confiar en mí, gracias por motivarme a ser constante y cumplir todos mis sueños con esfuerzo y dedicación.

Al Ing. Dante Hermes Marca Choquecahua, mi segundo asesor, excelente profesional reconocido en el área de reproducción animal en el país Perú, gracias por compartir sus conocimientos sin limitarse, por su paciencia al guiarme, por su confianza, sus consejos y su incondicionalidad, agradecida con Dios por conocerte.

A mi distinguido Tribunal Asignado, Ing. M. Sc. Rubén Tallacagua Terrazas por su paciencia y tiempo, al Ing. Eloy Hernán Huacani Rivera por sus consejos y confianza, a la Ing. M. Sc. Patricia Fernandez Osinaga por sus consejos, una mujer luchadora y ejemplo a seguir; muchas gracias a ustedes por cada aporte tan valioso que me dieron para el desarrollo y conclusión de la tesis.

A las personas que me apoyaron y acompañaron a que esta idea de la tesis sea realidad: Al MVZ Guevara, Ing. Susaño, a mi Pastor por cada consejo, a mis amigos que con “tu puedes”, “estoy contigo”, “cuenta conmigo”, “¡sigue adelante!” me impulsan a no rendirme. Al Ing. D. Yerson Montevilla, agradezco siempre a Dios por el día en que te conocí, gracias por tantas cosas que hiciste por mí desde el principio, a pesar del tiempo, la distancia y obstáculos siempre estabas y estas ahí, te estimo y admiro mucho.

INDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN	3
1.1 Antecedentes	4
1.2 Justificación.....	4
2. OBJETIVOS	5
2.1 Objetivo general	5
2.2 Objetivos específicos.....	5
2.3 Hipótesis	5
3. MARCO TEÓRICO	5
3.1 Anatomía, comportamiento reproductivo y endocrinología de la hembra ovina	5
3.1.1 Anatomía y función del aparato reproductor de la hembra ovina	5
3.1.2 El ovino criollo	9
3.1.3 Comportamiento reproductivo de los ovinos criollos	10
3.1.4 Ciclos reproductivos de los ovinos	10
3.1.5 Endocrinología.....	11
3.1.6 Aumento del potencial ovulatorio	13
3.2 Transferencia de embriones (TE)	14
3.3 Multiovulación en ovejas donadoras.....	16
3.4 Sincronización de celo en ovejas receptoras.....	22
3.5 Evaluación y cuantificación de embriones	24
3.6 Diagnóstico de gestación	28
4. LOCALIZACIÓN	30
4.1 Ubicación geográfica	30
4.2 Características Climatológicas	30
5. MATERIALES Y MÉTODOS	31
5.1 Materiales.....	31
5.1.1 Semovientes	31
5.1.2 Hormonas	31
5.1.3 Insumos.....	31
5.1.4 Equipos de laboratorio	31
5.1.5 Material de laboratorio	31
5.1.6 Material de campo	32
5.1.7 Material de gabinete	32
5.2 Métodos	32
5.2.1 Animales.....	32
5.2.2 Condición corporal.....	33

5.2.3	Edad.....	33
5.2.4	Alimentación.....	34
5.2.5	Sanidad: Tratamiento preventivo y curativo.....	34
5.2.6	Identificación.....	34
5.2.7	Protocolo de multiovulación en las ovejas donadoras.....	34
5.2.8	Protocolo de sincronización de celo en las ovejas receptoras.....	37
5.2.9	Colecta y evaluación de embriones.....	39
5.2.9.1	<i>Técnica quirúrgica para la colecta de embriones.....</i>	39
5.2.9.2	<i>Evaluación y clasificación de embriones.....</i>	40
5.2.10	Siembra de embriones.....	41
5.2.11	Análisis estadístico.....	42
5.2.12	Diagnóstico de gestación.....	43
6.	RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	44
6.1	Resultados.....	44
6.1.1	Conteo de los cuerpos lúteos.....	46
6.1.2	Evaluación y clasificación de embriones.....	48
6.1.3	Diagnóstico de la gestación por efecto de la transferencia.....	56
6.2	Discusiones.....	56
6.2.1	Cuerpos Lúteos en las ovejas donadoras.....	56
6.2.2	Evaluación y clasificación de embriones.....	58
6.2.3	Diagnóstico de gestación.....	59
6.2.4	Parición.....	59
7.	CONCLUSIONES.....	59
8.	RECOMENDACIONES.....	60
9.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	61
10.	ANEXOS.....	69

INDICE DE CUADROS

Tabla 1. Distribución de los animales.....	33
Tabla 2. Protocolo de multiovulación en las ovejas donadoras	37
Tabla 3. Protocolo de sincronización de celo en las ovejas receptoras.....	38
Tabla 4. Día 12, detección de celo y monta en las ovejas donadoras con presencia de dos machos reproductores (1 Hampshire Down y 1 Corriedale).....	44
Tabla 5. Día 13, monta en las ovejas donadoras con presencia de dos machos reproductores (1 Hampshire Down y 1 Corriedale)	44
Tabla 6. Día 14, monta en las ovejas donadoras con presencia de dos machos reproductores (1 Hampshire Down y 1 Corriedale).....	45
Tabla 7. Tiempo total estimado de largo del celo en las ovejas donadoras.....	45
Tabla 8. Número de cuerpos lúteos observados en las ovejas donadoras.....	46
Tabla 9. Cantidad total de cuerpos lúteos encontrados en las ovejas donadoras.....	47
Tabla 10. Número y calidad de embriones encontrados en la primera oveja donadora...	49
Tabla 11. Número y calidad de embriones encontrados en la segunda oveja donadora.	49
Tabla 12. Número y calidad de embriones encontrados en la tercera oveja donadora...	50
Tabla 13. Cantidad y calidad de embriones colectados en las ovejas donadoras.....	51
Tabla 14. Día 13, detección de celo en las ovejas receptoras, con la presencia de machos receptores en dos horas de día.....	52
Tabla 15. Día 14, detección de celo en las ovejas receptoras, con la presencia de machos receptores en dos horas de día.....	53
Tabla 16. Tiempo total estimado de largo del celo en las ovejas receptoras.....	53
Tabla 17. Ubicación del cuerpo lúteo en el ovario de las ovejas receptoras.....	54
Tabla 18. Calidad y estado de los embriones transferidos de las ovejas donadoras a las receptoras.....	55
Tabla 19. Porcentaje de gestación en las ovejas receptoras transferidas.....	56

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Embriones de diferente calidad.....	25
Figura 2. Mapa del Municipio de Taraco.....	30
Figura 3 y 4. Ovejas donantes.....	33
Figura 5. Aplicación de la esponja intravaginal.....	34
Figura 6. Aplicación de FSH.....	35
Figura 7. Retiro de la esponja intravaginal.....	35
Figura 8 y 9. Aplicación de FSH y monta.....	36
Figura 10. Monta en la oveja donadora.....	36
Figura 11. Ovejas donadoras y receptoras.....	36
Figura 12. Macho ovino detector de celo en las ovejas receptoras.....	38
Figura 13. Conteo de los cuerpos lúteos.....	39
Figura 14. Colecta de embriones.....	40
Figura 15. Búsqueda y evaluación de embriones.....	41
Figura 16. Momento de la transferencia del embrión.....	42
Figura 17 y 18. Detección de celo en las ovejas transferidas.....	43
Figura 19. Tiempo total estimado de largo del celo en las ovejas donadoras.....	46
Figura 20. Cantidad total de cuerpos lúteos encontrados en las ovejas donadoras.....	48
Figura 21. Vista del microscopio donde hay presencia de embriones de la primera y segunda donadora.....	49
Figura 22. Embriones de la tercera oveja donadora colectados del ovario izquierdo.....	50
Figura 23. Embrión de la tercera oveja donadora colectados del ovario derecho.....	50
Figura 24. Cantidad total de embriones colectados en las donadoras.....	52
Figura 25. Tiempo total estimado de largo del celo en las ovejas receptoras.....	54
Figura 26. Fármacos empleados para el pre y postquirúrgico.....	69
Figura 27. Ingreso de la donadora para la colecta de embriones.....	69
Figura 28. Asepsia del área quirúrgica.....	70
Figura 29 y 30. Aplicación de anestesia local por infiltración con Lidocaína.....	70
Figura 31. Laparotomía exploratoria para la evaluación de cuerpos lúteos	71
Figura 32. Colecta de embriones – lavado.....	71
Figura 33. Búsqueda de embriones.....	72

RESUMEN

El presente trabajo se realizó en el departamento de La Paz, en el Municipio de Taraco de la provincia Ingavi con el objetivo de validar la transferencia de embriones en ovinos criollos (*Ovis aries*). Para ello se utilizaron 19 hembras criollas (4 donadoras y 15 receptoras), estas fueron seleccionadas con una condición corporal de tres, múltiparas y que no presenten problemas reproductivos. El protocolo para las receptoras inició con la colocación de las esponjas intravaginales por 11 días más una dosis de eCG al momento de removerlo. Para la multiovulación en las donadoras de igual forma se inició con la aplicación de las esponjas y a su retiro una dosis de eCG, la aplicación de FSH consistió en siete dosis decrecientes a partir del noveno día y la fertilización fue por monta natural. El 100% de las donadoras y receptoras presentaron celo. La colecta embrionaria de las ovejas donadoras se realizó el día siete después de la fertilización. Para la observación de los cuerpos lúteos, lavado de los embriones y la transferencia se realizó un procedimiento quirúrgico en la región medio ventral de la oveja. El promedio de cuerpos lúteos encontrados en las ovejas donadoras fue 5.5 ± 2.17 y 1.75 ± 1.47 de embriones encontrados, su clasificación se evaluó en base a sus aspectos morfológicos con 10X y 40X observando siete embriones viables, cuatro blastocistos y tres mórulas de primer y segundo grado. El diagnóstico de gestación se realizó con la presentación del celo en hembras detectado por los machos, a partir del día 15 al 20 posterior a la transferencia embrionaria, repitiendo la misma acción del día 30 al 37, donde cuatro ovejas retornaron al celo y tres hembras se encontraban en gestación, lo que equivale a un 42.86% de preñez, las pariciones fueron normales y no presentaron problemas de distocia. La respuesta al protocolo por parte de las ovejas criollas tuvo diferencias en la cantidad de cuerpos lúteos encontrados en cada ovario detectándose en dos hembras donantes que no existía respuesta al tratamiento de multiovulación en el ovario izquierdo y por consecuencia en la cantidad de embriones.

Palabras clave: Ovinos criollos, multiovulación, transferencia de embriones, reproducción.

TRANSFER OF EMBRYOS IN CREOLE SHEEP (*Ovis aries*) IN THE TARACO COMMUNITY

ABSTRACT

The present work was carried out in the department of La Paz, in the community of Taraco with the objective of validation of the transfer embryos in Creole sheep (*Ovis aries*). Used 19 creole females were used (4 donors and 15 receptors), these were selected with a body condition of three, multiparous and that did not present reproductive problems. The protocol for the receptors began with the placement of the intravaginal sponges for 11 days and upon removal, and eCG dose was performed. The multiovulation in the donors, the same way began with the placement of the sponges, a dose of eCG to the removal of the sponges and seven decreasing doses of FSH were applied, the fertilization was by natural mate, the donors and receptors 100% showed heat. The embryo collection of the donor ewes was carried out on day seven after fertilization. The observation of the luteal corpus, washing of the embryos and the transfer, a surgical procedure was performed in the mid-ventral region of the sheep. The average of the luteal corpus found in the donor ewes was 5.5 ± 2.17 and 1.75 ± 1.47 of embryos found, their classification was evaluated based on their morphological aspects observed to microscopical increase with 10X and 40X, seven viable embryos, four blastocysts and three first and second morula grade. The pregnancy diagnosis was made with the presentation of heat in females detected by males, from day 15 to 20 after the embryo transfer, repeat the same action from day 30 to 37, where four ewes returned to heat and three females. They were in gestation, which is equivalent to 42.86% of pregnancy, the deliveries were normal and they did not present dystocia problems. The response to protocol by the creole sheep had differences in the number of luteal corpus in each ovary, detecting in two donor females that there was no response to multiovulation treatment in the left ovary and consequently in the number of embryos.

Keywords: creole sheep, multiovulation, embryo transfer, reproduction

1. INTRODUCCIÓN

La oveja doméstica ha estado asociada al hombre desde tiempos remotos, la llevó a ser una de las primeras especies de mamíferos en ser domesticada por su contribución tanto en la alimentación (carne, leche) como en la proporción de lana (Gordón, 1997).

A nivel mundial, en el sector de ganado ovino hay 1.209.467.079 cabezas distribuidos en las diferentes áreas, China ocupa el primer lugar con 164.079.093; Perú cuenta con 11.331.908, Ecuador con 355.897 y Bolivia con 7.493.000 cabezas de ganado ovino, quedando por debajo de Perú y está sobre Ecuador. (FAOSTAT, 2018), en Bolivia el departamento de La Paz ocupa el 30% de cabezas de ganado ovino (Oviedo et al., 2007).

La crianza de ovinos en las diferentes regiones del país no ha cambiado notoriamente, la mayoría de los productores siguen con los sistemas de crianza tradicional (Oviedo et al., 2007); siendo así, que la cría de ganado ovino criollo responde al objetivo de ahorro familiar a corto plazo, esto quiere decir que de acuerdo a las necesidades la familia se realiza la venta de sus animales (Ríos, 1993).

En los últimos años las biotecnologías reproductivas (la ovulación múltiple, inseminación artificial, transferencia de embriones y otras técnicas) han cobrado interés de los productores debido a los beneficios productivos y sanitarios; estas a su vez permiten aumentar la productividad de las especies domésticas, asegurar la conservación de los recursos genéticos, difundir material genético de alto valor comercial y reducir riesgos en la transmisión de enfermedades, debido a que en los primeros estadios de su desarrollo los embriones presentan una protección natural contra los agentes infecciosos y son resistentes (López, 2004).

1.1 Antecedentes

Los productores que abastecen alimentos ya sean de origen animal o vegetal a la población, cada vez están más interesados en mejorar su producción con el uso de las biotecnologías, las cuales están revolucionando a nivel mundial y desde hace varios años atrás.

La biotecnología en la reproducción animal es un claro ejemplo de aquello, los productores pecuarios en el país emplean el uso de la inseminación artificial a tiempo fijo (I.A.T.F.), la transferencia de embriones y otras técnicas.

El potencial en la población de animales en el Altiplano boliviano son los ovinos y los camélidos, que representan la mayor cantidad de número de cabezas en el país, con el tiempo, se van mejorando la producción de estos animales mediante el buen manejo animal, sanidad, mejora en las infraestructuras, la alimentación, bienestar animal y la reproducción con el uso de las biotecnologías.

1.2 Justificación

A medida que los años pasan, las necesidades de una mejor alimentación y nutrición de nuestra población aumentan, estos requieren de altos niveles de productos como las proteínas de origen animal, en este sentido los productores pecuarios se ven en la obligación de mejorar sus técnicas reproductivas y con ello incrementan sus ingresos económicos. Por el cual se busca nuevas técnicas de mejora en la producción de ovinos, por lo que se propone implementar nuevas biotecnologías reproductivas para cubrir el déficit en la producción de nutrientes de origen animal.

En Bolivia, existe poca experiencia con relación a la Ovulación Múltiple y la Transferencia de Embriones (MOET), esto por el uso de las biotecnologías y el costo de la producción de embriones in vivo o in vitro. Por otro lado está el comportamiento reproductivo de los ovinos criollos ya que estas perdieron el ciclo estacional.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

- Validar la transferencia de embriones en ovinos criollos (*Ovis aries*) en la Comunidad Taraco.

2.2 Objetivos específicos

- Evaluar la respuesta al protocolo de multiovulación en cada uno de los ovarios.
- Evaluar y cuantificar el número de embriones colectados por la técnica de laparotomía.
- Determinar el porcentaje de gestación por efecto de la transferencia.

2.3 Hipótesis

- HO: Con el protocolo de multiovulación no se encontraron embriones viables en ovejas criollas.

3. MARCO TEÓRICO

3.1 Anatomía, comportamiento reproductivo y endocrinología de la hembra ovina

3.1.1 Anatomía y función del aparato reproductor de la hembra ovina

a. Ovarios:

Se encuentran suspendidas en la región sub lumbar por el ligamento ancho, producen los óvulos y las hormonas sexuales femeninas (estrógeno y progesterona), el ovario ovino está formado por una pared externa, “corteza” y “médula”, ambas están rodeadas por un epitelio superficial conocido como epitelio germinal (Hafez, 1993). Posee funciones exocrinas (liberación de óvulos) y endocrinas (formación de esteroides hormonales), miden entre 1,3 a 1,9 cm, además tiene capacidad de responder a hormonas adenohipofisarias (Boeta y col., 2018).

- **Corteza:** Contiene los folículos ováricos que se desarrollan hasta liberar los óvulos y los cuerpos lúteos responsables de mantener la gestación o ambos, en diferentes etapas de formación o regresión (Hafez, 1993). Se divide en varias porciones, la túnica albugínea que es una capa densa de tejido conectivo y la

corteza propiamente dicha constituida por folículos en diferentes estadios en desarrollo, así como por estructuras derivadas de los folículos, como cuerpos hemorrágicos, lúteos, corpus albicans y folículos atéricos (Boeta y col., 2018).

- **Médula:** Compuesta de vasos, nervios y el tejido conjuntivo constituida por vasos sanguíneos, nervios y vasos linfáticos, los cuales ocupan completamente la porción central del ovario (Boeta y col., 2018).
- **Posición de los ovarios:** El tamaño, forma y posición de los ovarios varían de manera considerable durante la vida de la oveja, estos cambios se deben al crecimiento de los folículos productores de gametos y así también la transformación de estos en glándulas temporales cuya función es mantener la gestación (Boeta y col., 2018).
- **Formación y maduración folicular:** Las células germinales ocupan la superficie de la gónada en desarrollo desde las fases tempranas del desarrollo embrionario. En el ovario, las células primordiales se agrupan constituyendo las ovogonias; el desarrollo de folículo quedará detenido hasta la pubertad (Hafez, 1993). El folículo primario se desarrolla a partir del primordial con varias capas de células foliculares rodeando al ovocito, estas adquieren forma cuboidal transformándose en células de la granulosa, es en esta etapa cuando el ovocito se rodea de una capa clara de material extracelular, que es la zona pelúcida (Boeta y col., 2018). El folículo primario empezará a formar una cavidad, el antro, con lo que quedará transformado el folículo secundario; el antro es un espacio lleno de fluido. El folículo se encuentra rodeado de células del estroma modificadas llamadas teca folicular, la cual está constituida por teca interna y teca externa, cuando el folículo se rompe al momento de la ovulación, el óvulo rodeado de su corona radiada y el líquido folicular son expulsados hacia las porciones superiores del oviducto, las células que han permanecido en el folículo colapsan hacia la cavidad central, la cual ha sido llenada de sangre, constituyendo el cuerpo hemorrágico (Boeta y col., 2018).
- **Cuerpo lúteo:** Está constituido por células tecales y de la granulosa hipertrofiadas, los espacios serán llenados por tejido conectivo y capilares sanguíneos, este cuerpo tendrá la función de secretar progesterona en forma de

gránulos por las células luteínicas hasta el momento de involucionar (Hafez, 1993). Si no hay fecundación, el cuerpo amarillo sufre regresión, lo cual permite que otros folículos ováricos grandes maduren, a medida que sus células degeneran, el órgano completo disminuye de tamaño, adquiere color blanco o pardo pálido y recibe el nombre de *corpus albicans*, que no es más que la cicatriz fibrosa dejada por el cuerpo lúteo (Boeta y col., 2018).

b. Oviductos:

Están suspendidos en la mesosalpinx que es un pliegue peritoneal derivado de la parte lateral del ligamento ancho, puede dividirse en tres segmentos funcionales:

- El infundíbulo (abertura abdominal en forma de embudo cerca del ovario) que tiene un área superficial de 6 a 10 cm².
- La ampolla (dilatada y más distal) que ocupa aproximadamente la mitad de la longitud del oviducto y es el lugar donde ocurre la fecundación.
- El istmo (que se conecta con la luz uterina) (Galina, 2008), sus funciones son el transporte de óvulos y espermatozoides; proporciona un medio óptimo para la unión de los gametos, donde ocurren las primeras divisiones celulares del embrión, los embriones permanecen en el oviducto unos tres días antes de ser transportados al útero, este ambiente es tanto nutritivo como protector para espermatozoides, oocito y embrión subsecuente (Hafez, 1993).

c. Útero:

Conformado por el cuerpo del útero, el cérvix y los dos cuernos uterinos que miden alrededor de 10 a 12 cm. En ovinos el epitelio uterino tiene varias carúnculas, ambos lados del útero están unidas a las paredes pélvica y abdominal por el ligamento ancho del cual recibe su aporte sanguíneo y nervioso; este órgano está formado por tres capas musculares: endometrio, miometrio y adventicia (serosa) (Galina, 2008). El útero realiza varias funciones, su principal función es retener y nutrir al feto o embrión, transporte de espermatozoides desde el sitio de eyaculación hasta el sitio de la fecundación en el oviducto y regulación del funcionamiento del cuerpo amarillo, después de la implantación, el desarrollo del embrión depende del suministro vascular adecuado dentro del endometrio, el útero es capaz de experimentar cambios de tamaño, estructura y posición

para satisfacer las necesidades del producto en crecimiento, después del parto, el útero casi recupera su tamaño y condición previos por un proceso llamado involución (Hafez, 1993).

d. Cuello uterino o cérvix:

Es el órgano que separa el útero de la vagina, mide 2,5 a 5,0 cm de largo, el extremo vaginal del cérvix se ubica centralmente en el trasfondo vaginal presentando distintas formas, lo que junto con su estrechez significa la principal dificultad en la Inseminación Artificial (Hafez, 1993).

Es una estructura parecida a un esfínter, órgano fibroso formado por tejido conjuntivo predominantemente y pequeñas cantidades de tejido muscular liso, se caracteriza por una pared gruesa y tienen bordes transversales o alternados en espiral, llamados los anillos cervicales estos anillos son prominentes y se adaptan unos con otros cerrando perfectamente el cuello, la función principal es prevenir la contaminación del útero de agentes patógenos externos, sirve además como reservorio para el semen después de la monta natural (Hafez, 1993). Durante el estro esta estructura se dilata debido a los altos niveles de estrógeno, así mismo ocasionan que las células epiteliales del cérvix secreten moco con propiedades antibacterianas para proteger el útero, en la gestación este moco se torna más denso, formando un tapón de consistencia gelatinosa que sella y protege el útero hasta el final de la gestación (Hafez, 1993). Cualquier mala práctica que ocasione la ruptura de este sello protector puede ocasionar un eventual aborto y la única vez en que el cuello uterino está abierto es antes del parto, en este tiempo el tapón cervical es licuado y el cuello uterino se dilata para permitir la expulsión del feto y las membranas fetales (Boeta y col., 2018).

e. Vagina:

Se extiende desde el orificio externo del cuello uterino hasta la desembocadura de la uretra, en la oveja mide de 10 a 15 cm, su pared consta de un epitelio superficial, una capa muscular y una serosa, el crecimiento del epitelio vaginal se acelera durante el estro (celo) y la descamación se presenta al final del estro o al principio del metaestro. Aunque la vagina no contiene glándulas, sus paredes están lubricadas por trasudados del epitelio vaginal, moco cervical y secreciones endometriales, el angosto conducto vaginal, el

medio microbiológico y bioquímico de la vagina protegen las vías reproductivas superiores contra microorganismos invasores (Boeta y col., 2018).

La vagina, tiene múltiples funciones en la reproducción, es el órgano de la cópula donde se deposita y coagula el semen hasta que los espermatozoides son transportados por medio de macromoléculas del moco cervical hacia el útero y posteriormente a los oviductos, sirve además como canal del parto, la disposición de la musculatura vaginal de tipo rugoso permite la distensión de la vagina durante el apareamiento y el parto, estas funciones se favorecen por varias características fisiológicas propias de la vagina como contracción, expansión, involución, secreción y absorción (Hafez, 1993).

f. Genitales externos:

Está el vestíbulo donde su unión con la vagina está marcada por el orificio uretral externo, el vestíbulo secreta un líquido viscoso gracias a las glándulas de Bartholin; también están los labios mayores y menores que son visibles del aparato reproductor de la hembra, está formado por los labios vulvares izquierdo y derecho, tiene la función de aislar la vagina del exterior; y el clítoris que está compuesto de tejido eréctil cubierto de epitelio escamoso estratificado con abundantes terminaciones nerviosas sensoriales (Boeta y col., 2018).

3.1.2 El ovino criollo

Los ovinos criollos son animales adaptados en diferentes zonas agroecológicas, estos provienen de la descendencia de los ovinos traídos por los españoles. Sus principales características son de alta rusticidad, mediana prolificidad, bajo nivel productivo de lana y carne, el promedio de peso vivo es de 20 kg para ovejas y 30 kg para carneros, el peso de vellón promedio es de 1,5 kg, actualmente es la raza ovina de mayor población en el país. El ganado ovino criollo esta aclimatado en las diferentes ecorregiones (Altiplano, valles y trópico), posee genes fundamentales para el tema de mejoramiento genético, por su rusticidad en las pésimas condiciones de alimentación (Ulloa y col., 2009).

3.1.3 Comportamiento reproductivo de los ovinos criollos

El anestro estacional durante la lactancia dura aproximadamente 107 días, el comportamiento que demuestra la borrega criolla en celo es bastante discreto en relación con otras especies y razas, es imperceptible si no hay presencia de macho. Cuando la borrega está en celo y tiene en presencia al macho el comportamiento es apreciable, se coloca cerca de él, prácticamente lo busca, el macho mueve la cola y voltea frecuentemente, cuando éste detecta que la hembra está en celo, comienza a cortejarla, acto que consiste en seguirla, emitiendo sonidos característicos. Manotea las partes laterales de la borrega con uno de sus miembros anteriores, apoya la cabeza y el cuerpo en la borrega, olfatea los genitales de la borrega, levanta la cabeza y constriñe los belfos superiores, hasta que finalmente, apoyado en los miembros posteriores da un salto sobre la borrega colocando los miembros anteriores sobre el dorso y una vez que ubica la entrada vulvar después de varios intentos introduce con fuerza el pene acompañado de eyaculación simultánea, luego de ello el carnero desciende y queda tranquilo para luego miccionar (Delgado y Urviola, 2005).

3.1.4 Ciclos reproductivos de los ovinos

- **Las poliéstricas estacionales:** Según Cruz (2018), su estacionalidad está regida por el fotoperiodo, donde su percepción se hace a través de la secreción de la melatonina para medir la duración del día (horas luz), esta es secretada durante la fase oscura, una larga duración de la secreción se interpreta como un día corto y estimula la actividad ovárica, de modo que sus crías nacen en la época más favorable del año (la primavera), lo que provocó que evolucionara un patrón reproductivo anual. Aunque los machos son capaces de cubrir durante todo el año, fuera de la estación reproductiva se registra una falta de libido y una disminución en la producción y la calidad espermática (Thimonier, 2003). Arroyo, (2011) también resalta que hay una clara estacionalidad reproductiva observada en ovejas de razas europeas, esto ocurre a pesar de que las hembras se encuentran en una región cercana al ecuador.

- **Las que perdieron el ciclo estacional:** Se mencionan a las ovejas criollas, existen estudios que infieren que las ovejas originarias de latitudes iguales o bajas al ecuador carecen de estacionalidad reproductiva (poliéstrica anual) debido a su capacidad para tener dos partos durante el año (Balcázar y col.,2018). Así también Delgado y Urviola, (2005) realizaron investigaciones que determinaron que la mejor época para el empadre se encontraba entre el 15 de marzo y el 15 de abril, también resaltaron que en los rebaños donde permanentemente están juntos las hembras y los machos, como es en el caso de los pequeños productores, los apareamientos son en los meses comprendidos entre diciembre y julio, donde los partos se dan a partir de junio hasta diciembre. Arroyo, (2011) también observa una época reproductiva anual extensa en las ovejas criollas, con tendencia a ciclar de manera continua, sugiere que, por su origen, no son sensibles a los cambios anuales en la duración del fotoperiodo.

3.1.5 Endocrinología

a. Ciclo estral de la oveja

Según Delgado y Urviola (2005), el celo o estro es el período fértil que presenta la oveja con intervalos regulares de 17.65 días como promedio, con rangos de 15 a 20, a menos que esta haya quedado preñada, este ciclo estral se puede dividir en dos fases: folicular y luteal. La fase folicular es relativamente corta (3-4 días), mientras que la fase luteal ocupa el resto del ciclo (14 días) (Gibbons y Cueto, 2004).

Uno de los rasgos más importantes de la reproducción ovina es la estacionalidad, aunque por supuesto, esto no es algo exclusivo de las ovejas, es decir existe una alternancia entre los periodos de anestro y de actividad sexual; sin embargo en regiones más tropicales son poliéstricos todo el año, siendo lo contrario en climas templados donde la estacionalidad está influenciada por el fotoperiodo o duración de la luz diurna considerándose a estas “reproductoras de días cortos (Rosa y Bryan, 2003). Según Daza, (2004), la duración de la estación reproductiva varía según la especie, raza, estado nutricional y lactación. Durante los días cortos, la hembra muestra ciclos estrales regulares, conducta de estro y ovulación; en el macho, se incrementa la

espermatogénesis, la síntesis de testosterona y el deseo sexual (Malpaux y col., 1999). Estas variaciones fisiológicas anuales proporcionaron los fundamentos para afirmar que esta especie muestra estacionalidad reproductiva, se ha demostrado que el origen de la raza determina el comportamiento reproductivo estacional (Rubianes, 2000).

- **Fase folicular**

El crecimiento folicular está regulado por dos hormonas, las gonadotrofinas, que liberadas en el torrente sanguíneo por la glándula hipofisiaria, ejercen su acción en el ovario, estas hormonas son el folículo estimulante (FSH) y la luteinizante (LH), la FSH estimula el crecimiento temprano de los folículos, mientras que la LH es necesaria para completar la fase final de su crecimiento (Galina, 2008). Así mismo, las gonadotrofinas estimulan a los folículos en la secreción de estrógenos. Cuando el nivel de estrógenos en sangre es suficientemente alto, se produce la liberación de un pico de LH, éste llamado pico pre-ovulatorio de LH, provoca cambios en las paredes del folículo, determinando su ruptura y consiguiente liberación del óvulo, 18-24 horas más tarde (Gibbons y Cueto, 2004). El celo se presenta durante la última mitad de la fase folicular; los folículos maduros o de Graaf son responsables de la producción de estrógenos que determinan los cambios anatómicos y de comportamiento asociados con el celo. Los signos externos de manifestación del celo en la oveja no son muy marcados, éstos incluyen el enrojecimiento de la vulva y la secreción vaginal de mucus; sin embargo, el único signo inequívoco de que una hembra está en celo, es que permanezca inmóvil frente al macho ante el intento de cópula (Gibbons y Cueto, 2004).

- **Fase luteal**

Luego de la ovulación, las células de la granulosa en la pared rota del folículo de Graaf proliferan y se transforman en células luteínicas que llenan el antro del folículo, al cabo de 4-5 días, se habrá formado un cuerpo sólido y amarillo, denominado cuerpo lúteo, responsable de la secreción de progesterona, ésta hormona prepara al útero para la anidación del embrión (Hafez, 1993). Los niveles de progesterona alcanzan un pico alrededor de seis días después de la ovulación y permanecen altos durante toda la gestación, de no ocurrir gestación, el cuerpo lúteo decrece en tamaño, se vuelve pálido y su secreción comienza a decaer, con el decaimiento del nivel de progesterona

sanguínea al final de la fase luteal, se inicia el crecimiento de nuevos folículos (Gibbons y Cueto, 2004).

La secreción de un agente luteolítico producido por el útero es la prostaglandina F2 alfa, que determina la pérdida de actividad biológica del cuerpo lúteo en las ovejas no preñadas. Esta circunstancia es de sumo interés pues la administración exógena de prostaglandinas sintéticas puede ser utilizada para sincronizar celos durante la estación reproductiva (Gibbons y Cueto, 2004).

3.1.6 Aumento del potencial ovulatorio

a. Hormona Folículo Estimulante (FSH)

La FSH es un iniciador de la actividad ovárica para inducir superovulación, ya que promueve directamente el crecimiento de los folículos ováricos, la administración de FSH exógena a mamíferos en el momento de aparición de la ola folicular estimula el crecimiento de todos los folículos de más de 1,7 mm de diámetro que normalmente terminarían en atresia durante cada ciclo de celo (Forcada y col., 2009).

Como la FSH presenta una vida media corta (una semivida de 5 horas y es indetectable en el flujo sanguíneo 12 horas después de la inyección), se requiere una administración frecuente de la misma al objeto de mantener concentraciones plasmáticas suficientes para lograr una respuesta ovárica adecuada, de manera que la inducción a la superovulación con una única inyección de FSH no ha ofrecido resultados satisfactorios, por ello, se utilizan protocolos de 4 a 8 inyecciones cada 12 horas. Tradicionalmente, se ha considerado que un protocolo de dosis constantes es la más adecuada para preparados con un menor contenido de LH (Forcada y col., 2009).

b. Gonadotrofina Coriónica Equina (eCG)

Ha sido la primera hormona utilizada en programas de superovulación ovina, la eCG presenta actividad FSH y LH predominando la primera, con lo que actúa promoviendo el desarrollo folicular, la secreción y la multiplicación de las células de la granulosa, así como la liberación endógena de LH (Forcada y col., 2009).

Una característica particular de la eCG es su elevado contenido en ácido siálico, lo que retrasa su metabolización y aumenta considerablemente su periodo de acción hasta casi las 24 horas, facilitando su aplicación en una única dosis de 1000-2000 Unidades Internacionales (UI) aplicada entre 24-48 horas antes del fin del tratamiento de sincronización (Forcada y col., 2009).

3.2 Transferencia de embriones (TE)

La transferencia de embriones empezó a hacerse en conejos de forma experimental a principios del siglo. Desde entonces se ha mejorado bastante este método en diferentes especies, sobre todo el vacuno donde se ha desarrollado en gran escala (Folch y col., 1989), además la primera transferencia con éxito en ovinos fue en el año 1933 (Martinez, 2006)

La transferencia de embriones es un método de reproducción asistida que consiste en la producción de múltiples embriones, por unas hembras donantes y transferirlas en el útero antes de la implantación en varias hembras receptoras (madres portadoras gestantes), donde los embriones se desarrollan; los corderos que se obtienen presentan las características genéticas de las ovejas donadoras, mientras que las receptoras solo están para que se produzca la gestación (Folch y col., 1989).

Vivanco (1999), menciona que la transferencia de embriones es un método que permite aumentar al máximo la descendencia de las ovejas que tienen características zootécnicas deseables, así también es el método más efectivo para la migración de genes (Thibier y Guerin, 2000), de una misma oveja se pueden obtener embriones repetidas veces, es decir, una oveja que en condiciones normales de explotación daría de uno a dos crías por año, pero utilizándola como donadora de embriones puede llegar a dar más de 50 crías por año a su vez, conjuntamente con la inseminación artificial, son excelentes herramientas para el mejoramiento genético de majadas y hatos (Gibbons y Cueto, 2004).

Los tratamientos hormonales para lograr una ovulación múltiple (OM) y la Transferencia de Embriones permiten utilizar intensivamente a las hembras genéticamente superiores (Gibbons y Cueto, 2004).

La transferencia de embriones es una biotecnología aplicada para el incremento de la producción animal, la conservación, e intercambio de material genético con la intención de preservar especies en peligro de extinción que brinda la posibilidad de disponer bancos genéticos para su conservación y un reaseguro sanitario para evitar la transmisión de enfermedades; a la misma vez, el incremento de la eficiencia de la producción y congelamiento de embriones, así mismo observan que la transferencia de embriones en ovinos, debido a su alto costo, esta implementación se encuentra limitada, así que hacen lo posible para maximizar la producción de embriones y su sobrevivencia para obtener varias crías de alto valor genético y reducir los costos (Vivanco, 1999 y Stockebrand, 2003).

La finalidad de la aplicación de esta técnica en los animales domésticos tiene aplicaciones de orden genético, aumento de la presión de selección, reducción del intervalo generacional, comercialización mediante la importación, la exportación y el estado sanitario (por lo que varios agentes infecciosos no se transmiten por el embrión o éste puede ser descontaminado previo a su congelación), es más fácil y barato transportar embriones que animales vivos, su conservación y recuperación es más eficaz de los individuos exóticos y especies en peligro de extinción (Gibbons y Cueto, 2013).

Una de las condiciones importantes para realizar la ovulación múltiple y la transferencia de embriones es la condición corporal, la edad y un buen protocolo de sincronización de celo en las ovejas receptoras que se detalla a continuación.

- **Condición corporal (CC)**

La condición corporal es una técnica de valoración que se realiza mediante palpación lumbar, permite estimar la cantidad de grasa bajo la piel, expresa el estado nutricional del animal, existe una marcada influencia acerca de la menor supervivencia de los embriones antes de la implantación en ovejas con muy bajo peso o subnutrición muy severa antes del servicio (Doney, 2012), en cambio, cuando los animales presentan buenos o altos pesos corporales, el peso vivo no afecta la supervivencia de los embriones; el éxito de la preñez es posible lograr cuando los requerimientos mínimos de alimento están satisfechos (González y Tapia, 2017).

La condición corporal de los ovinos se lleva a una escala de uno a cinco puntos, cinco corresponde a un animal con sobrealimentación (oveja sobre engrasada), uno es cuando esta subalimentada (una oveja muy flaca) y desde el punto de vista reproductivo, el puntaje de la condición corporal adecuada tiene que ser tres, esto para ser utilizada en planes reproductivos (González y Tapia, 2017).

- **Edad**

Se recomienda usar ovejas de dos años para adelante y no usar borregas como madres receptoras (6 a 18 meses), esto para evitar la mortalidad embrionaria debido a un desequilibrio hormonal, lo que también lleva a menores porcentajes de fecundación, así como la falta de desarrollo uterino, lo indicado son las hembras adultas y multíparas que también pueden llevar a cabo un buen amamantamiento (Nunes, 2001). La técnica más efectiva para determinar la edad es mediante la cronología dentaria, la oveja con dientes de leche es menor de un año, de 12 a 18 meses tiene sus primeros incisivos definitivos, de 18 a 24 meses tiene dos pares de incisivos, con aproximadamente tres años tiene tres pares de dientes y de cuatro años para adelante es boca llena cuando ya tiene cuatro pares de dientes definitivos (Romero, 2015).

3.3 Multiovulación en ovejas donadoras

La Ovulación Múltiple y la Transferencia de Embriones es una técnica que permite aumentar la productividad de las especies domésticas, asegurar la conservación de los recursos genéticos, difundir material genético de alto valor comercial, además de reducir riesgos en la transmisión de enfermedades, para esto se requiere la utilización de fármacos y cumplir con un protocolo (Vásquez y Obispo, 2005).

(Martinez y col. 2017), en su investigación “Evaluación de un protocolo de superovulación para transferencia de embriones en ovejas Criollas de la Montaña de Guerrero”, Las ovejas receptoras recibieron por 11 días el dispositivo intravaginal con Progesterona más 200 UI de eCG vía intramuscular al momento de retirar el dispositivo, para posteriormente ser sometidas a detección de estros, utilizando machos receladores provistos de un mandil. En donadoras el protocolo consistió en la aplicación de un CIDR en el mismo día que en las receptoras, más la administración intramuscular de 10 ml (200 mg) de FSH-P en dosis decrecientes a partir de noveno día después de haber sido insertado el

dispositivo vaginal, el cual fue retirado de las hembras el día 11 para someterlas a detecciones de estros por 48 horas y servidas por sementales Criollos el mayor número de veces posible mientras presentaron celo. Obtuvieron que el 100% de las seis ovejas donadoras presentaron celo y el conteo de los cuerpos lúteos se realizó por la técnica laparoscopia medio ventral, el número de cuerpos lúteos encontrados fue 4.3 ± 5.2 con un rango de 0 a 12, 2.2 ± 2.5 de embriones transferibles y una tasa de fertilidad de 50%, concluyen que todas las ovejas muestran variación entre individuos en la respuesta para la superovulación debido a factores nutricionales o estacionales, también se asume que estas ovejas tienen un índice de prolificidad bajo lo que puede repercutir directamente con el bajo número de cuerpos lúteos; calificando que la respuesta de las donadoras al protocolo hormonal evaluado para superovulación es baja y variable.

Gavancho y Limayrnanta, (2011) en su “Estudio comparativo de los dispositivos vaginales y el extracto de hipófisis equino en la sincronización y superovulación en ovejas”, comprobó la efectividad sincronizadora de dispositivos intravaginales elaborados artesanalmente y comparar la actividad gonadotrófica del Extracto de Hipófisis Equino (EHE) elaborado en laboratorio con la gonadotropina coriónica equina (eCG) de uso comercial; para ello se tomaron 50 ovejas donde se sincronizó el celo con las esponjas vaginales impregnadas con 60 mg de Acetato de Medroxiprogesterona (MAP), dividieron las ovejas en dos grupos al grupo T1, a partir del día 9 al 12, se le administró 150 mg de EHE disueltos en 30 ml de agua bidestilada, en doble dosis diaria y en dosis descendentes de 12, 10, 8, 6 y 4 ml por día respectivamente, el día 12 administraron 0,196 mg de prostaglandina. Al T2, el día 12 administraron 500 UI de eCG, se retiró la esponja vaginal e inyectaron 0,196 mg de prostaglandina. El día 16 sacrificaron los animales y recuperaron los ovarios para verificar la presencia de cuerpos lúteos. Las ovejas del T1 presentaron un promedio de $8,2 \pm 2,16$; mientras las ovejas del T2 presentaron un promedio de $7,96 \pm 1,93$. Los autores concluyeron que el extracto de hipófisis equina (EHE) producido en el laboratorio tiene actividad gonadotrófica similar a la eCG comercial.

Morales, et. al (2019), en su trabajo “Protocolos de superovulación utilizando diferentes dosis de gonadotropina coriónica equina (eCG) en la producción de embriones ovinos”

experimentaron con 16 ovejas Poll Dorset en los meses de septiembre a octubre; en el día 0 se colocó una esponja intravaginal durante nueve días, al día siete en el Tratamiento I se administró 1000 UI eCG y el Tratamiento II 1500 UI de eCG, el día nueve se administró un análogo de prostaglandina F_{2α} (10mg) conjuntamente con el retiro de la esponja, al momento del celo se aplicó un análogo de GnRH (8μg), realizaron la inseminación artificial cervical 48 horas post retiro de esponja intravaginal. La recuperación embrionaria se realizó seis días después por laparotomía. El número de cuerpos lúteos obtenidos en el tratamiento I fue de $5,40 \pm 3,02$ y en el tratamiento II $9,80 \pm 5,20$. Demostraron que existe una diferencia significativa en la respuesta superovulatoria entre tratamientos.

Azawi y Al-Mola (2011), en su estudio investigó el efecto de la administración de GnRH sobre la respuesta superovulatoria de ovejas tratadas con eCG en las temporadas de reproducción y no reproducción, utilizó 24 ovejas Awassi que se asignaron al azar en dos grupos, cada oveja fue tratada con una esponja intravaginal impregnada de progesterona durante 12 días después las ovejas del grupo uno recibieron 1.200 UI de eCG 48 h (horas) antes de retirar la esponja; las ovejas del grupo dos también recibieron 1.200 UI de eCG 48 h antes de retirar la esponja y después de 24 h de retirar la esponja se inyectaron 80 μg de GnRH. Las ovejas de los grupos uno y dos se subdividieron en cuatro grupos iguales. Los subgrupos A y C se aparearon de forma natural a intervalos de ocho h; los subgrupos B y D tuvieron inseminación intrauterina a las 44-46 h después de la remoción de la esponja, bajo visualización laparoscópica de cuernos uterinos. La respuesta ovárica se evaluó determinando el número de cuerpos lúteos por laparoscopia el día seis después del apareamiento. La recuperación del embrión se realizó mediante un procedimiento de lavado semilaparoscópico en ambos cuernos uterinos. Los resultados de su estudio fueron que las ovejas tratadas en época reproductiva con eCG más GnRH tienen un número más alto de cuerpos lúteos que solo eCG con 7.33 ± 0.54 y 4.33 ± 0.39 respectivamente donde no hubo diferencia significativa en el número de cuerpos lúteos y en la época no reproductiva la cantidad de cuerpos lúteos con eCG y eCG más GnRH. son 2.27 ± 0.38 y 3.43 ± 0.22 respectivamente, no se observaron diferencias significativas cuando estas hormonas se usaron para la superovulación en la temporada no reproductiva. Los autores pudieron concluir que la administración de

GnRH 24 h después de la remoción de la esponja aumentó la tasa de ovulación en la temporada de reproducción y que el uso de eCG para inducir la superovulación en ovejas Awassi combinado con inseminación intrauterina laparoscópica aumenta la tasa de fertilización.

Olivera, y col, (2001) en su trabajo “Efecto de la eCG en la Superovulación de ovejas con dosis decrecientes de FSH Ovina” realizado con 26 ovejas de tres diferentes razas (8 Lachas, 8 Manchegas y 10 Aragonesas), sincronizadas con esponjas de 40 mg de FGA durante 14 días pero a los siete días se cambiaron estas, el autor utilizó un protocolo con dosis decrecientes de FSH (8.8 mg de dosis total), a intervalos de 12 horas; a la mitad de cada grupo (60 horas antes hasta 24 horas después de retirar el progestágeno) aplicó una dosis de 200 UI de eCG, a la otra mitad no se le administró el fármaco y al mismo tiempo les aplicó 0.4 ml de prostaglandina. Las ovejas fueron inseminadas por vía intrauterina 50 a 55 horas después de retirar las esponjas donde obtuvo 10.5 ± 7.8 cuerpos lúteos en el grupo donde aplicó eCG, pero mencionan que algunos cuerpos lúteos considerados como normales fueron realmente folículos luteinizados por la acción de la eCG lo que disminuiría el porcentaje real de recuperación de ese protocolo y 16 ± 8.5 en los grupos sin eCG.

Gibbons y Marcela (2004), en su investigación “Manual de transferencia de embriones en ovinos y caprinos” realizado en la Estación Experimental Agropecuaria Bariloche INTA trabajaron con 23 ovejas merino superovuladas con FSHp e inseminadas con semen congelado a las 42 horas (11 ovejas, primer grupo) y 55 horas (12 ovejas, segundo grupo) después del retiro de las esponjas intravaginales con progestágenos, en el primer grupo obtuvo $11,8 \pm 1.4$ cuerpos lúteos y 9.7 ± 2.8 en el segundo grupo.

Téllez y col. (2011) en su estudio “Transferencia de embriones en ovejas Suffolk y Rideau en clima templado”, realizó la sincronización de celo con esponjas intravaginales conteniendo 20 mg de Acetato de Fluorogestona (FGA) manteniéndose *in situ* por 12 días, el día 10 después de colocada la esponja. se aplicaron 333 UI de Gonadotropina Coriónica Equina (eCG) por animal (donadoras y receptoras), la superestimulación consistió en la aplicación de 200 mg de FSH en siete dosis por donadora vía intramuscular cada 12 horas iniciando el día 10, al remover la esponja se aplicaron 125

mg de Somatotropina bovina recombinante y 100 µg de Hormona Liberadora de Gonadotropinas (GnRH) seis horas después del estro. La detección del estro en donadoras y receptoras se realizó a las 18, 24, 30 y 36 horas después de haber retirado la esponja con el apoyo de machos provistos de un mandil. La inseminación se realizó con semen fresco de sementales de la misma raza de la donadora 18 horas después de detectado el estro, mediante inseminación intrauterina por vía laparoscópica. En donadoras la presencia de estros fue similar entre ambas razas, observándose que el 100% de las ovejas superestimuladas manifestaron estro donde el 66.67% de las ovejas presentaron 20 horas después de retirada la esponja y el restante 33% a las 24, 32 y 54 horas y el 95.24% de las ovejas receptoras presentaron estro. Después de la fertilización en las donadoras se obtuvieron una media de 26.5 ± 7.68 de cuerpos lúteos en cuatro ovejas Rideau Arcott y 9.00 ± 2.52 en tres ovejas Suffolk, donde dos ovejas (uno de cada grupo) no respondieron al tratamiento.

Vivanco, (2013) en su trabajo "Transferencia de embriones en núcleos de ovinos de leche y doble propósito (East Friesian y Dohne)", sincronizadas con progestágeno por 10 días y aplicación de 300 UI de eCG a la remoción del progestágeno, los celos se detectaron con carneros vasectomizados "marcadores"; las inseminaciones se efectuaron por laparoscopia a las 12 horas de detección del celo y las transferencias embrionarias a los 6.5 días post detección del celo por la técnica laparotomía ventral con ayuda laparoscópica. Para la East Friesian la cantidad de cuerpos lúteos encontrados fue 9.77 ± 3.94 por oveja, la raza Dohne tuvo igual respuesta ovulatoria con 9.40 ± 3.00 cuerpos lúteos por oveja.

González y Quezada (2016), en su estudio "Administración de progesterona de acción prolongada después de la fertilización en ovinos superovulados, y su relación con el tamaño de cuerpos lúteos y embriones", evaluaron el efecto de la progesterona de corta y larga acción en el metaestro ovino temprano, sobre el tamaño y número de cuerpos lúteos. El estudio se realizó con 21 ovejas Corriedale, sometidas a sincronización del celo con una esponja vaginal y estimulación ovárica usando gonadotropina coriónica equina y hormona folículo estimulante. Luego del celo las ovejas fueron inseminadas y distribuidas aleatoriamente en tres grupos: (T1; n=7) control; (T2; n=7) seis mg de

Progesterona los días 2, 3 y 4 post-IA, y (T3; n=7) 18 mg de Progesterona de acción prolongada el día dos post IA. El número de cuerpos lúteos se determinó por cirugía abdominal los días 7 y 13, los valores promedios y error estándar del número de los Cuerpos Lúteos al día siete fueron para el T1: 8.3 ± 1.45 , para el T2: 7.5 ± 4.50 , para el T3: 22.0 ± 18.00 , y los valores promedios y error estándar del número de los Cuerpos Lúteos al día 13 fueron para el T1: 7.0 ± 2.52 , para el T2: 3.0 ± 0.00 y para el T3: 3.0 ± 1.00 . No hubo diferencias estadísticas entre tratamientos en ninguna de las variables estudiadas. En conclusión, la Progesterona de corta y larga acción aplicada en el metaestro temprano no afectó el tamaño ni número de cuerpos lúteos.

Harasymowycz y col. (2014), en su investigación "Respuesta ovárica a tratamientos superovulatorios con dosis constantes y decrecientes de FSHp evaluada por laparoscopia en ovejas cruce Texel" realizado en Paraguay, evaluó laparoscópicamente la respuesta ovárica de dos protocolos de superovulación, uno a dosis decreciente y otro a dosis constantes con la Hormona Folículo estimulante porcino (FSHp). Se utilizaron 10 ovejas cruces Texel divididas al azar en dos grupos, estas fueron sometidas a un tratamiento de sincronización de celo antes de iniciar el tratamiento de superovulación, lo que se llevó a cabo mediante un tratamiento corto (seis días) de utilización de esponjas intravaginales impregnadas con 60mg de medroxiprogesterona. Al retiro de las esponjas intravaginales se aplicó una dosis de prostaglandina F2 α vía intramuscular de 50ug y una dosis de gonadotropina coriónica equina vía intramuscular 500UI. A las 24hs del retiro de las esponjas intravaginales se procedió a la aplicación de una dosis de 1,5mg del análogo de la hormona liberadora de gonadotropinas intramuscular y dos días posteriores al retiro de las esponjas intravaginales se dió inicio al tratamiento superovulatorio, en el cual el tratamiento del lote uno de Dosis Decrecientes recibió una dosis total de 240mg de FSHp cada 12h, durante cuatro días, las dosis utilizadas decrecieron cada 24h y fueron de 50mg; 36mg; 24mg y 10mg. El lote dos de Dosis constantes recibió un total de 30mg de la misma hormona cada 12h durante cuatro días. Todas las ovejas de ambos lotes recibieron con la última aplicación de FSHp una dosis de prostaglandina F2 α 50ug vía intramuscular y a las 24h de la última dosis de FSHp se le aplicó una dosis del análogo de la hormona liberadora de gonadotropinas por vía intramuscular de 1,5mg posteriormente el servicio fue realizado por monta natural libre

con dos carneros aptos reproductivamente por un lapso de 24h. Luego de siete días de finalizado el servicio se realizó el conteo de cuerpos lúteos por vía laparoscópica abdominal, en el grupo de dosis decrecientes se obtuvo un total de 92 cuerpos lúteos, de los cuales 50 correspondieron al ovario izquierdo y 42 al derecho con un promedio de 18,4 por oveja; mientras que para el grupo Dosis Constantes se obtuvo un total de 61 cuerpos lúteos, 38 correspondieron al ovario izquierdo y 23 al ovario derecho, con un promedio de 12,2 por animal. Los autores concluyen que estos resultados fueron estadísticamente significativos a favor del tratamiento de superovulación con dosis decrecientes.

3.4 Sincronización de celo en ovejas receptoras

Se refieren al uso de tratamientos progestativos intravaginales, son fundamentalmente las esponjas hechas de poliuretano impregnados de un análogo de progesterona que simula la acción del cuerpo lúteo, se mantienen dentro del animal durante 12 o 14 días donde las ovejas no entran en celo hasta que no se retire la esponja, generalmente, cuando se retira esta, se administra una inyección de dosis de eCG que tiene un 50% de actividad FSH y otro 50% de actividad LH, de esta forma, se tiene un mejor crecimiento de los folículos al final del tratamiento (Gonzales, 2019).

También se tiene la disponibilidad de otro dispositivo intravaginal para la sincronización de celo que son los denominados CIDR (Controlled internal drug release o liberación controlada interna de fármacos), la diferencia con la esponja es que es una estructura que se basa en un elastómero de silicona que contiene progesterona natural, los protocolos son similares a las esponjas (Gonzales, 2019).

Actualmente las duraciones de algunos tratamientos han reducido 5-7 días debido a que desde 1990 se observaron el desarrollo folicular con ultrasonografía donde las primeras ondas son más fértiles, además que en los tratamientos cortos ya sea con la esponja o el CIDR disminuyen la aparición de descargas purulentas o hemorrágicas durante la retirada de estas, además, este tipo de tratamientos están relacionados con el pH vaginal, en el caso de las ovejas es bastante alto, ya que normalmente es del 6,8 y en el momento de la retirada de los dispositivos intravaginales, se puede observar que con la esponja de 14 días hace incrementar el pH hasta valores cercanos a 8 ya que con un pH

más alto, existe la probabilidad de tener problemas de infecciones microbianas y alteraciones con crecimientos de bacterias que alteran las condiciones microbiológicas de la vagina (Gonzales, 2019).

Izquierdo y col. (1999), en su trabajo "Inducción y sincronización de celos en ovejas criollas anéstricas estacionales con esponjas vaginales impregnadas en FGA y eCG inyectable" realizado en el poblado de San Salvador Cuauhtenco, México donde utilizó 24 ovejas criollas que se sometieron al tratamiento con esponjas intravaginales de FGA a una dosis de 30 mg durante 14 días y 460 UI de eCG en 2,5 ml por vía i.m. Para la detección del estro se emplearon dos sementales con una mezcla de aceite con anilina en el abdomen, donde determinaron el estro a aquellas hembras que presentaron marcas. Los resultados que obtuvieron durante las primeras 24 horas de terminado el tratamiento se presentó el celo en seis ovejas, lo que representa un 25 % del total de los animales tratados, a las 48 horas siguientes cinco animales, representando el 20,8% y a las 72 horas 12 animales más, lo cual significa un 50%.

Martínez y col., (2006) trabajaron con 45 ovejas para evaluar el efecto de dos dosis de gonadotropina coriónica equina (eCG) en el porcentaje de sincronización del estro, fertilidad por inseminación laparoscópica (IL) y prolificidad; a las ovejas se las puso un dispositivo intravaginal (CIDR) impregnado con 0,3 g de progesterona por 12 días, las ovejas fueron asignadas aleatoriamente a tres tratamientos: T1: CIDR y monta natural; T2: CIDR más 150 UI de eCG e IL a las 42-46 horas al retiro del dispositivo con semen de machos de la raza Damara; T3. CIDR más 300 UI de eCG e IL a las 42-46 horas al retiro del dispositivo con semen de machos de la raza Damara. La fertilidad del estro sincronizado fue de 40; 40 y 46,6% para T1, T2 y T3 respectivamente (durante las primeras 24 horas, una oveja de los tres tratamientos presentó signos de estro (2,2%); de las 24 a las 36 horas se detectó estro en 14 ovejas (31,1%); de las 36 a las 48 horas se observó estro en 25 ovejas (55,5%); después de las 48 horas se presentó estro en cinco ovejas (11,1%) de los estros totales, estos resultados muestran que de las 45 ovejas en estudio, el 100% presentó estro en un tiempo promedio de $42,5 \pm 16,6$ horas después del retiro de los CIDR's. El porcentaje de prolificidad presentó diferencias entre

tratamientos y fue de 100; 100 y 133,3% para T1, T2 y T3 donde el autor recomienda el efecto macho en la sincronización del estro.

Alvarez, (2017), en su estudio “Evaluación de la fertilidad en inseminación artificial por laparoscopia bajo tres niveles de gonadotropina coriónica equina en ovinos criollos”, utilizó la esponja intravaginal impregnado con 30 mg de acetato de medroxiprogesterona (MAP) por 14 días más la aplicación de eCG inyectable al momento del retiro de la esponja las cuales separaron en tres grupos de 13 ovejas por tratamiento, estas fueron distribuidas de la siguiente manera, 150 UI al primer grupo, 250 UI al segundo y 350 UI al tercero, la presencia de estros fue del 100% para el T1, 77% para el T2 y 77% para el T3 respectivamente y el tiempo de la presentación de estros después de la remoción de las esponjas en cada grupo fue de 40.58 ± 9.09 horas, 44.45 ± 11.30 horas y 41.95 ± 10.58 ; el autor recomienda utilizar el primer tratamiento para las sincronizaciones.

Cadena y col. (2018), de igual forma en su trabajo Sincronización del estro en ovejas con $\text{PGF2}\alpha$ y bioestimuladas con “efecto macho”, evaluaron la respuesta en la sincronización del estro en ovejas de lana con un protocolo basado en aplicación de prostaglandinas ($\text{PGF2}\alpha$) en época reproductiva donde utilizaron 24 ovejas adultas Suffolk y 29 Rideau Arcott, las cuales se distribuyeron al azar a uno de dos tratamientos (T): T1, n= 25: ovejas testigo, sincronizadas con dos aplicaciones de $\text{PGF2}\alpha$ con intervalo de siete días, y T2, n= 28: similar al T1, pero con la diferencia de que el carnero se introdujo en el día cuatro, de la primera aplicación de $\text{PGF2}\alpha$, para realizar el efecto macho, teniendo como resultados el inicio del estro, las horas de este fueron de 72.53 ± 6.05 para el primer grupo y 45.13 ± 6.13 para el segundo, con 52.0 y 60.7% de presentación del estro respectivamente, la prolificidad y la fecundidad son mayores en las ovejas del T2 con respecto a las ovejas del T1 concluyendo que la bioestimulación con “efecto macho” en ovejas sincronizadas con un protocolo basado en prostaglandinas mejora el inicio del estro.

3.5 Evaluación y cuantificación de embriones

Existen distintos tipos de categorías, clasificación de la calidad embrionaria, desarrolladas por distintos equipos de trabajo que son determinados por medio de la observación microscópica con ayuda de una lupa estereoscópica.

Rodríguez y col. (2017), clasifican a los embriones en cuatro categorías (calidad 1, 2, 3 y 4) de la siguiente manera:

- Grado 1. Excelente, el embrión está compacto, la masa celular debe ser mayor del 85%) esférico, color claro, el desarrollo de acuerdo al tiempo del embrión, pocas vesículas, sin desechos celulares ni blastómeros extruidos.
- Grado 2. Bueno. Embrión compacto puede presentar una pequeña descompactación (más del 50 % de las células deben estar intactas), color uniforme, desarrollo de acuerdo al tiempo del embrión, presencia de pocas vesículas, blastómeros extruidos y desechos celulares.
- Grado 3. Regular. Presenta una descompactación muy marcada (por lo menos el 25 % de las células deben estar intactas), desechos celulares, color oscuro o zonas claras y oscuras, vesículas y blastómeros extruidos y masa pequeña.
- Grado 4. Malo o no transferible. Embrión con una degeneración muy marcada, masa pequeña (menor al 25 % de lo normal) color oscuro, descompactación muy marcada, vesículas e irregularidades en los blastómeros.

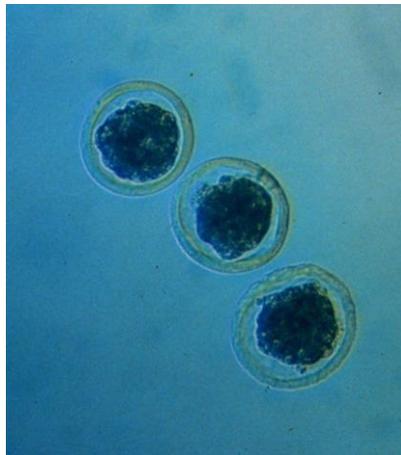


Figura 1. Embriones de diferente calidad

Fuente: (De la Fuente, 2012)

Como se observa en la figura 1, la presencia de tres embriones de diferente calidad, según la clasificación de Rodríguez y col. (2017). En la parte superior se observa una mórula de primer grado por la zona pelúcida intacta, no hay presencia de desechos celulares, el segundo embrión de segundo grado por la presencia de desechos celulares

y la zona pelucida levemente dañada, el tercer embrión que está en la parte inferior de la imagen es clasificado de tercer grado por el daño considerable en la zona pelúcida, blastómeros extruidos y presencia de desechos celulares.

Morales y col. (2019), en su investigación “Protocolos de superovulación utilizando diferentes dosis de gonadotropina coriónica equina (eCG) en la producción de embriones ovinos” experimento con 16 ovejas Poll Dorset en los meses de septiembre a octubre, la recuperación embrionaria se realizó 6 días después por laparotomía. El número de embriones obtenidos en el tratamiento I fue de $0,63 \pm 1,41$ y en el tratamiento II $2,13 \pm 2,30$ donde no hubo diferencia significativa entre los dos tratamientos; concluyeron que para la recolección de embriones los dos tratamientos no presentan ninguna diferencia, el autor recomienda el tratamiento II, donde se obtuvieron respuestas satisfactorias para su aplicación en otros trabajos.

Azawi y Al-Mola (2011), investigó el efecto de la administración de GnRH sobre la respuesta superovulatoria de ovejas tratadas con eCG en las temporadas de reproducción y no reproducción, utilizó 24 ovejas Awassi. La recuperación del embrión se realizó mediante un procedimiento de lavado semilaparoscópico en ambos cuernos uterinos. El número de embriones recuperados de las ovejas tratadas con eCG más GnRH y eCG son $4,32 \pm 0,56$ y $1,06 \pm 0,26$, respectivamente, en las temporadas de reproducción, los autores pudieron concluir que la administración de GnRH 24 horas después de la remoción de la esponja aumentó la tasa de ovulación en la temporada de reproducción y que el uso de eCG para inducir la superovulación en ovejas Awassi combinado con inseminación intrauterina laparoscópica aumenta la tasa de fertilización.

Martinez y col. (2017), en su investigación “Evaluación de un protocolo de superovulación para transferencia de embriones en ovejas Criollas de la Montaña de Guerrero”, el total de embriones encontrados fue 2.2 ± 2.5 y concluyen que todas las ovejas muestran variación entre individuos en la respuesta para la superovulación debido a factores nutricionales o estacionales; otro factor es el genotipo de la oveja es que puede explicar la variación en la eficiencia de un programa de superovulación y transferencia de embriones, también se asume que estas ovejas tienen un índice de prolificidad bajo lo que puede repercutir directamente con el bajo número de cuerpos lúteos y de embriones

colectados; calificando que la respuesta de las donadoras al protocolo hormonal evaluado para superovulación es baja y variable.

Olivera, y col, (2001) investigaron el “Efecto de la eCG en la Superovulación de ovejas con dosis decrecientes de FSH Ovina” realizado con 26 ovejas de tres diferentes razas (8 Lachas, 8 Manchegas y 10 Aragonesas), las ovejas fueron inseminadas por vía intrauterina 50 a 55 horas después de retirar las esponjas, en los embriones totales encontrados en el grupo con eCG es 5.6 ± 4.2 y 10.7 ± 10.0 sin eCG donde el grupo sin eCG tiene mayor cantidad de embriones, Olivera concluye que la administración de ocho dosis decrecientes de FSH sin añadir eCG proporcionó una media de 3.9 de embriones viables por oveja.

Gibbons y Marcela (2004), en su Manual de transferencia de embriones en ovinos y caprinos realizado en la Estacion Experimental Agropecuaria Bariloche INTA trabajaron con 23 ovejas merino superovuladas con FSHp e inseminadas con semen congelado a las 42 horas (11 ovejas, primer grupo) y 55 horas (12 ovejas, segundo grupo), en la búsqueda de embriones obtuvieron 5.3 ± 1.1 embriones en el primer grupo y 4.6 ± 1.3 en el segundo.

Gibbons y Cueto (2013) en su trabajo realizado en ovejas Merino, trabajo con dos tratamientos con la FSH, uno con dosis bajas y el otro con dosis altas, al día 0 la aplicación de las esponjas intravaginales, desde el día 12 tratadas con 80 mg de FSHp en seis dosis en ambos grupos, el día 14 aplicaron una dosis de 200 UI de eCG junto con las receptoras y retiro de esponjas, al día 16 se realizó la inseminación artificial laparoscópica y el 21 la recuperación embrionaria. La cantidad de embriones recuperados con la dosis baja y alta fueron 5.9 ± 0.6 y 6.4 ± 1.2 respectivamente y en la recuperación de embriones de grados 1 y 2 fueron 5.0 ± 0.6 y 5.5 ± 1.2 .

Téllez y col. (2011) en su investigación “Transferencia de embriones en ovejas Suffolk y Rideau en clima templado”, en la búsqueda de los embriones obtuvieron una media de 2.25 ± 1.93 en las ovejas Rideau y 1.00 ± 1.00 en las Suffolk, estos se transfirieron por medios quirúrgicos, en el último tercio del cuerno ipsilateral al ovario.

Vivanco, (2013) evaluó la “Transferencia de embriones en núcleos de ovinos de leche y doble propósito (East Friesian y Dohne)”, donde colectaron y transfirieron 49 embriones

East Friesian y 57 embriones Dohne, totalizando 106 embriones colectados y transferidos donde para la East Friesian dada la buena respuesta ovulatoria el número de embriones transferibles fue satisfactorio 4.08 ± 3.85 por oveja; la raza Dohne tuvo igual respuesta ovulatoria buena y su tasa de recuperación de embriones fue satisfactoria donde se obtuvieron 7.10 ± 5.8 embriones por oveja donante. Los autores demuestran que la superovulación y colección embrionaria in vivo en ovinos en altitudes sobre los 3,800 metros no se ve afectada obteniendo buenos resultados y dando un buen manejo a los animales.

González y Quezada (2016), en su estudio “Administración de progesterona de acción después de la fertilización en ovinos superovulados, y su relación con el tamaño de cuerpos lúteos y embriones”, no obtuvieron embriones debido a que se encontraban en el día 13 después de la fertilización y que hicieron el conteo de cuerpos lúteos el día 7 y 13.

3.6 Diagnóstico de gestación

En la transferencia de embriones, la gestación es el periodo comprendido desde el reconocimiento del embrión hasta el parto, según Ureña (2018), hay diferentes tipos de diagnóstico de gestación, las principales son:

Los que no requieren de equipamiento como ser:

- La detección de celo, es el más sencillo y más barato, es muy importante identificar el retorno al celo para confirmar que la hembra no está gestante, en este caso, el ovino macho cumple un rol muy importante.
- La palpación, puede realizarse en la segunda mitad de la gestación que consiste en tocar la presencia del feto obligándole a moverse dentro del líquido amniótico donde el operario debe colocar la palma de la mano izquierda en el lado izquierdo del animal y empujar suavemente el feto con la mano derecha apoyada en el flanco derecho de la hembra.
- El desarrollo de la ubre, a los 90 días después del servicio se evalúa el grado de desarrollo de la ubre donde si hay gestación, hay la presencia de la ubre desarrollada y si no hay la misma no se evidencia ni un tipo de cambio morfológico.

Si la oveja transferida retornó al celo, existen varios factores estresantes presentes en el manejo ganadero, como la esquila, el arreo con perros, el transporte, y otros que pueden afectar a la respuesta reproductiva, debido al incremento de la secreción de adrenalina, esta altera la concentración de aquellas hormonas que controlan el ciclo estral, la manifestación de celo, la ovulación, la sincronía celo-ovulación e incluso la propia supervivencia embrionaria.

Dentro de las pérdidas embrionarias que condicionan la fertilidad, es posible su clasificación en “basales” e “inducidas”, las pérdidas basales son independientes de los efectos ambientales y ligadas con anomalías genéticas o deficiencias innatas en el sistema materno para mantener la preñez. Las pérdidas inducidas son aquellas afectadas por factores ambientales, entre los que se cuenta la nutrición (Cruz, 2018).

Martinez y col. (2017), en su investigación “Evaluación de un protocolo de superovulación para transferencia de embriones en ovejas Criollas de la Montaña de Guerrero”, observaron que la tasa de fertilidad registrada en las hembras receptoras fue de 50 % calificándolo como moderada, mencionando que tratándose de ovejas criollas que reportan un índice de una cría por año y en condiciones de campo, el porcentaje de fertilidad baja.

Téllez y col. (2011) en su trabajo “Transferencia de embriones en ovejas Suffolk y Rideau Arcott en clima templado”, el diagnóstico de gestación lo realizaron con un equipo de ultrasonografía 35 días después de la transferencia, dando 33.33% en las ovejas Rideau Arcott y 80.00% en Suffolk.

4. LOCALIZACIÓN

4.1 Ubicación geográfica

La presente investigación se realizó en el Municipio de Taraco, en la provincia Ingavi del Departamento de La Paz, Bolivia; limita al norte y oeste con el lago Titicaca y la República del Perú, al sur limita con el municipio de Guaqui y al este con el municipio de Tiahuanaco. Sus coordenadas es 16°27'24.39" Latitud Sur y 68°51'31.39" Latitud Oeste (Condori, 2017).

4.2 Características Climatológicas

- a) Altitud: La provincia de Ingavi está constituida por planicies, pendientes y cerros elevados; por lo que la altitud es de 3.845 msnm con una humedad relativa de 85%.
- b) Temperatura: Se registra una temperatura máxima de 16.8°C y mínima de -4.5°C.
- c) Precipitación pluvial: Se percibe claramente dos estaciones, una lluviosa que se presenta en los meses de diciembre a marzo y otra de sequía comprendida entre los meses abril a octubre, la precipitación total anual es en promedio 642.3 mm aproximadamente. Se determina un clima semiárido (3 a 5 meses) y con heladas (Condori, 2017).

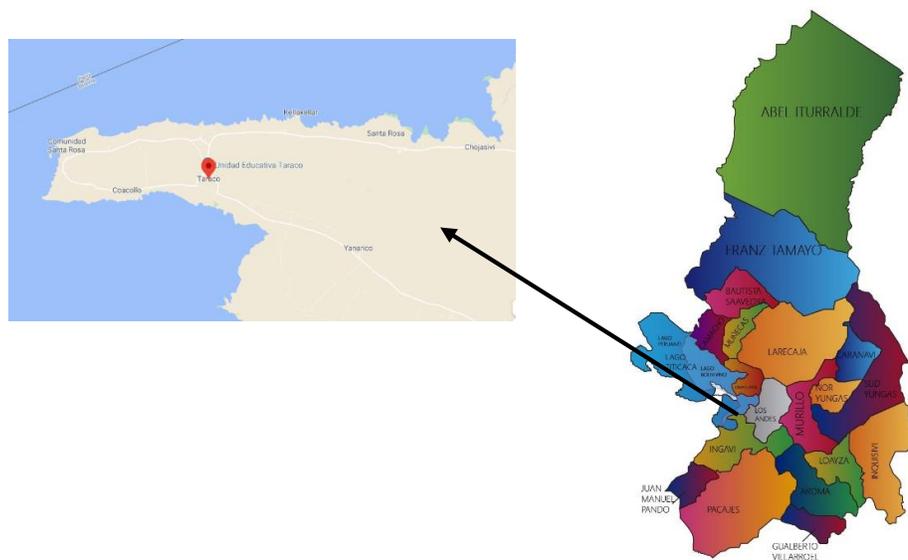


Figura 2. Mapa del Municipio de Taraco

Fuente: Condori, (2017)

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Materiales

5.1.1 Semovientes

- 19 ovinos hembras criollos
- 2 ovinos machos (1 Hampshire, 1 Corriedale)

5.1.2 Hormonas

- Hormona Folículo Estimulante (FSH)
- Gonadotropina Coriónica Equina (eCG)
- Esponjas Intravaginales a base de acetato de medroxiprogesterona (MAP)
- Prostaglandina F2alfa

5.1.3 Insumos

- Anestésicos (Ketamina y Xilacina)
- Anestésico local (Lidocaína)
- Antibiótico (a base Penicilina)
- Medio de lavado
- Medio de mantenimiento Holding
- Cicatrizante azul de metileno
- Antiparasitario Interno y Externo (Ivermectina y Albendazol)
- Vitaminas y minerales

5.1.4 Equipos de laboratorio

- Platina
- Estereoscopio

5.1.5 Material de laboratorio

- Jeringas Air Tite desechable
- Hilos de sutura interna y externa
- Sonda Foley f10 dos vías
- Cajas Petri de búsqueda

- Cajas Petri de 4 discos
- Material de asepsia (a base de Yodo)
- Catéter FIV N° 18
- Campo operatorio
- Material quirúrgico
- Jeringas vacutainer
- Jeringas descartables

5.1.6 Material de campo

- Camilla
- Aplicador de esponjas
- Aretes de identificación
- Areteador
- Marcador de aretes
- Ropa de bioseguridad
- Sogas
- Overol

5.1.7 Material de gabinete

- Cuaderno de campo
- Lápiz, bolígrafos
- Papeles
- Impresora

5.2 Métodos

Para que este experimento tenga éxito, se siguió una serie de pasos y condiciones.

5.2.1 Animales

Para el experimento se utilizaron en total 21 ovejas, 19 hembras (4 donadoras y 15 receptoras) y 2 machos reproductores (Hampshire Down y un Corriedale) como se detalla a continuación.

Tabla 1
Distribución de los animales

Hembras	19	4 Donadoras (Criollas)
		15 Receptoras (Criollas)
Machos	2	1 Corriedale (Carnero)
		1 Hampshire Down (Carnero)
Total	21	

5.2.2 Condición corporal

Tanto receptoras como donadoras se seleccionaron con una condición corporal de 3.



Figura 3 y 4. Ovejas donantes

5.2.3 Edad

Se seleccionaron las ovejas de dos años para adelante, todas fueron multíparas y que no presenten problemas reproductivos, la edad se determinó por la técnica más efectiva que es mediante la cronología dentaria.

5.2.4 Alimentación

Las ovejas fueron alimentadas con forraje verde, heno de cebada antes y después del pastoreo en la pradera nativa compuesta de *Festuca dolichophylla* (Chilliwa), *Stipa brachiphylla* (Llapa jichhu), *Taraxacum officinale* (Lichilichi o diente de león), *Boliviana saginata* (Khoa), *Calamagrostis antoniana* (Qaña), *Muhlenbergia fastigiata* (Kachu ch'iji), *Bromus unioloides* (Cebadilla), *Alchemilla pinnata* (Sillu sillu), *Trifolium amabilis* (Layu), *Bideas pilosa* (Munimuni), *Hipochoiris taraxacoides* (Siq'i).

5.2.5 Sanidad: Tratamiento preventivo y curativo

Los semovientes se desparasitaron con Albendazol e Ivermectina antes de realizar la experimentación y así mismo se los trataron con vitaminas y minerales.

5.2.6 Identificación

Los semovientes utilizados para la experimentación fueron identificados con aretes de plástico numerados.

5.2.7 Protocolo de multiovulación en las ovejas donadoras

El protocolo de multiovulación, desde la aplicación de las esponjas hasta el día de la detección del celo consta de 13 días y hasta la colecta de embriones 19 días que se detalla a continuación en la tabla dos.

Día 0. Colocación de esponjas intravaginales impregnadas de MAP más Selenio vía intramuscular.



Figura 5. Aplicación de la esponja intravaginal

En la figura 5, se observa la vulva de la oveja donadora después de aplicar la esponja intravaginal, esta tiene un hilo que sobre sale de la vulva para facilitar el retiro de las esponjas.

Día 9. Por la mañana se aplicó una dosis de 2 ml de FSH y por la tarde 1.5 ml.

Día 10. Por la mañana 1.5 ml de FSH y por la tarde 1.0 ml.



Figura 6. Aplicación de FSH

Día 11. Por la mañana 1.0 ml de FSH, se retiró las esponjas intravaginales más una dosis de 200 UI de eCG y por la tarde 0.5 ml de FSH.



Figura 7. Retiro de la esponja intravaginal

Día 12. Por la mañana 0.5 ml de FSH más monta, por la tarde detectar celo más monta (2 y 8 pm).



Figura 8 y 9. Aplicación de FSH y monta

Día 13. Monta en la mañana y en la tarde.



Figura 10. Monta en la oveja donadora

Día 18. Sin alimento en la mañana y en la tarde.



Figura 11. Ovejas donadoras y receptoras

Día 19. Colecta de embriones más 1.5 ml de prostaglandina F2a.

Tabla 2

Protocolo de multiovulación en las ovejas donadoras

Fecha	Donadoras	
	AM	PM
Día 0	Colocar esponjas + Se	
Día 9	Colocar FSH (2ml)	Colocar FSH (1.5ml)
Día 10	Colocar FSH (1.5ml)	Colocar FSH (1ml)
Día 11	Colocar FSH (1ml)+Retiro de esponjas+ 200 UI eCG	Colocar FSH (0.5ml)
Día 12	Colocar FSH (0.5ml)+monta	Detectar celo más monta (2 y 8 pm)
Día 13	Monta (8am)	Monta (2 y 8pm)
Día 18	Sin alimento	Sin alimento
Día 19	Colección de embriones + 1.5 ml PG	

Fuente: Martínez y col. (2017)

5.2.8 Protocolo de sincronización de celo en las ovejas receptoras

El protocolo de sincronización de celo, desde la aplicación de las esponjas hasta el día de la detección del celo consta de 13 días y hasta la transferencia de embriones 19 días que se detalla a continuación y en la tabla tres.

Día 0. Colocación de esponjas intravaginales impregnadas de MAP más Selenio vía intramuscular.

Día 11. Retiro de las esponjas intravaginales más una dosis de 300 UI de eCG.

Día 12. Detección de celo por la mañana y por la noche controlado con dos machos enteros.



Figura 12. Macho ovino detector de celo en las ovejas receptoras

Día 18. Sin alimento en la mañana y en la tarde.

Día 19. Transferencia de embriones.

Tabla 3

Protocolo de sincronización de celo en las ovejas receptoras

Días	Receptoras	
	AM	PM
Día 0	Colocar esponjas + Se	
Día 11	Retiro de esponjas+300 UI eCG	
Día 13	Detectar celo y apuntar hora	Detectar celo y apuntar hora
Día 18	Sin alimento	Sin alimento
Día 19	Transferencia de embriones	

Fuente: Martínez y col. (2017)

5.2.9 Colecta y evaluación de embriones

La colecta embrionaria se realizó en el día siete después del inicio de la monta debido a que los embriones están en el tercio superior de los cuernos uterinos y presentan la membrana pelúcida, necesaria como barrera sanitaria.

5.2.9.1 Técnica quirúrgica para la colecta de embriones.

El método para la colecta de embriones en las ovejas donantes se realizó con anestesia general a base de Xilacina al 2%, Ketamina al 10% y anestésico local Lidocaína al 2% como primer paso (Gibbons y Cueto, 2013).

Después, la hembra se ubicó en un plano inclinado en una camilla (cabeza hacia abajo), se hizo la tricotomía de toda el área de incisión, se desinfectó el campo operatorio y posteriormente se realizó una incisión media de cinco a siete centímetros (cm) y a tres cm por delante de la ubre. Antes de comenzar con la recuperación embrionaria, se evaluó la respuesta ovulatoria (recuento del número de cuerpos lúteos), mediante exteriorización de los ovarios como se muestra en la siguiente figura:



Figura 13. Conteo de los cuerpos lúteos

Terminado el conteo se expone el cuerno uterino y a nivel de la unión útero tubárica se colocó una sonda Foley número 08, la cual en su extremo dispone de una aguja con punta no traumática, con dos perforaciones laterales y una central, se fija la sonda en el interior de la luz del cuerno uterino, en la curvatura mayor del cuerno uterino se realizó

una segunda punción para la inyección de una solución tamponada de fosfato (PBS), la cual produjo una corriente de arrastre hacia el oviducto que sale por la sonda moviendo los embriones hasta el envase de colecta que son las cajas de Petri cuadriculadas para proceder a la búsqueda de embriones bajo lupa a 10X; una vez recuperados los embriones en un cuerno, se procedió de igual manera con el otro; finalizada la recuperación embrionaria, se realizó la sutura de los planos quirúrgicos y se administró antibiótico a base de penicilina vía intramuscular, el tiempo medio de la recuperación de embriones quirúrgica fue de aproximadamente 15 a 20 minutos (Gibbons y Cueto, 2013).



Figura 14. Colecta de embriones

5.2.9.2 Evaluación y clasificación de embriones.

A medida que se identificaron los embriones, fueron aspirados con micropipeta y colocados en una caja de Petri que contenía el medio de conservación o Holding para su evaluación y clasificación, esto a resguardo de la luz y a temperatura de laboratorio. Cabe recordar que el trabajo se realizó en condiciones estrictas de esterilidad (Gibbons y Cueto, 2013).

Se clasificaron los embriones en cuatro categorías (grados 1, 2, 3 y 4) según Rodríguez y col. (2017) a 10X y 40X con una fina pipeta de transferencia permitió mover los embriones para poder observarlos desde distintos ángulos. Se observó la integridad de la membrana pelúcida, su esfericidad y debe tener un desarrollo acorde con el día de

colecta; las células deben ser claras y de contorno regular, siendo la opacidad signo de degeneración.



Figura 15. Búsqueda y evaluación de embriones

5.2.10 Siembra de embriones.

La transferencia embrionaria se realizó dentro del primer par de horas, tiempo transcurrido entre la recuperación de los embriones y su siembra. El método utilizado en la siembra de embriones fue el quirúrgico (técnica de laparotomía de igual forma que en las donadoras), se tuvo la precaución de evitar una lesión traumática del cuerpo lúteo durante la manipulación de la siembra embrionaria. Se procedió a realizar una punción en la cara dorsal del cuerno uterino, el sitio habitual de siembra de los embriones fue el cuerno ipsilateral del ovario con cuerpo lúteo, a un centímetro de la unión útero tubárica; mediante una micropipeta especial de transferencia, se depositó el embrión en la luz uterina (acondicionado en 10 μ l de PBS) y finalizada la transferencia se realizó la sutura de los planos quirúrgicos y se administró antibiótico a base de penicilina vía intramuscular (Gibbons y Cueto, 2013).



Figura 16. Momento de la transferencia del embrión

5.2.11 Análisis estadístico.

En el presente estudio se realizó el análisis en base a estadística descriptiva, teniendo en cuenta el tipo de variables que se manejan, (variables cuantitativas) se calculó promedios, desviación estándar y porcentajes.

Para el promedio se empleó el siguiente modelo:

$$\mu = \frac{\sum_{i=1}^N X_i}{N}$$

Donde:

μ = Es la media

Σ = Suma de todos los valores

N = Tamaño de la población

X_i = Cada dato de la población

Para la desviación estándar se empleó el siguiente modelo:

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \mu)^2}{N}}$$

σ = Desviación estándar

5.2.12 Diagnóstico de gestación

El diagnóstico de la gestación se realizó mediante la observación de retorno al celo cada 15 a 20 días en dos ocasiones con machos reproductores, si la oveja rechaza al macho significa que está preñada y si lo acepta está vacía.



Figura 17 y 18. Detección de celo en las ovejas transferidas

6. RESULTADOS Y DISCUSIONES

6.1 Resultados

De las cuatro donadoras que se sometieron al tratamiento de Ovulación Múltiple y las 15 receptoras a la sincronización de celo para la Transferencia de Embriones, el 100% presentaron celo con el protocolo utilizado para cada grupo registrándose los días y horas que se detallan a continuación.

Donadoras:

Tabla 4

Día 12, detección de celo y monta en las ovejas donadoras con presencia de dos machos reproductores (1 Hampshire Down y 1 Corriedale)

Donadoras	1	2	3	4
Mañana	9:30	9:30	9:30	No aceptación
Tarde	17:00	16:00	16:00	17:00
Noche	20:00	20:00	20:00	20:30

Como se indica en el cuadro 4, la detección de celo y monta se realizó a las 09:30 horas de la mañana con los dos machos carneros (1 Hampshire Down y 1 Corriedale), las ovejas uno, dos y tres entraron en celo, siendo el 75% y fueron cubiertas una vez; en la oveja cuatro se observó que no hubo aceptación al macho, en la tarde el 100% entró en celo, se cubrió de 16:00 a 17:00 horas de la tarde y en la noche de 20:00 a 20:30 horas de la noche se cubrieron a todas las donadoras.

Tabla 5

Día 13, monta en las ovejas donadoras con presencia de dos machos reproductores (1 Hampshire Down y 1 Corriedale)

Donadoras	1	2	3	4
Mañana	8:00	8:30	8:30	8:00
Tarde	15:00	15:00	15:30	15:30
Noche	20:30	20:00	20:30	20:00

Como se indica en el cuadro 5, la monta en las ovejas donadoras se realizó de 08:00 a 08:30 horas de la mañana con dos machos reproductores (1 Hampshire Down y 1 Corriedale) y fueron cubiertas una vez, durante la tarde se cubrió de 15:00 a 15:30 horas y en la noche de 20:00 a 20:30 horas.

Tabla 6

Día 14, monta en las ovejas donadoras con presencia de dos machos reproductores (1 Hampshire Down y 1 Corriedale)

Donadoras	1	2	3	4
Mañana	8:30	8:30	8:00	8:30
			11:00	

Como se detalla en el cuadro 6, la monta se realizó de 08:00 a 8:30 horas y la donadora tres continuaba presentando celo a las 11:00 horas de la mañana.

Tabla 7

Tiempo total estimado de largo del celo en las ovejas donadoras

Donadoras	1	2	3	4
Largo de celo en horas	46.5	46.5	49.5	32.5

Como se indica en el cuadro 7, dos ovejas donadoras presentaron celo 46.5 horas, una oveja presentó 49.5 horas y una oveja 32.45 horas aproximadamente.

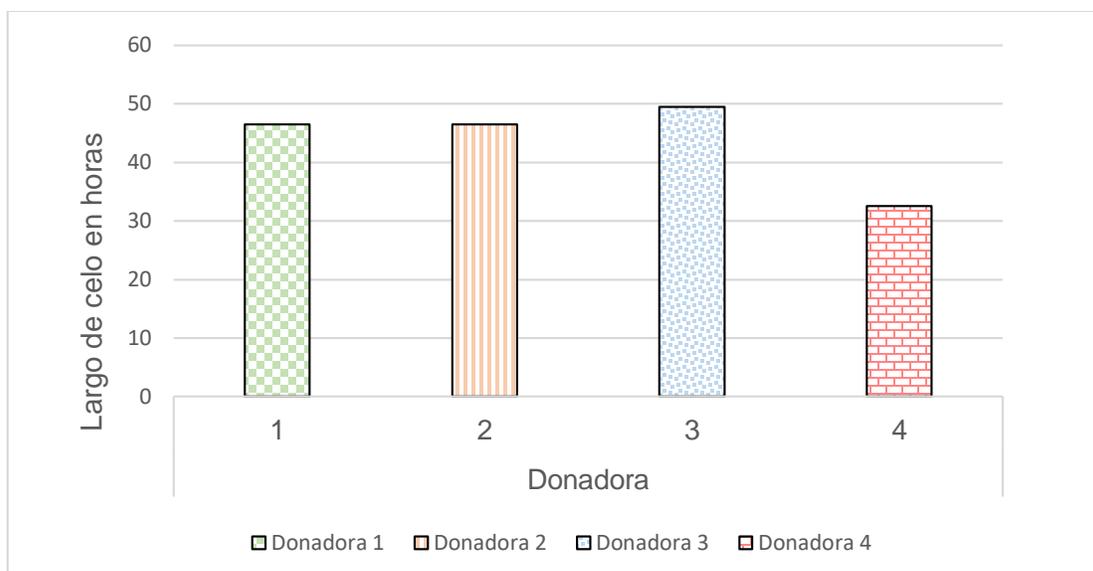


Figura 19. Tiempo total estimado de largo del celo en las ovejas donadoras

Como se indica en la figura 19, el 50% de las donadoras presentaron celo 46.5 horas, el 25% presentó 49.5 horas y 25% aproximadamente 32.45 horas.

6.1.1 Conteo de los cuerpos lúteos

La cantidad de cuerpos lúteos observados en las ovejas donadoras tienen un rango de 0 a 8, con un promedio de 5.5 y con una desviación estándar de ± 2.17 , en la siguiente tabla se detalla la cantidad encontrada en los ovarios de cada oveja donadora.

Tabla 8

Número de cuerpos lúteos observados en las ovejas donadoras

Donadora		1	2	3	4
Cantidad	OI	-	2	8	-
	OD	5	3	1	3

El cuadro 8, indica los cuerpos lúteos encontrados en cada ovario donde O.I. es ovario izquierdo y O.D. es ovario derecho de cada donadora.

En la primera donadora, en el ovario izquierdo no se encontró cuerpos lúteos ni folículos dominantes ni en desarrollo ya que no hubo respuesta al tratamiento a diferencia del ovario derecho que se encontraron cinco cuerpos lúteos.

En la segunda donadora, se presencié dos cuerpos lúteos en el ovario izquierdo y en el ovario derecho tres cuerpos lúteos.

La tercera donadora es la que mayor cantidad de cuerpos lúteos presentó, en el ovario izquierdo se observaron ocho cuerpos lúteos y en el derecho uno.

En la cuarta donadora, en el ovario izquierdo no hubo respuesta al tratamiento, pero se observó la presencia de un folículo dominante y un cuerpo hemorrágico al mismo tiempo donde en investigaciones similares no reportan datos de que se encontró uno similar, y en el ovario derecho presentaron tres cuerpos lúteos.

Tabla 9

Cantidad total de cuerpos lúteos encontrados en las ovejas donadoras

Donadoras	1	2	3	4
Cuerpos lúteos	5	5	9	3
Total Cuerpos Lúteos			22	
Promedio			5.5	
Desviación Estándar			2.17	

Como se indica en el cuadro 9, el total de los cuerpos lúteos encontrados de todas las donadoras es de 22, con una media de 5.5 y una desviación estándar de 2.17, en la siguiente figura se detalla lo siguiente:

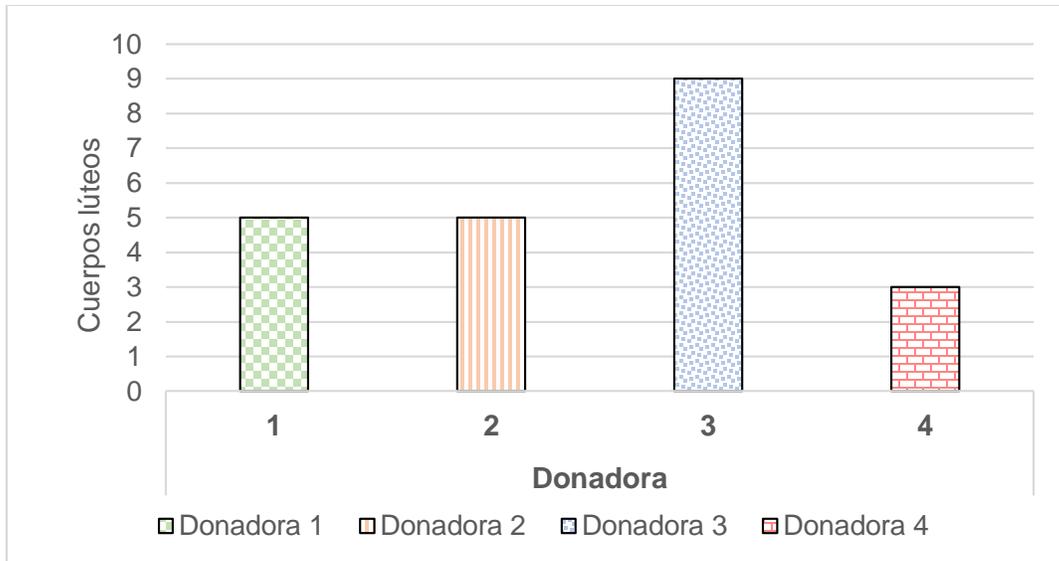


Figura 20. Cantidad total de cuerpos lúteos encontrados en las ovejas donadoras

Como se observa en la figura 20, en la primera donadora se encontró una cantidad total de cinco cuerpos lúteos, en la segunda donadora se encontró cinco, la tercera donadora es la que mayor cantidad de cuerpos lúteos presentó, con un total de nueve y en la cuarta donadora se encontraron tres cuerpos lúteos.

6.1.2 Evaluación y clasificación de embriones

Posterior a la observación y conteo de los cuerpos lúteos de las ovejas donadoras se procedió a coleccionar los embriones de cada cuerno para su conteo y evaluación de la calidad y para transferirlos a las ovejas receptoras, estas intervenciones quirúrgicas se realizaron con mucho cuidado y rapidez para evitar que las ovejas despierten durante el procedimiento y se estresen, el total de las donadoras y receptoras después de la intervención y el pos operatorio no presentaron problemas de ningún tipo y posteriormente a los 14 días se realizó el retiro de los puntos de sutura en las donadoras y receptoras.

Tabla 10

Número y calidad de embriones encontrados en la primera oveja donadora

OI, OD	Cantidad	Grado	Estado
OI	-	-	
OD	2	1	Mórula
		2	Blastocisto

En el ovario izquierdo de la primera donadora, como indica el cuadro 10, no se encontraron embriones, sin embargo, en el ovario derecho se encontró dos embriones, el primero fue mórula de grado uno y un blastocisto de grado dos.

Tabla 11

Número y calidad de embriones encontrados en la segunda oveja donadora

OI, OD	Cantidad	Grado	Estado
OI	-	-	-
OD	1	2	Mórula

En el ovario izquierdo de la segunda donadora, como indica el cuadro 11, no se encontraron embriones y en el ovario derecho se encontró un embrión en estado de mórula de grado dos.



Figura 21. Vista del microscopio donde hay presencia de embriones de la primera y segunda donadora

Tabla 12

Número y calidad de embriones encontrados en la tercera oveja donadora

OI, OD	Cantidad	Grado	Estado
OI	3	1	Blastocisto
		1	Blastocisto
		1	Blastocisto
OD	1	2	Mórula (con desechos celulares)

En el ovario izquierdo de la tercera donadora, como indica en el cuadro 12, se encontraron tres embriones en estado de blastocisto de grado uno y una mórula con detritus celulares de grado dos en el ovario derecho.



Figura 22. Embriones de la tercera oveja donadora colectados del ovario izquierdo



Figura 23. Embrión de la tercera oveja donadora colectados del ovario derecho

En la cuarta donadora no se encontraron embriones durante la búsqueda.

Tabla 13

Cantidad y calidad de embriones colectados en las ovejas donadoras

Donadoras	Cantidad	Grado	Estado
D1	2	1	Mórula
		2	Blastocisto
D2	1	2	Mórula
D3	4	1	Blastocisto
		1	Blastocisto
		1	Blastocisto
		2	Mórula
D4	-	-	-
Total	7	3 (grado 2)	4 Blastocitos
		4 (grado 1)	3 Mórulas
Promedio		1.75±1.47	

Del total de embriones colectados como se indica en el cuadro 13, tres embriones son de grado dos que representa el 42.86% y cuatro embriones de grado uno que representa el 57.14%; así mismo cuatro embriones se encontraron en estado de blastocistos que representa el 57.14% y tres embriones se encontraron en estado de mórula que representa el 42.86%.

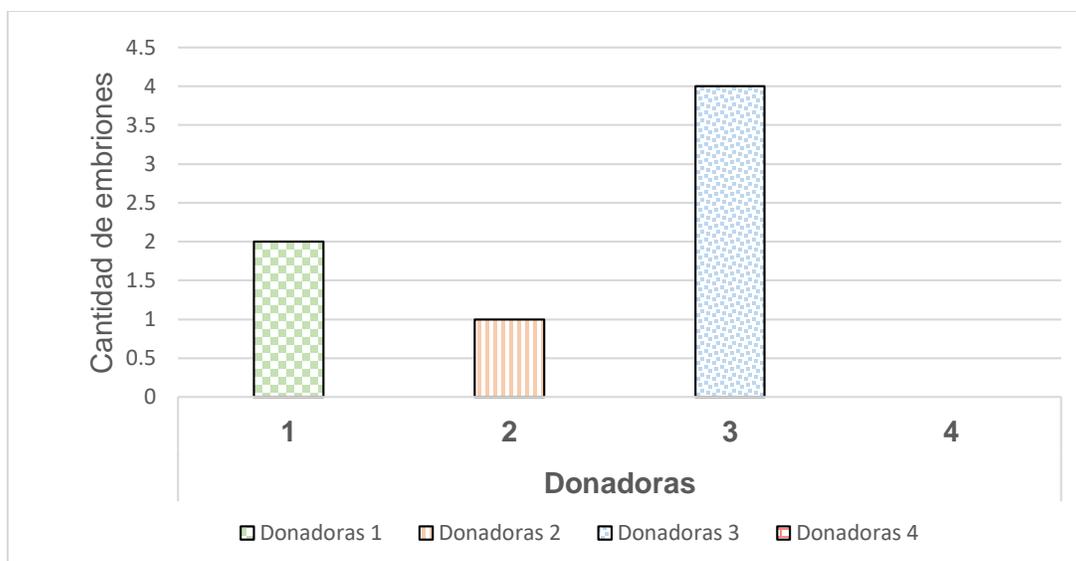


Figura 24. Cantidad total de embriones colectados en las donadoras

Los embriones obtenidos fueron siete como se indica en la figura 24, en el cual en la primera oveja donadora se obtuvo dos embriones, de la segunda donadora un embrión, en la tercera donadora se obtuvo cuatro embriones y en la cuarta donadora no se encontró embriones.

Receptoras:

Tabla 14

Día 13, detección de celo en las ovejas receptoras, con la presencia de machos receptores en dos horas de día

Presencia de celo en la tarde y noche	Ovejas receptoras														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
14:00 horas	Si	Si	Si	Si	Si	Si	No	No	No	Si	No	No	No	Si	No
20:00 horas	Si	Si	Si	Si	Si	Si	No	Si	No						

El cuadro 14 indica la hora y día de detección de celo en las 15 ovejas receptoras, en la mañana nadie presentó celo, en la tarde a las 14:30 horas 8 ovejas (53.33%) presentaron celo y en la noche a las 20:00 horas 13 ovejas (86.67%) presentaron celo.

Tabla 15

Día 14, detección de celo en las ovejas receptoras, con la presencia de machos receptores en dos horas de día

Presencia de celo en la mañana y tarde	Ovejas receptoras														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
08:00 horas	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si
15:00 horas							Si						Si		

Como se indica en el cuadro 15, todas las ovejas receptoras presentaron celo durante la mañana a las 08:00 horas que representa el 100% y en la tarde a las 15:00 horas, dos ovejas continuaron con síntomas de celo.

Tabla 16

Tiempo total estimado de largo del celo en las ovejas receptoras

Ovejas receptoras	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Largo de celo en horas	18	18	18	18	18	18	7	12	12	18	18	18	12	18	5

Como se indica en el cuadro 16, diez ovejas presentaron celo 18 horas, tres ovejas presentaron 12 horas, una oveja siete horas y la última cinco horas aproximadamente, en porcentajes se detalla en el siguiente cuadro.

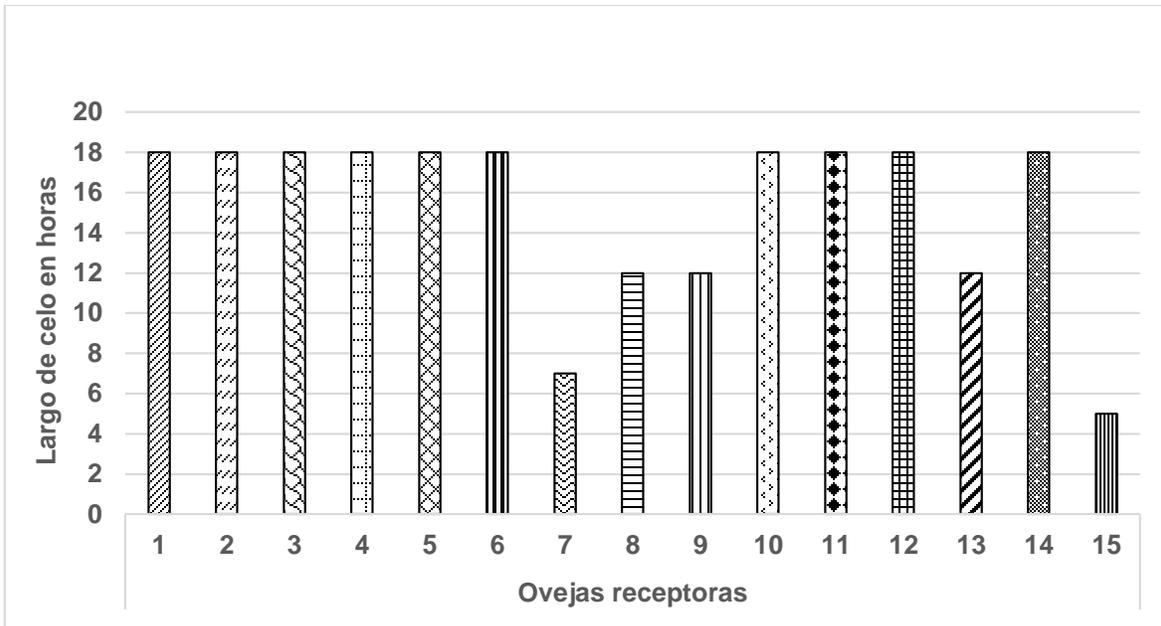


Figura 25. Tiempo total estimado de largo del celo en las ovejas receptoras

Como se indica en la figura 25, el 66.7% presentaron celo 18 horas, 20% presentaron 12 horas, 6.7% presentaron siete horas y 6.7% aproximadamente cinco horas.

En la siguiente tabla se observa a las siete ovejas receptoras que fueron seleccionadas al azar y en qué ovario ocurrió la ovulación para posteriormente transferir los embriones.

Tabla 17

Ubicación del cuerpo lúteo en el ovario de las ovejas receptoras

Ovejas receptoras	1	2	3	4	5	6	7
CL	OI	OI	OD	OI	OD	OI	OI

Posterior a la evaluación de la calidad de los embriones se procedió a la transferencia en las ovejas receptoras y para esto se identificó al cuerpo lúteo donde ocurrió la ovulación. Como se indica en el cuadro 17, cinco ovejas receptoras presentaron cuerpo lúteo en el ovario izquierdo que representa el 71.43% y dos ovejas presentaron cuerpo lúteo en el ovario derecho representando 28.57%.

Tabla 18

Calidad y estado de los embriones transferidos de las ovejas donadoras a las receptoras

Ovejas Donadoras	Embrión transferido y calidad	Receptoras
D1	Mórula (1)	R1
D1	Blastocisto (2)	R2
D2	Mórula (2)	R3
D3	Blastocisto (1)	R4
D3	Blastocisto (1)	R5
D3	Blastocisto (1)	R6
D3	Mórula (2)	R7

Como se indica en el cuadro 18, en la primera columna indica a las tres ovejas donadoras, la segunda columna indica el embrión que donaron esto en estado y calidad y la tercera columna son las siete ovejas receptoras a las que se les transfirieron los embriones.

La primera oveja donadora (D1) donó dos embriones, una mórula de primer grado a la primera oveja receptora (R1) y un blastocisto de segundo grado a la segunda oveja receptora (R2).

La segunda oveja donadora (D2) donó un embrión, una mórula de segundo grado a la tercera oveja receptora.

La tercera oveja donadora (D3) donó cuatro embriones, tres blastocistos de primer grado a tres ovejas receptoras (R4), (R5), (R6) y un embrión mórula de segundo grado a la séptima oveja receptora (R7).

6.1.3 Diagnóstico de la gestación por efecto de la transferencia

Posterior a la transferencia de los embriones a las siete ovejas receptoras, a continuación, se detalla lo siguiente:

Tabla 19

Porcentaje de gestación en las ovejas receptoras transferidas

Receptoras	1	2	3	4	5	6	7	Total	Total en %
Gestación	No	Si	No	No	Si	Si	No	3 preñadas	42.86% de gestación

Como se indica en el cuadro 19, tres receptoras dieron positivo a la gestación, que representa el 42.86%, esto se hizo mediante la prueba del retorno al celo con machos enteros, cuatro receptoras retornaron al celo entre los 15 a 20 días en los primeros meses posterior a la transferencia embrionaria.

6.2 Discusiones

6.2.1 Cuerpos Lúteos en las ovejas donadoras

En el trabajo desarrollado, la media encontrada de los cuerpos lúteos fue 5.5 ± 2.17 , datos parecidos al trabajo de Martínez y col. (2017) que obtuvieron una media de 4.3 ± 5.2 utilizando el mismo protocolo con FSHp en dosis decrecientes en ovejas criollas. Olivera y col., (2001), de la misma forma utilizaron dosis decrecientes de FSH y observaron 10.5 ± 7.8 , 16 ± 8.5 cuerpos lúteos con eCG y sin eCG respectivamente en 26 ovejas de tres razas (8 Lachas, 8 Manchegas y 10 Aragonesas), estas razas son catalogadas prolíficas razón por la cual los datos son mayores al trabajo realizado.

Gibbons y Marcela (2004), obtuvieron 11.8 ± 1.4 en su primer grupo y 9.7 ± 2.8 en el segundo, utilizando FSHp en 23 ovejas merino inseminadas con semen congelado a las 42 y 55 horas, estos datos son significativamente mayores, debido a que lo realizaron en diferentes horas y además es una raza prolífica. Téllez y col. (2011), encontraron 26.5 ± 7.68 cuerpos lúteos en ovejas Rideau Arcott y 9.00 ± 2.52 en Suffolk con eCG y FSH

en dosis decrecientes, datos significativamente mayores ya que también se trata de ovejas prolíficas y la inseminación vía intrauterina con semen fresco aumenta la tasa de fertilización. Harasymowycz y col. (2014), obtuvieron una media igualmente mayor al trabajo con 18.4 y 12.2 cuerpos lúteos en 10 ovejas cruce Texel con dosis decrecientes y dosis constantes de FSHp.

Gavancho y Limayrnanta (2011), encontraron $8,2 \pm 2,16$ en el T1 con 150 mg de EHE elaborado en laboratorio y en dosis decrecientes, mientras las ovejas del T2 presentaron un promedio de $7,96 \pm 1,93$ con 500 IU de eCG, estos datos solo utilizando eCG son similares al trabajo realizado con FSH en dosis decrecientes. Morales y col., (2019), en el T1 obtuvieron $5,40 \pm 3,0$ cuerpos lúteos con 1000 UI eCG y en el T2 $9,80 \pm 5,20$ con 1500 UI de eCG en 16 ovejas Poll Dorset, esta raza es prolífica y presentaron similares resultados con el trabajo. Azawi y Al-Mola (2011), en época reproductiva obtuvo 7.33 ± 0.54 con eCG más GnRH y 4.33 ± 0.39 sólo con eCG; en época no reproductiva encontró 2.27 ± 0.38 con eCG y 3.43 ± 0.22 con eCG más GnRH en 24 ovejas Awassi lo cual mencionan que hay diferencias en épocas y son similares a los resultados del trabajo utilizando ovejas criollas.

Otros datos superiores al trabajo son de Vivanco, (2013) con 9.77 ± 3.94 cuerpos lúteos en ovejas East Friesian y 9.40 ± 3.00 en ovejas Dohne con eCG e inseminadas por la técnica laparoscópica lo que aumenta el porcentaje de fertilidad. González y Quezada (2016) realizaron el conteo de cuerpos lúteos en dos diferentes días, utilizando 21 ovejas Corriedale superovulados con FSH y eCG, después de la fertilización administraron progesterona de acción prolongada, al día siete obtuvo para el T1 control 8.3 ± 1.45 , para el T2 con seis mg de progesterona 7.5 ± 4.50 , para el T3 con 18 mg de progesterona 22.0 ± 18.00 cuerpos lúteos. Al día 13 fueron para el T1: 7.0 ± 2.52 , para el T2: 3.0 ± 0.00 y para el T3: 3.0 ± 1.00 , los resultados obtenidos del día siete son mayores al trabajo desarrollado con la administración de progesterona después de la fertilización.

6.2.2 Evaluación y clasificación de embriones

En el presente trabajo desarrollado se obtuvo una media de 1.75 ± 1.47 embriones, estos datos son similares a Morales y col., (2019) que en su primer tratamiento obtuvo $0,63 \pm 1,41$ y en el segundo tratamiento $2,13 \pm 2,30$ embriones en ovejas Poll Dorset, también se encontró datos parecidos al de Martínez y col. (2017) donde encontraron 2.2 ± 2.5 embriones en ovejas criollas utilizando en mismo tratamiento. Otros datos similares son de Azawi y Al-Mola (2011), ellos utilizaron ovejas de la raza Awassi en época reproductiva y obtuvieron $4,32 \pm 0,56$ con eCG más GnRH y $1,06 \pm 0,26$ con eCG, los primeros datos son mayores al trabajo ya que Azawi y Al-Mola utilizaron GnRH 24 horas después de la remoción de la esponja lo que incrementó el porcentaje de fertilidad. También se encontró similitud con Téllez y col. (2011), donde obtuvieron 2.25 ± 1.93 embriones en las ovejas Rideau y 1.00 ± 1.00 en las Suffolk.

Olivera, y col, (2001), en el grupo con eCG encontraron 5.6 ± 4.2 y 10.7 ± 10.0 embriones sin eCG en ovejas de tres razas donde el grupo sin eCG tiene mayor cantidad de embriones, en este caso las ovejas son catalogadas como prolíficas a diferencia de las criollas en este caso donde los datos obtenidos son menores. También Gibbons y Marcela (2004), en el primer grupo las ovejas inseminadas a las 42 horas después de detectar celo obtuvieron 5.3 ± 1.1 y 4.6 ± 1.3 embriones en el segundo grupo inseminadas a las 55 horas después, en otra investigación de los mismos autores Gibbons y Cueto (2013), colectaron 5.9 ± 0.6 y 6.4 ± 1.2 embriones con dosis bajas y altas de FSH a dosis decrecientes en ovejas merino, estos datos son mayores a los obtenidos en el trabajo.

Otro autor que encontró mayor número de embriones fue Vivanco (2013), que dada la buena respuesta ovulatoria en su investigación obtuvieron para la raza East Friesian 4.08 ± 3.85 embriones y para la raza Dohne 7.10 ± 5.8 , datos mayores a los obtenidos ya que también se tratan de dos razas lecheras prolíficas.

6.2.3 Diagnóstico de gestación

En la presente investigación se obtuvo un 42.86% de gestación, a diferencia de Gibbons y Cueto (2004), que obtuvieron datos superiores en su trabajo con un porcentaje de 70.2% y 80.0% de gestación en los dos grupos inseminados en diferentes horas.

Téllez y col. (2011) registraron $33.33 \pm 33.33\%$ en las ovejas Rideau Arcott y $80.00 \pm 20.00\%$ en Suffolk; Matinez y col. (2017) registraron 50% de gestación en su investigación donde lo califican como moderada, tratándose de ovejas criollas, que reportan un índice de una cría por año y en condiciones de campo el porcentaje de fertilidad baja.

6.2.4 Parición

Como dato adicional, las tres ovejas receptoras que dieron positivo a la gestación, tuvieron sus partos normales, una de las crías tuvo una muerte perinatal en los primeros días debido a factores estresantes.

7. CONCLUSIONES

Se pudo colectar siete embriones viables en las cuatro ovejas donadoras multiovuladas.

La respuesta del protocolo en los ovarios de cada oveja donadora, con relación al conteo de los cuerpos lúteos tuvo diferencias en cada una, la mayor cantidad de cuerpos lúteos fueron ocho en la tercera donadora en el ovario izquierdo, en la primera y cuarta donadora no hubo respuesta al tratamiento sin encontrar cuerpos lúteos ni folículos en desarrollo en el ovario izquierdo de ambas donadoras.

Del total de embriones colectados, se identificaron cuatro blastocistos y tres mórulas, a la evaluación de la calidad de los mismos fueron tres embriones de segundo grado y cuatro embriones de primer grado.

Con relación al porcentaje de gestación, se obtuvo 42.86%, esto es calificada como moderada, tratándose de ovejas criollas que reportan un índice de una cría por año.

Las pariciones fueron de forma natural, estas no presentaron problemas durante el parto, al igual que las crías.

8. RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar estudios sobre la fisiología reproductiva de los ovinos criollos.
- Desarrollar trabajos de transferencia de embriones en mayor cantidad de animales y clasificado por edades.
- Utilizar otros protocolos de multiovulación y sincronización de celo en ovinos criollos.
- Realizar investigaciones de Transferencia de Embriones en ovinos criollos en diferentes sistemas de producción.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRAZ, A. (2009). *Caprinotecnia 2da edición*. México: Editorial Limusa S.A.
- Aguerreberre, J. A. (1981). Manejo de la reproducción en el ovino. En J. A. Aguerreberre. México.
- Almeraya, A. P., Zarco Quintero, L. A., y Mendez, J. V. (2003). Estacionalidad Reproductiva en Ovejas. *Ciencia Veterinaria*, 33.
- Alvarez, A., Rodriguez, O., y Hernandez, J. (1994). Sincronización del estro en la borrega Pelibuey con la utilización de prostaglandina F2 alfa. 32(1), 25-29.
- Alvarez, E. U. (2017). *Evaluación de la Fertilidad en Inseminación Artificial por Laparoscopia bajo tres niveles de Gonadotropina Corionica Equina en Ovinos Criollos*. Cusco- Perú.
- Arroyo. (2011). Estacionalidad Reproductiva de la Oveja en México. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 829-845.
- Azawi, O. (21 de Abril de 2011). A study on the effect of GnRH administration on the ovarian response and aparoscopic intrauterine insemination of Awassi ewes treated with eCG to induce superovulation. (S. P. Bajos, Ed.) *Tropical Animal Health and Production*, 43(7), 5.
- Azawi, O. I., y Al-Mola, M. (Octubre de 2011). Un estudio sobre el efecto de la administracion de GnRH sobre la respuesta ovarica y la inseminacion intrauterina laparoscopica en ovejas Awassi tratadas con eCG para inducir superovulacion. (S. P. Bajos, Ed.) 43(7), 1351-1355.
- Balcázar, A., Boeta, M., S., Cerbón, J. L., y Medrano, J. H. (2018). *Fisiología Reproductiva de los Animales Domesticos 1ra Edicion*. México.
- Baraña, L. (2011). *Biotechnología en Reproduccion Animal*. Buenos Aires.
- Bari F, K. M. (2003). *Factors affecting the survival of sheep embryos after transfer within a MOET program*.
- Boeta, Balcazar, Ceron, Medrano, Ramirez, Almeraya, Zarco. (2018). *Fisiología Reproductiva de los animales Domésticos (1ra Edicion ed.)*. Mexico.

- Buratovich, O. (Junio de 2010). Eficiencia reproductiva en ovinos: Factores que la afectan; Parte II: Otros factores no nutricionales. *EEA INTA*, 4.
- Cadena, S., Arevalo, M., Gallegos, J., y Hernandez, A. (Septiembre-Diciembre de 2018). Sincronización del estro en ovejas con PGF2 α y bioestimuladas con "efecto macho". *ABANICO VETERINARIO*, 8(3), 12.
- Cadena, S., Arevalo, M., Gallegos, J., y Hernandez, A. (Septiembre-Diciembre de 2018). Sincronización del estro en ovejas con PGF2 α y bioestimuladas con "efecto macho". *ABANICO VETERINARIO*, 12.
- Cocero, Gonzales de Bulnes, A., Santiago Moreno, J., m., G. L., y Sebastian, L. (1999). Efecto del protocolo de administracion de FSH ovina sobre rendimientossuperovulatorios en ovejas Manchegas. *ITEA*, 2.
- Cognie Y, B. G. (2003). *Current status of embryo technologies in sheep and goat*.
- Condori Lanza, N. A. (2017). *Municipio: Taraco; Provincia Ingavi*. La Paz-Bolivia.
- Córdova, A., y Jimenez, C. (2008). Procedimientos para aumentar el potencial reproductivo en ovejas y cabras. *Sitio Argentino de Producción Animal*, 76-78.
- Cruz, J. I. (2018). *Determinación de los parámetros productivos y reproductivos del ovino criollo en centros poblados de la Provincia de Abancay-2017* (Vol. Maestría en Ganadería Andina). Puno-Perú: Universidad Nacional del Altiplano.
- Cultura y Educación. (2010). *Manual de Ovinos*. Buenos Aires, Argentina: Sitio Argentino de Producción animal.
- Delgado, A., y Urviola, G. (vol. 54, núm de 2005). Comportamiento reproductivo del ovino criollo. *Archivos de Zootecnia*, 54(206-207), 541-544.
- Domínguez, L., García, S., Luna, P., Cedeño, B., Parra, S., Camacho, H., y Hernández, C. (2015). Estado actual y aplicación de la Transferencia de Embriones en Ovinos y Caprinos.
- DONEY J. M., G. R. (2012). *Sheep and Goat Production-World Animal Science, Production Systems*. Elsevier, Armsterdam.

- Elías, M., y Arrebola, F. (Junio de 2015). Sistemas de identificación en animales de compañía. (J. d. Andalucía, Ed.) *Consejería de Agricultura, Pesca y Desarrollo Rural*, 21.
- FAO/STAT. (2018). *Datos sobre alimentación y cultura*. Obtenido de Datos sobre alimentación y cultura.
- Flores-Foxworth, G. (2007). *Current therapy in large animals. Theriogenology Chapter 83 Reproductive Biotechnologies in the Goat*. Youngquist RS and Threlfall WR.
- Folch, J., Alabart, J. L., y Vijil, E. (1989). La Transferencia de Embriones en la Oveja.
- Forcada, F., Casao, A., y Abecia, J. A. (2009). Producción In Vivo de Embriones Ovinos: Implicaciones DE I+D. *Sitio Argentino de Producción Animal*, 2.
- Fuente, J. D. (Marzo de 2012). Reproducción asistida en el vacuno de leche. Córdoba, España: INIA.
- Fuente, J. D. (Marzo de 2012). Reproducción Asistida en el Vacuno de Leche. *Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria*.
- Fundación Chile. (2008). *Manual de reproducción ovina*. Chile.
- Galina, C. (2008). *Reproducción de Animales Domésticos* (3ra Edición ed.). México: LIMUSA.
- Gavancho, R., y Limaynanta, G. (Julio de 2011). Estudio comparativo de los dispositivos vaginales y el extracto de hipófisis equino en la sincronización y superovulación de ovejas. *CIEN DES*.
- Gibbons, A., y Cueto, M. (2004). Transferencia de Embriones en Ovinos. *IDIA*, 4.
- Gibbons, D. A., y Cueto, D. M. (2013). Manual de transferencia de embriones en ovinos y caprinos. *INTA*, 3, 4.
- Gibbons, D. A., y Cueto, I. M. (S/F). Manual de inseminación artificial en la especie ovina. *Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA)*, 19.
- Gonzales, A. (14 de Marzo de 2019). Actualización en protocolos de sincronización del celo en la especie ovina. *Foro de Ovino*, 3.

- González, M. G., y Quezada, S. M. (2016). *Administración de progesterona de acción prolongada después de la fertilización en ovinos superovulados, y su relación con el tamaño de cuerpos lúteos y embriones*. Cuenca.
- González, V., y Tapia, M. (2017). *Manual de manejo ovino* (Vol. N° 03). Santiago, Chile.
- Gordon, I. (1997). *Reproduction in Sheep and Goats. Controlled reproduction in farm animals series* (Vol. 2). Cambridge: CABI Publishing.
- Hafez. (1993). *Reproduccion e Inseminacion Artificial en Animales* (SEXTA ed.). Mexico: Nueva Editorial Interamericana S.A.
- Hafez. (2000). *Reproduccion e Inseminacion Artificial*. México.
- Hafez. (2002). *Reproducción e Inseminación Artificial en Animales* (Vol. Séptima Edición). México: McGRAW-HILL INTERAMERICANA.
- Harasymowycz, Benítez, Morales, Paul, y Checo. (June de 2014). Ovarian response to superovulatory treatment with constant and decreasing FSHp dose assessed by laparoscopic in texel crossbred sheep. *SciELO*, 4(1), 5.
- Instituto Nacional de Estadística. (s.f.). *Observatorio Agroambientaly Productivo*. Recuperado el 20 de Enero de 2020, de <http://www.observatorioagro.gob.bo/index.php?variable=84>
- Ishwar AK, M. M. (1996.). *Embryo transfer in sheep and goats*.
- Izquierdo, C., Lang, R., Oaxaca, S., Gutiérrez, P., y Dadi, D. (1999). Induccion y Sincronizacion de celos en ovejas Criollas Anestricas Estacionales con Esponjas Vaginales impregnadas en FGA Y PMSG Inyectable. *Archivos de Zootecnia*, 48(184), 437-440.
- Malpaux, B., Thiéry, J., y Chemineau, P. (1999). *Melatonin and the seasonal control of reproduction nutrition development*.
- Manual del Protagonista. (2010). Reproducción Animal.
- Marino, M. (S/F). *Raza Manchega*. Obtenido de Raza Manchega: <https://www.infocarne.com>

- Martínez, A. G. (2006). *Optimización de métodos de criopreservación de embriones bovinos y ovinos*. Buenos Aires, Argentina: Facultad de Ciencias Exactas y Naturales.
- Martínez, J., Torres, S. M., Lauro Bucio, L., Rojo, R., Mendoza, G., Cordero, J., y Mejía, O. (Enero de 2006). Efecto de ECG e inseminación laparoscópica sobre el comportamiento reproductivo en ovejas F1 (damara x merino). *Revista Científica*, XVI(1), 72-77. Obtenido de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=95916111>
- Martínez, R. D. (1999). Comparación de cinco técnicas de campo para detectar preñez en ovejas Pelibuey. (D. d. Zootecnia, Ed.)
- Martínez, R., Mejía, O., Zarco, L., Mastache, A., y Reyna, L. (15 de Julio de 2017). Evaluación de un protocolo de superovulación para transferencia de embriones en ovejas Criollas de la Montaña de Guerrero. *Abanico Veterinario*, 7. Obtenido de <http://dx.doi.org/10.21929/abavet2017.73.3>
- Mejía, O. (2005). Inseminación Artificial y Transferencia de Embriones en Borregas y Cabras. 19.
- Morales, M. B. (Marzo,2017). *Comparacion de dos protocolos de superovulacion utilizando diferentes dosis de Gonadotropina Corionica Equina (eCG) en la produccion de embriones ovino* (Vol. Trabajo de grado). Quito- Ecuador.
- Morales, M., Vargas, J., Salazar, R., y Mancheno, R. (15 de Marzo de 2019). Protocolos de Superovulacion utilizando diferentes dosis de Goonadotropina Corionica Equina (eCG) en la produccion de embriones ovinos. *Revista Científica Ecuatoriana*, 6, 59-64. doi:<https://doi.org/10.36331/revista.v6i1.66>
- Olivera, J., Alabart, J., V., A., Arrese, Heredia, B. D., J., C. M., Folch. (2000). Efecto de la eCG en la superovulación de ovejas con dosis decrecientes de FSH ovina. *Unidad de Tecnología en Producción Animal*, 3.
- Olivera, J., Alabart, J., V., A., Arrese, Heredia, B. D., M., Folch. (2001). Efecto de la eCG en la superovulacion de ovejas con dosis decrecientes de FSH ovina. *SIA-DGA*, 3.

- Oviedo R., R. P. (2007). *Programa de Mejoramiento Ovino, Corporación Regional de Desarrollo de La Paz. La Paz, Bolivia.* La Paz, Bolivia.
- Oyuela, y Jimenez. (191-200 de Septiembre-Diciembre de 2010). Factores que afectan la tasa de preñez en programas de transferencia de embriones. *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*, 57(III), 10.
- Palma, G. (2001). *Bioteconología de la reproducción.* Argentina.
- Palma, G. (2008). Evaluación morfológica de los embriones. *Bioteconología de la Reproducción*, 9.
- Ponce, N. P. (05 de Junio de 2015). Transferencia de embriones en ganado bovino. (U. C. Herrera, Ed.) 42.
- Ramirez, R. I., y Mamani, H. V. (2013). *Manual de ovinos y las buenas prácticas.* Lima, Peru: 1ra Edición.
- Rodríguez, J. L., Suástegui, García, S. R., Ducolomb, Y., Hernández, E. C., y Pichardo, J. E. (Enero-Abril de 2017). Development of sheep morulae in a simple or sequential medium: relationship between morphological evaluation and embryonic viability. *Revista de Salud Animal*, 39(1), 10.
- Rodríguez, L. A., Álvarez, M., y Pérez, J. C. (2016). *Bases fisiológicas y características reproductivas de las especies ovina y caprina.*
- Romero, O. (Julio de 2015). Evaluación de la Condición Corporal y Edad en Ovinos. *Instituto de Investigaciones Agropecuarias*(79).
- Rosa, D. I., (2013). Datos preliminares de índices productivos en Ovinos Criollos de la Región Semiárida de Formosa, Argentina. *Sitio Argentino de Producción Animal*, 107-110.
- Rosa, D., y Bryant, M. (2003). *Seasonality of reproduction in Sheep. Small Ruminant Research.*
- Salamanca, Catachura, Sánchez, Castro, Arnhold, McManus, J.R., B. (2014). Ovinos Criollos y Mestizos en el Litoral Sur Peruano. *Actas Iberoamericanas de Conservación Animal*, 62-64.

- Salazar, E. G. (2018). *Efecto del fotoperiodo sobre la producción y reproducción de ovinos en la provincia de Cotopaxi*. Latacunga – Ecuador.
- Shelton JN, (1966). *Survival of fertilized eggs transferred to ewes after progesterone treatment*.
- Sitio Argentino de Producción Animal. (2005). *Manual de Ovinos*. Buenos Aires, Argentina, Argentina: Cultura y Educación.
- Stockebrand, C. E. (2003). *Desarrollo de una técnica asistida por laparoscopia para la recolección de embriones en ovejas*. Valdivia, Chile: Instituto de Reproducción Animal.
- Stringfellow, D. A. (1998). *Manual of the International Embryo Transfer Society*. USA: Third Edition, Savoy, Ill, .
- Téllez, R., López, A., Juárez, J., y Rangel, R. (2011). Transferencia de embriones en ovejas Suffolk y Rideau en clima templado. (U. A. Departamento de Zootecnia, Ed.)
- Thibier, M., y Bryan., G. (2000). *Embryo transfer in small ruminants: the methods of choice for health control and germ plasm exchanges*. Livest Prod.
- Tron, J. D., Padilla, E. G., y Rojas, L. M. (1997). Estacionalidad reproductiva en ovejas de cinco razas en el Altiplano Central Mexicano. *Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias*, 25-31.
- Ulloa, R., Gayosso, A., Alejandro, R., y Morales, A. (20 de Abril de 2009). Determining the genetic origin of Mexican creole sheep (*Ovis aries*) by cytochrome C oxidase subunit I gene analysis. *Ciudad Universitaria*, 6.
- Ureña, F. (2018). *Zootecnia y Gestión Sostenible*. (Gamaa, Editor, y U. d. Córdoba, Productor) Obtenido de Zootecnia y Gestión Sostenible.
- Vabedecum Sani. (S/F). *ECEGON*. Obtenido de <https://www.sani.com.ar>
- Vásquez, B., y Obispo, N. E. (septiembre-diciembre de 2005). Técnicas de Reproducción Asistida en Ovinos. *Revista Digital del Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias de Venezuela CENIAP HOY*(9), 11.

Vetoquinol Especialidades Veterinarias. (S/F). *vetoquinol*. Obtenido de <https://www.vetoquinol.es>

Vivanco, W. (1999). *Transferencia embrionaria en ovinos y caprinos*.

Vivanco, W. (2013). Transferencia de Embriones en Núcleos de Ovinos de Leche y Doble Propósito. *Asociación Peruana de Reproducción Animal (ASPRA)*, 41-44.

10. ANEXOS



Figura 26. Fármacos empleados para el pre y postquirúrgico



Figura 27. Ingreso de la donadora para la colecta de embriones



Figura 28. Asepsia del área quirúrgica



Figura 29 y 30. Aplicación de anestesia local



Figura 31. Laparotomía exploratoria para la evaluación de cuerpos lúteos presentes en los ovarios



Figura 32. Colecta de embriones – lavado



Figura 33. Búsqueda de embriones