

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS



CARRERA: MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

TEMA:

COMPORTAMIENTO DE LA CINÉTICA FOLICULAR EN OVEJAS
SINCRONIZADAS CON DIFERENTES HORMONAS LIBERADORAS DE
GONADOTROPINAS

Tesis presentada previa a la obtención del título de:

Médico Veterinario Zootecnista

Autor:

Darwin Dario Acuña Hinojosa

Nombre del Tutor:

Ing. Gonzalo Aragadvay Mg.

CEVALLOS – ECUADOR

Abril 2018

DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD

“El suscrito, DARWIN DARIO ACUÑA HINOJOSA, portador de cedula identidad número: 050350396-3, libre y voluntariamente declaro que el Informe Final del proyecto de investigación titulado: COMPORTAMIENTO DE LA CINÉTICA FOLICULAR EN OVEJAS SINCRONIZADAS CON DIFERENTES HORMONAS LIBERADORAS DE GONADOTROPINAS” es original, autentico y personal. En tal virtud, declaro que el contenido es de mi sola responsabilidad legal y académica, excepto donde se indican fuentes de información consultadas”.

Darwin Dario Acuña Hinojosa

C.I. 050350396-3

HOJA DE DERECHO DE AUTOR

“Al presentar este Informe Final del Proyecto de Investigación titulado: COMPORTAMIENTO DE LA CINÉTICA FOLICULAR EN OVEJAS SINCRONIZADAS CON DIFERENTES HORMONAS LIBERADORAS DE GONADOTROPINAS” como uno de los requisitos previos para la obtención del título de grado de Médico Veterinario y Zootecnista de la Universidad Técnica de Ambato, autorizo a la Biblioteca de la Facultad, para que este documento esté disponible para su lectura, según normas de la Universidad.

Estoy de acuerdo en que se realice cualquier copia de este Informe Final dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica potencial.

Sin perjuicio de ejercer mi derecho de autor, autorizo a la Universidad Técnica de Ambato la publicación de este Informe Final, o de parte de él.

Darwin Dario Acuña Hinojosa
C.I. 050350396-3

COMPORTAMIENTO DE LA CINÉTICA FOLICULAR EN OVEJAS
SINCRONIZADAS CON DIFERENTES HORMONAS LIBERADORAS DE
GONADOTROPINAS

REVISADO POR:

Ing. Gonzalo Aragadvay Mg.
TUTOR

Dr. Marco Rosero Mg.
ASESOR DE BIOMETRÍA

Dr. Efrain Lozada
ASESOR DE REDACCIÓN TÉCNICA

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Técnica de Ambato, Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia y a todos mis docentes que inculcaron conocimientos preparándome para la vida profesional.

A los docentes: Ing. Gonzalo Aragadvay, Dr. Marco Rosero y Dr. Efraín Lozada, quienes gracias a su conocimiento, asesoramiento y orientación se concluyó de manera exitosa este proyecto de investigación

Al personal que forma parte de las instalaciones de la Facultad de Ciencias Agropecuarias por proporcionar la información, materiales y espacios necesarios en cada momento de la carrera y en la investigación.

DEDICATORIA

A Dios por regalarme la oportunidad de vivir esta experiencia maravillosa regalándome a diario la fortaleza espiritual y moral para superar cualquier adversidad.

A mis Padres, Ramiro Acuña y Graciela Hinojosa por haberme apoyado de una manera incondicional durante toda esta etapa en la universidad, ellos son quienes impulsaron mi desarrollo para obtener este título siendo un ejemplo de superación para mí.

A mis amigos con quienes eh compartido buenos y malos momentos en nuestra formación académica, en los que hemos demostramos unidad y compañerismo para cumplir nuestros sueños.

ÍNDICE GENERAL

PRELIMINARES

1. INTRODUCCION	12
2. MARCO TEÓRICO O REVISION DE LITERATURA	14
2.1 Antecedentes investigativos	14
2.2 Marco conceptual	19
2.2.1 Variable independiente.....	27
2.2.2 Variable dependiente.....	27
2.1.3 Unidad de análisis	28
3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	29
3.1 Hipótesis.....	29
3.2 Objetivos	29
3.2.1 Objetivo general.....	29
3.2.2 Objetivos específicos.....	29
4. Materiales y métodos	30
4.1 Ubicación del experimento	30
4.2 Características del lugar	30
4.3 Equipos y materiales	31
4.4 Factores en estudio	32
4.5 Tratamientos.....	32
4.6 Diseño experimental.....	33
4.7 Variables de respuesta.....	33
4.8 Procesamiento de la información	36
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	37
6. conclusiones, bibliografía y anexos	42
6.1 Conclusiones	42
6.2 Referencias bibliográficas	43
7. PROPUESTA.....	56
7.1 Datos informativos	56
7.2 Antecedentes de la propuesta	56

7.3	Justificación.....	56
7.4	Objetivos	57
7.5	Análisis de factibilidad.....	57
7.6	Fundamentación	57
7.7	Metodología, modelo operativo	58
7.8	Administración.....	59

INDICE DE ANEXO

Anexo 1	Exámenes de laboratorio para determinar la salud del rebaño.....	49
Anexo 2	Ficha de campo para registro de tamaño folicular.	50
Anexo 3	Exámenes de laboratorio determinación de 17 β -estradiol	51
Anexo 4	Presupuesto	52
Anexo 5	Gráficos	53

INDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1	Cinética folicular diaria en ovejas tratadas con buserelina	38
Gráfico 2	Cinética folicular diaria de ovejas tratadas con Gonadorelina	38

INDICE DE FIGURAS

Figura 1	Ubicación del experimento	30
-----------------	---------------------------------	----

INDICE DE TABLAS

Tabla 1	Equipos y materiales utilizados durante el experimento.....	31
Tabla 2	Tratamientos a base de prostaglandinas aplicadas a todos los animales antes del inicio del experimento.....	33
Tabla 3	Tratamiento 1 (T1)	33
Tabla 5	Dieta suministrada a las ovejas durante la fase experimental (NRC, 1993).	34

Tabla 6 Crecimiento folicular diario en ovejas sincronizadas con diferentes tipos de gonadotropinas	37
Tabla 7 Niveles de estrógenos medidos en diferentes momentos de los tratamientos aplicados.....	39
Tabla 8 Porcentaje de polimorfos nucleares encontrados en la citología vaginal.....	40
Tabla 9 Porcentaje de preñez de ovejas sincronizadas con diferentes tipos de gonadotropinas	41

RESUMEN

El presente trabajo fue realizado en la granja de la Universidad Técnica de Ambato. El objetivo de la presente investigación fue analizar la cinética folicular, en ovejas sincronizadas con diferentes tipos de hormonas liberadoras de gonadotropinas: tratamiento 1 (Buserelina) (T1), y tratamiento 2 (Gonadorelina) (T2), para esto se utilizaron doce ovejas de la raza 4M de una edad promedio de dos a cuatro años divididas en dos grupos. Los animales fueron alojados en corrales individuales, y fueron alimentados con una dieta experimental que cubrió sus requerimientos nutricionales, además se realizó un periodo transitorio de adaptación y preparación utilizando prostaglandinas para sincronizar el celo. Se realizó ecografías diarias utilizando un ecógrafo (7,5 MHz) de uso veterinario adaptado con un mango rígido de plástico que se adaptara a la vía rectal. Se manejó dos protocolos de sincronización OVSYNCH difiriendo los días de la aplicación de las prostaglandina (T1) 0, 7, 9 y (T2) 0, 6, 9 en los cuales una vez finalizado los tratamientos después de transcurridas 24 horas se dio servicio a los animales. El tamaño que se determinó en el crecimiento folicular al finalizar el periodo experimental entre (T1) y (T2): fue de 0,28 mm ($p=0.146$) lo cual evidenció que no existió un efecto significativo entre hormonas. En cuanto a los niveles de $17\text{-}\beta$ -estradiol y porcentaje de polimorfos nucleares no se evidenciaron diferencias significativas. Se concluye que el tamaño del folículo al inicio del tratamiento ejerce un efecto marcado sobre una nueva onda folicular, sin importar el tipo de análogo de GnRH (buserelina y gonadorelina) que se utilice en la sincronización de ovinos.

Palabras claves:

Cinética folicular, Análogos GnRH, Gonadotropinas, $17\text{-}\beta$ -estradiol,

ABSTRACT

The present work was carried out on the farm of the Technical University of Ambato. The objective of the present investigation was to analyze follicular kinetics, in sheep synchronized with different types of gonadotropin-releasing hormones: treatment 1 (buserelin) (T1), and treatment 2 (gonadorelin) (T2), for this twelve sheep were used. The entire 4M from an average age of two to four years divided into two groups. The animals were housed in individual pens, and were fed with an experimental diet that met their nutritional requirements, in addition a transitive period of adaptation and preparation using prostaglandins was performed to synchronize estrus. Daily scans were performed using an ultrasound (7.5 MHz) adapted for veterinary use with a rigid plastic handle adapted to the rectal route. Two OVSYNCH synchronization protocols were handled, differing the days of the application of prostaglandin (T1) 0, 7, 9 and (T2) 0, 6, 9 in which, once the treatments were finished after 24 hours, service was given to animals. The size that was determined in follicular growth at the end of the experimental period between (T1) and (T2): was 0.28 mm ($p = 0.146$), which showed that there was no significant effect between hormones. Regarding the levels of 17- β -estradiol and percentage of nuclear polymorphs, no significant differences were observed. It is concluded that the size of the follicle at the beginning of the treatment exerts a marked effect on a new follicular wave, regardless of the type of GnRH analogue (buserelin and gonadorelin) that is used in the synchronization of sheep.

CAPITULO I

INTRODUCCIÓN

Adams, G. (1994) menciona que: en la actualidad la utilización de diversas técnicas biotecnológicas tales como la sincronización del celo, inseminación artificial y transferencia de embriones permiten multiplicar animales de alto valor genético. La sincronización de celo en ovinos consiste en la agrupación de hembras en el estro durante un periodo corto de tiempo, con la utilización de productos hormonales; y con ellos conseguir partos agrupados en una determinada época del año, para lo que necesitamos contar con pasto de excelente calidad así como en abundancia para garantizar un desarrollo adecuado de crías. Una efectiva sincronización del celo ha sido la meta de muchos investigadores desde que la técnica de inseminación artificial está disponible. El estudio a detalle del desarrollo folicular es de vital importancia debido a que el folículo es la estructura que sintetiza 17- β - estradiol hormona responsable del celo, y la comprensión de estos mecanismos permitirá acciones más eficaces para la aplicación de biotecnologías relacionadas con la fisiología reproductiva. En tales circunstancias las investigaciones que se han realizado sobre la comprensión de la cinética folicular ovina.

López, M. (2014) da a conocer que las técnicas de reproducción asistida como lo es la superovulación, punción folicular, conservación y transferencia de embriones, constituyen en la actualidad una herramienta imprescindible tanto para el desarrollo de programas de conservación de recursos genéticos, como para la aplicación de programas de mejora genética destinados a incrementar las producciones ganaderas.

Gordon, R. (1997) manifiesta: Las ovejas son poliéstricas estacionales, en las que se encuentran fuertemente influenciada por el fotoperíodo. Presentan ovulación simple o doble dependiendo de la raza. Sus ciclos estrales son de 14 a 18 días, concentrándose la mayoría de ellos entre 16,5 y 17,5 días, presenta una fase folicular

de 2 ó 3 días, correspondiendo el día 0 al comienzo del estro con un pico de LH y su posterior ovulación.

Los métodos farmacológicos con implementación de hormonas se clasifican de acuerdo a su acción. El uso de la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH) y estradiol han sido incorporados a los tratamientos con progestágenos resultando en aceptables porcentajes de preñez. Estas combinaciones hormonales que aseguran concentraciones circulantes elevadas de progesterona y sincronizan tanto la emergencia de una nueva onda de folículos ováricos como la ovulación son los denominados protocolos para la inseminación artificial a tiempo fijo IATF. La presencia del comportamiento del celo no tiene importancia en los protocolos de IATF. Sin embargo, es necesario revisar el conocimiento actual de la fisiología reproductiva ovina, orientada a conocer los mecanismos de acción de gonadotropinas.

CAPITULO II

MARCO TEÓRICO O REVISION DE LITERATURA

2.1 Antecedentes investigativos

Ginther, A. (1989), da conocer que: una onda folicular consiste en la emergencia sincrónica de un grupo de folículos antrales con un diámetro de 4-5 mm. Un folículo (dominante) se selecciona mientras el resto de los folículos (subordinados) se vuelven atrésicos. Los ciclos estrales en ovinos están compuestos de 2 ó 3 ondas foliculares. Tanto en ciclos de 2 ondas como en los de 3, la emergencia de la primera onda folicular ocurre el día de la ovulación (día 0). En ciclos de 2 ondas, la segunda onda emerge los días 9 ó 10. En ciclos de 3 ondas, la segunda onda emerge los días 8 ó 9 y la tercera onda emerge los días 15 ó 16.

Murphy, A. (1991), manifiesta que: el folículo dominante presente al momento de la luteólisis se convierte en el folículo ovulatorio y la emergencia de la siguiente onda folicular se retrasa hasta la próxima ovulación. Probablemente la proporción de ovinos con 2 y 3 ondas sea aproximadamente igual. Los ovinos alimentados con una ración baja en energía presentaron una mayor proporción de ciclos de 3 ondas que aquellos alimentados con una ración alta en energía

Martínez, J., (2008); en su estudio titulado: “Comportamiento reproductivo de ovejas f1 (Damara x Merino) sincronizadas con CIDR (controlled internal drugs release) y dos tiempos de aplicación de GnRH”; da a conocer que: la evaluación del comportamiento reproductivo en ovejas F1 (Damara x Merino) importadas de Australia, sincronizadas con un dispositivo liberador de la hormona progesterona (CIDR) y dos tiempos de aplicación de hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), además una hormona sintética de GnRH (gonadorelina), utilizando cuarenta y cinco ovejas F1 de primer parto con 18.08 ± 0.07 meses de edad y 43.3 ± 5.6 kg de peso corporal. Estos investigadores probaron tres tratamientos: T1 (n = 15): CIDR

por doce días; T2 (n = 15): CIDR por doce días más 25 µg de GnRH 48 h antes del retiro del dispositivo y T3 (n = 15): CIDR por doce días más 25g de GnRH al momento del retiro del CIDR. El porcentaje de presentación de estros (100 %) fue similar ($p > 0.05$) para T1, T2 y T3.

Contreras, I. (2008), manifiesta que: el intervalo en horas (h) de inicio del estro sincronizado después del retiro del CIDR fue diferente ($p < 0.05$) en T2 y T3 (43.86 a 5.42 y 45.73 a 3.36 (h) comparado con T1 (T1 = 37.33 a 7.90 h). El porcentaje de fertilidad a estro sincronizado fue similar ($p > 0.05$) para T1, T2 y T3 (60, 53.3 y 46.6 %, respectivamente). La prolificidad promedio general fue de 100.8% y fue similar ($p > 0.05$) entre tratamientos. La concentración de progesterona determinó que las ovejas probadas tuvieron un cuerpo lúteo funcional al comienzo del experimento. Se concluye que el uso combinado de CIDR más GnRH, 48 h antes y al momento del retiro del dispositivo, no tiene efecto sobre el comportamiento reproductivo en ovejas F1 (Damara x Merino).

Kuran, A. (2003), menciona que: los tratamientos hormonales para la sincronización de estros, así como para la inducción de ovulaciones, se han basado en la utilización combinada de hormonas con el uso de un agente bloqueador de los ciclos estrales y ovulaciones fisiológicas (progesterona y sus derivados sintéticos), así como agentes inductores de la ovulación y apoyo luteotrópico.

Amiridis, G. (2005): manifiesta que, la finalidad de combinar dispositivos para sincronizar el estro, más la aplicación de GnRH, permitirían inducirlo fuera de la época reproductiva, y así agrupar los estros en tiempos más cortos, concentrar los partos en determinada época del año y reducir en forma considerable el intervalo entre partos”. Existen diferentes factores como los estímulos ambientales y la nutrición para regular la función reproductiva de los animales.

Uribe, L., (2008), en su estudio titulado “Población folicular y concentraciones plasmáticas de progesterona (P4) en ovejas sometidas a diferentes protocolos de sincronización”; manifiesta que: Los métodos más utilizados para la inducción y sincronización del estro y estimulación del crecimiento folicular en ovejas envuelven la (P4), utilizada en dispositivos intravaginales y aplicada intramuscularmente.

También el uso de otras hormonas como ganadotropinas, prostaglandinas, entre otras. Por otra parte este mismo autor menciona que los problemas en la disminución de la tasa de fertilidad, están estrechamente relacionada con la gran variabilidad en el tiempo y en el número de ovulaciones.

Bleach E. (2004), señala que: para una efectiva sincronización del celo, lo cual ha sido la meta de muchos investigadores desde la utilización de la técnica de inseminación artificial; genera otra alternativa para la sincronización del estro, el uso de la prostaglandina (PGF2 α). La PGF2 α es el factor luteolítico que induce la regresión del cuerpo lúteo a través de la interrupción de la fase progestacional del ciclo estral, iniciando así un nuevo ciclo. Independiente del programa de sincronización utilizando prostaglandina (PGF2 α) o el CIDR, seguido de la administración de 500 UI de eCG (gonadotropina corionica equina) intramuscular, al momento de la retirada del dispositivo, las concentraciones plasmáticas de P4 fueron menores que 1 ng/mL en las 24 horas siguientes al tratamiento, indicando que la luteolisis fue rápida y completa.

Whittier, D. (1998), manifiesta que: la administración de prostaglandina es el método más comúnmente utilizado para la sincronización de celos. Sin embargo, la detección de celo lleva mucho tiempo y mano de obra, depende de las influencias ambientales se debe considerar que los efectos de la prostaglandina (PGF2 α) vs CIDR y eCG (gonadotropina corionica equina) en la dinámica de la población folicular y su relación con las concentraciones plasmáticas de P4 fueron investigadas en ovejas cíclicas. Por lo tanto, en los últimos años se han desarrollado muchos protocolos para minimizar la necesidad de la detección de celos.

Savio, J. (1990), manifiesta que: el uso de progestágenos ha sido usado para extender la fase luteal, resultando en mayor cantidad de animales detectados en celos en un periodo más corto pero con menor fertilidad. Más recientemente el uso de la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH) y estradiol han sido incorporados a los tratamientos con progestágenos resultando en aceptables porcentajes de preñez. Estas combinaciones hormonales que aseguran concentraciones circulantes elevadas de progesterona y sincronizan tanto la emergencia de una nueva onda de folículos ováricos como la ovulación son los denominados protocolos para la IATF. La

presencia del comportamiento del celo no tiene importancia en los protocolos de IATF.

Arroyo, J., (2009), en su estudio titulado: “Respuesta reproductiva de ovejas de pelo sincronizadas con progesterona o prostaglandinas”, da a conocer que: la sincronización de estros con progesterona o cloprostenol en ovejas de pelo induce respuestas reproductivas similares, conociendo además que en regiones tropicales más de 60 % de los ovinos de pelo muestran actividad ovulatoria todo el año. En ovejas sincronizadas con progesterona + eCG, la concentración plasmática de progesterona mayor y constante fue del día 0 al 5 de tratamiento. Esto muestra la posibilidad de implementar protocolos cortos de sincronización en ovejas de pelo en latitudes ecuatoriales. Una doble aplicación de prostaglandinas con intervalo de 11 d sincroniza el estro en ovejas de pelo en condiciones tropicales. En consecuencia La sincronización del ciclo estral en esta especie es una biotecnología reproductiva que, asociada a esquemas de inseminación artificial, es una herramienta útil para mejorar la eficiencia reproductiva.

Quispe, T (2009), da a conocer que: la observación visual permite evidenciar la evolución de signos de estro con la finalidad de identificar las diferencias más importantes con respecto a la expresión del estro en la región sierra del Ecuador tanto en su duración como en su intensidad. Los recientes hallazgos en el área endocrinológica, han contribuido a un mejor conocimiento de los mecanismos fisiológicos que controlan la función reproductiva del ciclo estral en los ovinos. Sin lugar a duda uno de los mejores logros en la actualidad en la reproducción ovina, ha sido la disponibilidad comercial de sincronizadores de celo muy útiles en las ganaderías de nuestro país.

Martínez, M. (2005), manifiesta que: en algunas ocasiones por el desconocimiento de estas biotecnologías se han producido pérdidas; por la no detección de celo, problemas post-parto, quistes, elevados días abiertos y falta de concepción. Este sistema es completamente efectivo al inducir una nueva onda folicular y presentación de un cuerpo lúteo para obtener un celo de buena calidad. Por el desconocimiento y falta de buenos técnicos esta tecnología es subutilizado en nuestro país, con la cual se pretende mejorar la eficiencia de las empresas ganaderas.

Nagatani, S. (1998), señala que: se observó que diferentes estímulos ambientales y la nutrición son considerados entre los factores más importantes para regular la función reproductiva de los animales, por lo que posiblemente los porcentajes de fertilidad obtenidos en el estudio, aun cuando no son bajos, pudieron haber estado influidos por el genotipo de las ovejas en estudio y su interacción con el ambiente en que fueron manejadas.

Hopkins, P (1980), en un estudio realizado detectó que las ovejas mantenidas en temperaturas ambientales altas, presentaron una disminución en su comportamiento reproductivo y productivo.

Mejía, M. (2010). En su estudio menciona que: el comercio mundial de la carne de ovino, ha tenido un crecimiento sostenido en la última década, con las mejores perspectivas para América Latina y el Caribe. Países latinoamericanos como Brasil, Chile, México y Uruguay han aumentado el número de cabezas de sus rebaños, al igual que sus índices de consumo interno y exportaciones

Porras, A. (2003). Determinó que la especie ovina es poliéstrica estacional, lo que significa que su conducta reproductiva está ligada a las estaciones, específicamente al fotoperiodo, por lo tanto, se presenta un período de anestro durante una gran parte del año, afectando de esta manera la producción. Sin embargo, en Colombia como país tropical no se presenta este fenómeno tan marcado, aunque sí hay un pequeño descenso en las manifestaciones de estro durante los meses de marzo, abril y mayo.

Córdova, A. (1999). Concluye que la inducción del estro y de la ovulación en ovejas consiste en el uso de métodos farmacológicos efectivos y fácilmente aplicables, mientras que Quintero, J. (2007), que la sincronización permite manipular la fisiología reproductiva de las hembras ovinas, permitiendo la implementación de programas reproductivos que permiten optimizar la producción y reproducción.

Mejía, M. (2010), manifiesta que: se hace necesario diferenciar el término sincronización, de inducción; ya que el primero hace mención a hembras con cuerpo lúteo (CL) funcional que están ciclando, en donde se pretende homogenizar lotes de

hembras; mientras el segundo, hace referencia a las hembras que están en estro y se quiere reducir.

Abecia, J. (2012), plantea que: el objetivo de la presente revisión es describir el uso de las diferentes hormonas disponibles para el control de la reproducción en hembras ovinas, muy especialmente de los progestágenos, prostaglandinas, hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) y gonadotropina coriónica equina (eCG). Aunque esta metodología ha sido definida para el uso en hembras, debe ser prerequisite que en todos los casos en que se controla farmacéuticamente la reproducción, esta debe ir acompañada de estudios previos de fertilidad de los machos a ser introducidos.

2.2 Marco conceptual

Fármacos hormonales utilizados en reproducción de hembras ovinas

En las últimas décadas la reproducción en pequeños rumiantes puede ser controlada por diversos protocolos de sincronización. Algunos de estos métodos involucran la administración de hormonas que modifican la cadena de eventos durante el ciclo estral (Villa, M. 2010).

En los protocolos de sincronización son usados la progesterona o sus análogos, entre los cuales los más usados son los progestágenos, los cuales imitan la función del cuerpo lúteo (CL). Por otra parte, el uso de las prostaglandinas es una alternativa para controlar la reproducción eliminando el CL e induciendo una subsecuente fase folicular acompañada de ovulación (Villa, M. 2010).

Martin, G. (2004), recomienda que: el conocimiento de la fisiología reproductiva de las hembras ovinas, las hormonas de interés reproductivo, los dispositivos y protocolos utilizados para la sincronización del estro y de la ovulación, son de gran importancia para el mejoramiento genético de la ovinocultura. Se hace necesario que a partir del conocimiento teórico, se inicien investigaciones que determinen cuál o cuáles son los protocolos más efectivos en los sistemas productivos, condiciones medioambientales, sanitarias, y recursos genéticos. No obstante, la utilización de

recursos como la bioestimulación (por ejemplo, los efectos estimulantes en las características reproductivas de las hembras; tales como el inicio de la pubertad; expresión del estro y ovulación, que son inducidas por la presencia del macho), lo cual reemplaza las hormonas exógenas y medicamentos para mejorar la productividad en ovinos y caprinos, debe ser considerada a futuro.

Hormonas gonadotrópicas

Las hormonas foliculoestimulante (FSH) y luteinizante (LH) son glicoproteínas producidas y liberadas por la hipófisis anterior, de donde se vierten al torrente sanguíneo para así alcanzar sus órganos blanco, las gónadas. Ambas hormonas, favorecen la maduración gonadal y la esteroidogénesis, capacitando al organismo para que se pueda reproducir. La FSH, en la hembra, actúa sobre los folículos en los que se encuentran los óvulos en desarrollo, produciendo su crecimiento además de iniciar la secreción de la hormona sexual femenina, el estrógeno, que al alcanzar determinados niveles, inhibe la secreción hipofisiaria de la FSH (Albanese, C. 1996).

La hormona luteinizante (LH) produce la ruptura del folículo y así se produce la ovulación y el folículo que nutrió por algún tiempo al óvulo, por efecto de esta hormona, crece y da origen al cuerpo lúteo, mismo que empieza a secretar progesterona, hormona indispensable en la preñez. Si el óvulo no se fecundó, el cuerpo lúteo entra en un proceso de regresión gradualmente y deja de secretar progesterona y se inicia otro nuevo ciclo sexual (Figueiredo, R. 1997).

Hormona liberadora de gonadotropinas, GnRH

La GnRH con un peso molecular de 1570,4 es la hormona hipotalámica que controla la función gonadal a través del estímulo de la síntesis y la secreción de las gonadotropinas hipofisarias, hormona folículo estimulante (FSH) y luteinizante (LH). Su biosíntesis tiene lugar en pequeñas neuronas bipolares y fusiformes, diseminadas por el hipotálamo. Envían sus axones a la eminencia media para el control de las células gonadotropas hipofisarias. La hormona se forma a partir de una pre-hormona de 92 Aminoácidos (aa), sobre la que actúan dos enzimas convertasas

hasta conseguir la GnRH de 10 aa y otros péptidos inactivos. El gen para el GnRH1 se localiza en el brazo corto del cromosoma 8. Un segundo gen (GnRH2) codifica otro decapeptido en neuronas del cerebro medio y extra cerebral que actúa como neurotransmisor. La GnRH liberada en la eminencia media llega a la adenohipófisis y estimula la síntesis y la secreción de FSH y de LH en las células gonadotropas, uniéndose a receptores de membrana acoplados a la proteína G, activándose el receptor interviniendo el Ca^{++} y la PKC (Proteína Quinasa C) (Laird, J. 1972).

Gonadorelina

La gonadorelina es el análogo sintético de la GnRH, la hormona natural secretada por el hipotálamo, y que a nivel de la hipófisis estimula la síntesis y la liberación de las gonadotropinas: la hormona folículo estimulante (FSH) y la hormona luteinizante (LH). La FSH estimula la formación y el crecimiento folicular y la LH es la hormona responsable de la maduración de dicho folículo y finalmente de la ovulación (Laird, J. 1972).

La administración de la dosis intramuscular dentro del rango recomendado causa un aumento inmediato y sustancial de los niveles de LH y FSH en plasma. Los picos de LH se encuentran dentro del rango fisiológico preovulatorio. Después de la administración intramuscular, la gonadorelina se absorbe rápidamente en el punto de inyección, y su semivida plasmática es de aproximadamente 20 minutos (Figueiredo, R. 1997).

La gonadorelina se distribuye sobre todo en la hipófisis, en los ovarios, en el hígado y en el riñón, el plasma se distribuye en menor proporción, debido a la baja unión a proteínas plasmáticas. Se metaboliza rápidamente en péptidos inactivos y aminoácidos en varios tejidos, muy especialmente a nivel renal y hepático. Las vías principales de excreción son la urinaria y la respiratoria (Albanese, C. 1996).

Agonistas GnRH

Un grupo de drogas relativamente nuevas en medicina veterinaria y es muy reciente su uso, al punto tal que aún no están autorizadas en varios países. Los Agonistas GnRH sintéticos son: Nafarelina, Deslorelina, Buserelina, Gonadorelina, Goserelina y Leuprolide. Su acción estimula la liberación de GnRh, elevando la producción de gonadotropinas. Este incremento luego de un corto periodo de estimulación de actividad ovárica inhibe, por retroalimentación la producción de Gonadotrofinas al saturar los receptores GnRH de la Hipófisis anterior. A efectos de lograr un estímulo sostenido la forma de administración es en preparaciones Depot, o bomba osmótica o implantes de liberación lenta. No se han descrito, hasta el momento efectos secundarios indeseables ni alteraciones de la reproducción luego de cesado el efecto (Albanese, C. 1996).

Progesterona (P4)

La progesterona (P4) es una hormona esteroidal que se produce en los ovarios, glándulas adrenales, placenta y luego de la ovulación en el cuerpo lúteo (CL). Como funciones reproductivas de la P4 se pueden citar: estimular el instinto materno; la implantación embrionaria y el mantenimiento de la preñez. Antes de la ovulación, junto a los estrógenos participa en la manifestación externa del estro. La influencia de la P4 es importante para el sistema reproductivo donde ejerce una retroalimentación negativa en el eje hipotalámico-hipofisiario-ovárico disminuyendo la frecuencia y aumentando la amplitud de los pulsos de hormona luteinizante (LH), suprimiendo el crecimiento folicular y bloqueando la ovulación, por actuar directamente en el ovario e inhibir el folículo dominante (Uribe, L. 2008).

Los métodos de sincronización del estro y de la ovulación que utilizan P4 o sus análogos (progestágenos), se basan en sus efectos sobre la fase lútea del ciclo, simulando la acción de la progesterona natural producida en el CL después de la ovulación la cual es responsable de inhibir la GnRH (Hormona Liberadora de Gonadotropina) y consecuentemente también la LH (Hormona Luteinizante) y la FSH (Hormona Folículo Estimulante) (Mejía, M. 2010).

Por lo tanto, controla la vida del CL y las concentraciones circulantes de P4 permitiendo la regulación del ciclo estral y de la ovulación. La sincronización con P4 provoca que en el primer estro después del tratamiento se presente una menor tasa de fertilidad. Uribe. L., (2008), al promover la persistencia del folículo dominante con la consecuente ovulación de ovocitos envejecidos y menos fértiles (Abecia, J. 2002).

El uso de los progestágenos es el método artificial más sencillo para inducir la conducta estral y la ovulación en las ovejas, puesto que imita la presencia de un CL de un ciclo estral natural Aunque debido a alteraciones en los patrones de liberación de LH, la calidad de la ovulación, el bienestar animal y en la salud pública, se está cuestionando su uso y se estudian protocolos más cortos, con menos dosis y dispositivos de liberación más efectivos (Mejía, M. 2010).

Los progestágenos más utilizados comercialmente son: el acetato de fluorogestona (FGA) siendo utilizado entre 20 y 40 mg por esponja, y el acetato de medroxiprogesterona (MPA) con 60 mg por esponja, los cuales han sido eficaces inhibidores del ciclo estral (Mejía, M. 2010).

Prostaglandina (PGF₂α)

La prostaglandina F₂α en forma natural es secretada por el endometrio y su función principal es la de inducir la regresión del CL entre 15 y 20 horas después de su aplicación. Por ello, la administración de PGF₂α, ya sea natural o sintética como el cloprostenol, dinoprost y prostianol, que sean aplicados en la mitad o el final de la fase lútea (día 3 al 14) del ciclo estral, provocarán que la fase lútea se acorte, disminuyendo el riego sanguíneo al CL ocasionando así su lisis. Además de predisponer a ovejas cíclicas a mostrar comportamiento sexual (Kermani, N. 2012), activando los centros de comportamiento del estro (Uribe, L. (2008).

La PGF₂α es una alternativa para la sincronización del estro y de la ovulación provocando que permanezcan folículos dominantes, durante la temporada reproductiva Tondello, L., (2010). Las prostaglandinas además inducen una caída en la secreción de P4 (Uribe, L. (2008).

La ventaja más notable en el tratamiento con PGF2 α es la vía de administración intramuscular, lo que conlleva a una mejora en el manejo, sanidad y bienestar de las hembras ovinas. Un inconveniente que presenta el uso de PGF2 α es la necesidad de la existencia de un CL, por lo tanto, hembras que estén en fase lútea temprana o fase folicular, serán refractarias al tratamiento. Conociendo la dificultad para determinar con exactitud la fase del ciclo estral de un grupo de hembras, se hace necesaria la aplicación de dos dosis de PGF2 α con intervalos de 9 o 10 días u 11 o 12 días de diferencia (Mejía, M. 2010).

Abecia, J. (2011), manifiesta que: en la aplicación de la segunda dosis, la mayoría de hembras estarán en la mitad de la fase lútea, por lo que el tratamiento será exitoso. Este protocolo es eficaz para la sincronización del estro, pero la fertilidad es del 70% Abecia, J. (2012), señala que: por lo que se recomienda utilizar el estro siguiente para la monta. La tasa de preñez con este protocolo en inseminación artificial a término fijo (IATF) es baja (Olivera, J. 2011).

Sin embargo, un tratamiento con PG con 7 o 9 días de diferencia favorece la sincronización de la ovulación, mejorando la maduración de los folículos y aumentando de esta manera la fertilidad, pudiéndose incluso utilizar en protocolos de reproducción asistida en hembras ovinas y en asocio con progestágenos (Uribe, L. 2008).

Folículo

Es un pequeño elemento en forma de bolsa en la cual el ovocito es almacenado hasta su maduración y su liberación. Desde la pubertad, los folículos ováricos se forman en gran número a nivel de los ovarios, pero su maduración está bloqueada. En cada ciclo, ciertos ovocitos se desarrollan, y uno solo será liberado a nivel de la parte inicial de la trompa: este folículo se llama folículo de Graaf o folículo maduro. El folículo ovárico aumenta de tamaño al comienzo del ciclo y después se abre para liberar el óvulo que está listo para ser fecundado: a este proceso se le llama ovulación (Peralta, J. 2007).

Cuerpo Lúteo

Es una glándula situada en un folículo, la zona del ovario que alberga el óvulo. Su principal función es la secreción de progesterona que prepara al útero para el inicio y mantenimiento de la gestación. El cuerpo lúteo se forma a partir de la pared del folículo ovulatorio, que se destruye y se pliega después de la ovulación. La ruptura del folículo conduce a una degradación de los tejidos que rodean la granulosa, sobre todo la membrana propia y a la liberación de la sangre de los vasos hacia el interior de la cavidad. En la mayoría de especies domésticas, el cuerpo lúteo produce una cantidad significativa de progesterona en las primeras 24 horas después de la ovulación (Córdova, A. 2008).

Citología vaginal

La citología vaginal es un método complementario económico y de simple realización, orientativa para determinar en qué etapa del ciclo estral se encuentra la oveja. Otras utilidades incluyen la predicción de la fecha probable de parto, ayuda en la determinación de problemas de infertilidad, diagnóstico de vaginitis, tumores vaginales, piómetra y metritis aguda, y orientación para la utilización de anticonceptivos en el momento adecuado del ciclo (Camacho, J. 2008).

El principio de la citología vaginal exfoliativa se basa en determinar el tipo y cantidad de células de las diferentes etapas del ciclo estral ya que los cambios hormonales que sufre la mucosa vaginal durante el ciclo estral, se reflejan en la morfología de sus células epiteliales. Al inicio del ciclo, la célula epitelial está en contacto con la irrigación sanguínea conforme los niveles de estrógenos se incrementan el epitelio vaginal se va engrosando ocasionando que la célula epitelial se vaya separando del aporte sanguíneo dando como resultado una transformación celular que va de célula parabasal, anucleada o escamosa (Bozkurt, M. 2006).

- **Célula parabasal:** Es una célula de forma oval o redonda con núcleo aparente y pequeña cantidad de citoplasma. Esta célula se desprende de la capa de células germinales cercana a los vasos sanguíneos y predomina en el anestro y principios del proestro (Bozkurt, M. 2006).

- **Célula intermedia:** Es una célula grande de bordes irregulares con núcleo más pequeño o más grande que la parabasal pero con mayor cantidad de citoplasma. La presencia de esta célula indica la etapa anterior a su transformación a superficial, predomina a la mitad del proestro (Bozkurt, M. 2006).
- **Célula superficial:** Es una célula de bordes angulosos, con núcleo de menor tamaño que las anteriores. Es característica del final del proestro y todo el estro, que es cuando la vagina se encuentra bajo la influencia del pico estrogénico (Bozkurt, M. 2006).
- **Célula anucleada:** También se le conoce como escama, es una célula, sin núcleo, de bordes angulosos e irregulares que predomina en el estro y marca el final del proceso de descamación de la célula parabasal (Bozkurt, M. 2006).

Estrógenos

Los estrógenos son derivados químicos del ciclopentanoperhidrofenantreno, esteroides formados por tres anillos ciclohexanos (A,B,C), y un anillo de ciclo pentano (D). Tienen 18 átomos de carbono (C). De los estrógenos naturales, el más potente es el 17 betaestradiol, que es a su vez el principal producto de la secreción endócrina del ovario. El estradiol tiene 3 dobles ligaduras en el anillo A, un OH en C3, y otro OH en C 17, en posición beta. La estrona, es un producto de oxidación del estradiol, incorporando una función cetona en C 17. El estriol, es una consecuencia de la hidratación del estradiol, ya que posee un OH adicional en C 16. Estos 3 agentes son hormonas naturales (Avendaño, L. 2007).

Estradiol

Es una hormona que se produce del colesterol que es sintetizado por las células de la granulosa ovárica a partir de la androstenediona y la testosterona, precursores ováricos del estradiol. La reacción es catalizada por un complejo de monooxigenasas (aromatasa) que emplea NADPH y O₂ como co-sustratos. También es esencial una flavoproteína y la NADPHcitocromo P450 reductasa. La actividad de la aromatasa es

inducida por las gonadotrofinas que también inducen la síntesis de otras enzimas que intervienen en el proceso biosintético (Bozkurt, M. 2006).

2.2.1 Variable independiente

Hormonas liberadoras de gonadotropinas:

Gonadorelina y Buserelina; son hormonas sintéticas derivadas de GnRH, las cuales se basan en provocar una estimulación y sincronización del crecimiento folicular, al inducir la ovulación de los folículos de mayor diámetro con ovocitos competentes y la posterior formación de uno o varios CL funcionales. El fundamento fisiológico se demuestra en la posibilidad de inducir la ovulación de los folículos que se presentan en ondas de crecimiento durante los primeros días PF (Post-Fecundacion), a fin de generar CL accesorios que puedan incrementar las concentraciones de P4 endócrina (Thatcher *et al.*, 2001).

2.2.2 Variable dependiente

- Cinética folicular.

La cinética folicular se caracteriza por la presencia de ondas foliculares que presentan un crecimiento sincrónico de un grupo de folículos (emergencia), que inicialmente, aumenta en tamaño durante una fase de crecimiento común y subsecuentemente, se diferencia en un solo folículo dominante que continúa creciendo, al mismo tiempo que, múltiples folículos subordinados cesan el crecimiento durante una fase estática (Peter, A. 2009).

- Niveles de estrógenos.

Los niveles de estrógenos presentes en sangre son los encargados de determinar las concentraciones séricas de estradiol, tales concentraciones se ven reflejadas en el crecimiento del folículo (s) en cada ola, éstas tienen un

aumento significativo que ocurre alrededor del final del crecimiento folicular (Burns, D. 2005)

– Citología Vaginal.

Es un método de diagnóstico común, en el cual se realiza un hisopado vaginal de la siguiente manera: separando los labios de la vulva e introduciendo un espejo lubricado con el fin de localizar la zona situada entre la entrada del cérvix y la vagina introduciendo un hisopo de algodón estéril en un ángulo de 45 grados en la pared vaginal con el fin de extraer las células que se desprenden de manera natural. Posteriormente se retira el hisopo e inmediatamente se realiza un frotis trazando dos líneas paralelas sobre un portaobjetos impregnando las células en la superficie de acuerdo a la metodología realizada por Ola, B. (2006).

– Tasa de preñez.

Este índice es el que refleja en forma objetiva la velocidad con que se preñan las ovejas (Capitaine, A. 2002).

2.2.3 Unidad de análisis

Ovejas Raza 4M

CAPITULO III

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

3.1 Hipótesis

H0: El uso de diferentes hormonas liberadoras de gonadotropinas estimula de manera similar el desarrollo y crecimiento folicular.

3.2 Objetivos

3.2.1 Objetivo general

- Analizar la cinética folicular, en ovejas sincronizadas con diferentes tipos de hormonas liberadoras de gonadotropinas.

3.2.2 Objetivos específicos

- Determinar los efectos de la Gonadorelina y Buserelina sobre el desarrollo folicular en ovejas.
- Evaluar la expresión de celo y porcentaje de preñez durante el uso de tratamientos hormonales.
- Analizar el tamaño del folículo pre ovulatorio con niveles de estrógeno sanguíneo en ovejas sincronizadas con diferentes tipos de gonadotropinas.

CAPITULO IV

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Ubicación del experimento

El proyecto se lo desarrollara en los predios de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato, sector Querochaca, ubicada en el cantón Cevallos de la provincia de Tungurahua, con una latitud de $1^{\circ} 22'08''$, longitud $78^{\circ} 36'22''$ y una altitud de 2890 msnm.



Figura 1. Ubicación del experimento

4.2 Características del lugar

Clima: Según el Registro de Observaciones Meteorológicas de la Estación Querochaca 2015, el sector tiene las siguientes características: temperatura media de 13.4°C , precipitación de 699.2 mm/año, humedad relativa del 77%, evaporación de 17 1095.7 mm/año, heliofanía de 129.3 horas/mes, velocidad del viento de 18.1 Km/h y nubosidad de 7 octas.

Agua: Junta de Agua de Riego 2010, la propiedad cuenta con el agua del canal Ambato – Huachi – Pelileo que tiene un pH de 7.4, temperatura 14°C , y el caudal de

9.0 l/ sg, la frecuencia de turno son los días martes de cada semana y el tiempo de turno es de ocho horas. El agua es conducida a un reservorio, para ser distribuida en la propiedad mediante el método de riego a goteo en caso de los cultivos.

El Centro Panamericano de Estudios e Investigaciones Geográficas (1997), en su publicación manifiesta que el cantón Cevallos se ubica en el bosque seco Montano Bajo. Se caracteriza por ser un valle estrecho, y corresponde a una zona sub-húmeda (transición a húmedo).

4.3 Equipos y materiales

A continuación en la tabla 1 se detalla los equipos y materiales que fueron utilizados para cada uno de los tratamientos.

Tabla 1. Equipos y materiales utilizados en el experimento

EQUIPOS	DETALLE Y CARACTERISTICAS
Ecógrafo	Marca SIUI CTS-900V
Fonendoscopio	Marca Riester Duplex
Microscopio	Binocular Basico Marca Motic Modelo Ba-210 Led
Porta objetos	Marca Microscope Slides
Cubre objetos	Cover Glass
Corrales	1 m Altura 2.50 Largo 1.25 Ancho
Comederos	Plástico
Bebederos	Plástico
12 ovejas	Raza 4M
Balanza	Marca T-Scale 100 Kg
Termómetro	Termómetro Rectal Marca Dobin
Reactivos	Eosina
Hormona GNRH	
Gonadorelina	Fertagyl
Buserelina	Conceptase
Gel	Marca ALCOGEL
PGF2 alfa D-Cloprostenol	PROSTAL Casa Comercial Over
Aretes	
Agujas de calibre 21	Marca NIPRO
Jeringas 5ml	Marca NIPRO
Jeringas 3ml	Marca NIPRO
Algodón	Marca Sana
Alcohol	Marca Sanicol 1 Litro
Tubos vacutainer	Marca Becton Dickinson Capacidad 5ml

4.4 Factores en estudio

Los factores de estudio que fueron analizados en el presente estudio son:

- 12 Ovejas raza 4M Marin Maguellan Meat Merino edad aproximada 2-4 años.
- Análogos de GnRH: Buserelina Gonadorelina, dividiendo los tratamientos en dos grupos de 6 animales por grupo.
 - Primer Grupo; Buserelina en el día 0, D-cloprostenol en el día 7 y Buserelina en el día 9.
 - Segundo Grupo; Gonadorelina en el día 0, D-cloprostenol en el día 6 y Gonadorelina en el día 9.
- Estrógenos: 17β -Estradiol mediante exámenes sanguíneos, la toma de muestra de sangre se realizó 24 h después de la aplicación de prostaglandinas. La segunda toma de muestra de sangre se realizó en día 10 del tratamiento.
- Cinética Folicular registrada mediante ecografía rectal realizada diariamente.
- Citología Vaginal realizada el día de monta e interpretada microscópicamente mediante observación.

4.5 Tratamientos

Todos los animales recibieron dos dosis de prostaglandinas a intervalos de 7 días antes del inicio del experimento, para que todos los animales inicien la fase experimental en un mismo día del ciclo. Aquellos animales que presentaron celo después de la primera dosis recibieron el tratamiento experimental. Todos los animales recibieron el tratamiento experimental el día 3 del ciclo estral.

En la tabla 2, se muestra el tratamiento de prostaglandinas aplicados en las ovejas 4M previo a la fase experimental

Tabla 2. Tratamientos a base de prostaglandinas aplicadas a todos los animales antes del inicio del experimento

PRIMERA DOSIS		DIA 3	SEGUNDA DOSIS	DIA 3
12 OVEJAS	Prostaglandinas 2ml	Inicio de tratamiento, en ovejas que presentaron celo	Prostaglandinas 2ml	inicio de tratamiento, en ovejas restantes que presentaron celo

Después a las 48 a 72 horas: cuando las ovejas presentaron el celo fueron divididas en dos grupos de seis animales por tratamiento. Los tratamientos se detallan a continuación en las tablas 3 y 4:

Tabla 3. Tratamiento 1 (T1)

DIA 0	DIA 7	DIA 9	DIA 10
GnRH (Buserelina) (1.25ml)	PGF2 α (150 μ g)	GnRH (Buserelina) (1.25ml)	SERVICIO

Tabla 4. Tratamiento 2 (T2)

DIA 0	DIA 6	DIA 9	DIA 10
GnRH (Gonadorelina) (1.25 ml)	PGF2 α (150 μ g)	GnRH (Gonadorelina) (1.25 ml)	SERVICIO

4.6 Diseño experimental

Los datos obtenidos se sometieron a un análisis de T-student y la comparación de medias se realizó mediante la prueba de Tukey con un nivel de significancia del 95%. Finalmente se realizó un estudio de correlación entre tamaño folicular y niveles de estrógenos.

4.7 Variables de respuesta

Una vez obtenidos los exámenes sanguíneos de rutina para determinar el estado de salud de las ovejas (ANEXO 1), en el cual los animales no presentaron ningún tipo de patología que hubiese sido factor determinante para excluirlos del experimento, haber realizado un pre-tratamiento con

prostaglandinas una semana antes para asegurar que todos los individuos sometidos a los tratamientos inicien el estro de una manera sincronizada.

Además se procedió a someter a los animales a un periodo de adaptación sobre la dieta utilizada que consistió en una ración totalmente mezclada basada en los requerimientos nutricionales de los animales (NRC, 1993) (tabla 5), comprobando así que esta no produjera efectos indeseables sobre el tracto gastro intestinal y evitar imprevistos, por último se ejecutó el periodo experimental.

Tabla 5. Dieta suministrada a las ovejas durante la fase experimental (NRC, 1993).

PRODUCTO	Cantidad (%)	Aporte			
		PC (%)	Energía Kcal/kg	Ca (g)	P (g)
Grano de quinua	14	1,988	214,2	0,00658	0,06398
Palmiste	22,5	1,8	630	0,8325	1,4175
Hna. de pescado	2,5	1,475	67,375	0,3875	0,375
Melaza	6	0	468	0	0
Ray grass	24	1,2	456,96	1,224	0,0456
Alfalfa	29	5,22	589,135	4,959	0,1827
Fosfato monocalcico	1	0		1,7	2,2
Minerales	1	0		0,237	0,18
TOTAL	100	11,683	2425,67	1,5	4,5

Aplicación de tratamientos

Posteriormente se esperó de 24 a 48 horas tiempo en el cual las ovejas presentaron celo y este evento se consideró el día 0 para la aplicación posterior de los tratamientos dividiendo a las ovejas en dos grupos de seis cada uno en el cual:

- Al grupo uno en el día cero se aplicó un análogo de GnRH (Buserelina) en una dosis de 1.25 ml y a continuación en el día siete se aplicó una dosis de 2ml de prostaglandina F2 α a base de D-Cloprostenol y finalmente en el día noveno se repitió la dosis de Buserelina antes mencionada.
- Al grupo dos en el día cero se aplicó un análogo de GnRH (Gonadorelina) en una dosis de 1.25ml y a continuación en el día seis se aplicó una dosis de 2ml

de prostaglandina F2 α a base de D-Cloprostenol finalmente en el día noveno se repitió la dosis de Gonadorelina antes mencionada.

Cinética Folicular (Ecografías ováricas)

- Se realizó ecografías ováricas diarias antes que los animales fueran alimentados, utilizando un ecógrafo de uso veterinario de la marca SIUI CTS-900V con transductor lineal con una frecuencia de 7.5 MHZ acoplado a un mango rígido para facilitar la introducción rectal.
- Para el registro del crecimiento folicular se utilizó formatos gráficos acondicionados para esta actividad (ANEXO 2).

Expresión de Celo (Citología Vaginal)

- En el día 10 de todos los tratamientos y que coincidió con el momento de la monta se procedió a realizar un hisopado vaginal separando los labios de la vulva e introduciendo un espejulo lubricado con el fin de localizar la zona situada entre la entrada del cérvix y la vagina introduciendo un hisopo de algodón estéril en un ángulo de 45 grados en la pared vaginal con el fin de extraer las células que se desprenden de manera natural. Posteriormente se retiró el hisopo e inmediatamente se realizó un frotis trazando dos líneas paralelas sobre un portaobjetos impregnando las células en la superficie de acuerdo a la metodología realizada por Ola, B. (2006).
- La fijación celular se efectuó sumergiendo el portaobjetos en alcohol al 95% durante 10 min y secando a temperatura ambiente. Las células se tiñeron con Hematoxilina-Eosina Raposo, R. (1999).
- Luego se procedió a observar e identificar el tipo de células observadas en el cual las células epiteliales fueron clasificadas de acuerdo al criterio de Grunert en parabasales, intermedias y superficiales (Schutte, 1967).

Niveles de Estrógenos (17 β -estradiol)

- Para realizar la toma de la muestra de sangre se sujetó al ovino utilizando el método de sujeción por la barbilla, una vez inmovilizado se procedió a localizar la vena yugular externa en la tabla del cuello del mismo. Posteriormente se afeitó la lana de la fosa yugular aproximadamente hacia la mitad del cuello limpiando el área con torundas de algodón con alcohol. Después se procedió a tensar los músculos del cuello moviendo hacia un costado la cabeza, esto permitió localizar los vasos sanguíneos. Se introdujo la aguja de la jeringa haciendo un ángulo aproximado de 15-20°, extrayendo el embolo de la misma lentamente para no hacer un vacío violento. Las agujas utilizadas fueron de un calibre número 21.
- Se tomó 3ml de sangre de cada ovino, la cual se depositó en un tubo vacutainer sin anticoagulante. Las muestras identificadas adecuadamente se remitieron inmediatamente al laboratorio para la determinación de los niveles de estrógenos presentes en sangre principalmente el 17- β -estradiol.

Porcentaje de preñez

- Se determinó mediante ecografías ováricas antes que los animales fueran alimentados, a los 45 días posteriores de dar servicio a las ovejas, para poder observar estructuras embrionarias que determinen la preñez. Utilizando un ecógrafo de uso veterinario de la marca SIUI CTS-900V con transductor lineal con una frecuencia de 7.5 MHZ acoplado a un mango rígido para facilitar la introducción rectal.

4.8 Procesamiento de la información

Los datos obtenidos del estudio y de las variables se analizaron utilizando el programa estadístico SPSS.v23 2016.

CAPÍTULO V

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 6, se observa los cambios diarios del crecimiento folicular, comparados entre los tratamientos (T1: Buserelina; T2: Gonadorelina), durante todo el periodo experimental. En la cual, se evidenció que no existió un efecto significativo ($p=0.146$) entre hormonas Buserelina y Gonadorelina sobre el desarrollo folicular al final de los tratamientos, mostrando diámetros de 0.282 mm y 0.286 mm respectivamente.

Tabla 6. Crecimiento folicular diario en ovejas sincronizadas con diferentes tipos de gonadotropinas

Tratamiento Día	TAMAÑO FOLICULAR (mm)			EEM
	T1 (Buserelina)	T2(Gonadorelina)		
0	0.080 ^a	0.124 ^b	<0.010 **	0.02074
1	0.100 ^a	0.124 ^b	<0.040*	0.01789
2	0.126	0.146	0.459	0.2638
3	0.144	0.126	0.328	0.2926
4	0.172	0.152	0.764	0.2083
5	0.200 ^a	0.206 ^b	<0.039*	0.1030
6	0.228	0.234	0.380	0.1030
7	0.256	0.254	0.649	0.1503
8	0.282	0.286	0.329	0.0146

^{a,b}, Medias con diferentes literales entre columnas difieren significativamente

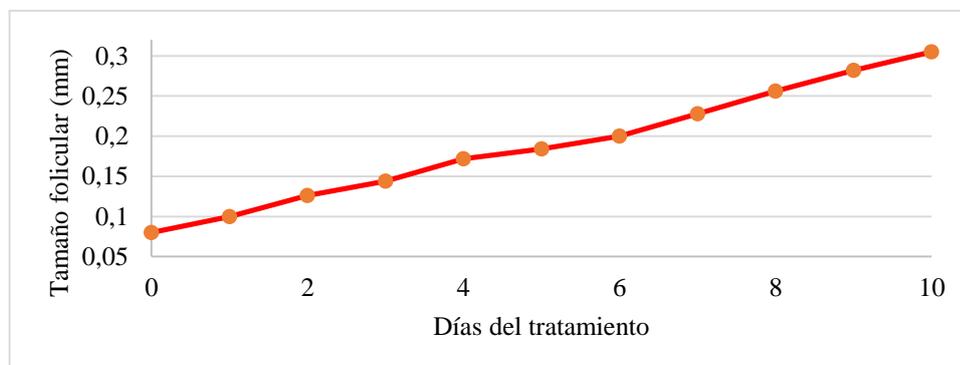
**En el día 0 del tratamiento existe una diferencia estadística de alta significancia

*En los días 1 y 5 del tratamiento existe una diferencia estadística significativa

En este sentido, González de Buines y Veiga Lopez, 2008 manifiestan que existe un control dual del folículo dominante sobre el desarrollo de los folículos pequeños, actuando no solo a través de la FSH (vía inhibina y estrógenos) sino también ejerciendo cierto bloqueo local en el mismo ovario sobre el desarrollo de los folículos pequeños; dicho mecanismo de control pudo verse reflejado en este trabajo. La cinética de crecimiento folicular diaria de ovejas tratadas con Buserelina (T1), y medido mediante ecografía trans rectal (7.5 MHz) se observa en el gráfico 1,

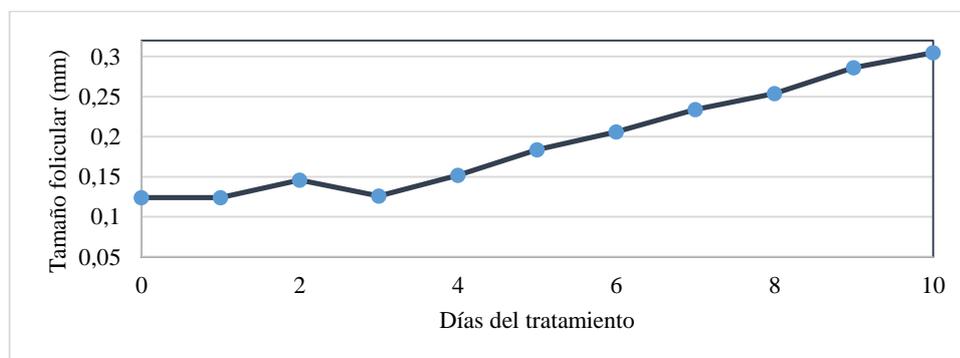
considerando el tamaño inicial que fue de 0.08 mm en promedio, y finalizó con un tamaño de 0.28 mm en el último día de tratamiento.

Gráfico 1. Cinética folicular diaria en ovejas tratadas con buserelina



Por otra parte, en el gráfico 2 se observa la cinética de crecimiento folicular en las ovejas tratadas con (T2), en el cual el día 0 del periodo experimental se identificó un tamaño folicular promedio de 0.12mm que difirió estadísticamente ($P=0.010$) con T1, al inicio del tratamiento.

Gráfico 2. Cinética folicular diaria de ovejas tratadas con gonadorelina



Durante la sincronización del estro, el hecho de que las hembras se encontraran en diferentes fases del ciclo estral influyó en la respuesta de los tratamientos aplicados. En este sentido cuando se aplicó Buserelina se observó un crecimiento folicular inmediatamente al iniciar el tratamiento con esta hormona. Caso contrario se identificó durante la presencia de un folículo subordinado mayor ($T2= 0,12\text{mm}$) al momento de inicio del tratamiento que generó un recambio folicular a los 3 días post aplicación utilizando 1,25 ml de esta hormona. Dicho comportamiento ha sido

reportado por Bó (1995) utilizando progestágenos en combinación con estradiol en bovinos, donde se reporta que la emergencia de onda se observa a los 4.3 días, en la cual la presencia de un folículo dominante posee un efecto supresor sobre el recambio folicular.

En este mismo sentido, Bartlewski et al., (1999), mencionan que naturalmente el recambio folicular se da de 3 a 6 días, dependiendo del tamaño del folículo al inicio del tratamiento, por lo que el recambio folicular puede tardar o iniciarse de manera temprana.

En consecuencia, durante el estudio del desarrollo folicular en el periodo experimental entre tratamientos de Buserelina y Gonadorelina, se evidenció un efecto dependiente del tamaño folicular al inicio del tratamiento sobre el surgimiento de una nueva oleada folicular y más no del tipo de análogo de GnRH utilizado. Además, la diferencia de días observada en el recambio folicular puede estar asociada a que el folículo dominante evita su propia regresión cambiando su dependencia de FSH a LH, procesos conocidos como retroalimentación. En lo que se refiere a los niveles de estrógenos (E2), tabla 7, entre grupos tratados con diferentes gonadotropinas. Los resultados se reportan al día 7 y 10 del tratamiento.

Tabla 7. Niveles de estrógenos medidos en diferentes momentos de los tratamientos aplicados

	Niveles de E ₂ (pmol/l) 24 h post aplicación de PGF _{2α}	Niveles de E ₂ (pmol/l) 24 h post aplicación de la última dosis de GnRH	P	EEM
T1* (Buserelina)	310.370	302.886	0.089	27.315
T2** (Gonadorelina)	222.358	295.848	0.472	79.594

* T1: Tratamiento 0: GnRH - 7: PGF2 - 9: GnRH

** T2: Tratamiento 0: GnRH - 6: PGF2 - 9: GnRH

En la primera extracción de muestra sanguínea realizada a las 24 horas post aplicación de prostaglandina en T1 y T2 (día 8 y 7 respectivamente) se obtuvo como resultado un valor de 310.37 pmol/l de 17-β-estradiol en sangre en T1, siendo superior numéricamente a T2 (222.35 pmol/l). Del mismo modo en la segunda extracción de muestra sanguínea realizada a las 24 horas post aplicación de GnRH (día 10 en T1 y T2) los resultados mostraron un valor numérico superior en T1

(302.88 pmol/l) comparados con T2 (295.84 pmol/l) aunque esta diferencia no fue significativa estadísticamente.

Las concentraciones de 17- β -estradiol al final de los tratamientos, fueron superiores numéricamente en T1 posiblemente a que este grupo de animales contó con un intervalo de tiempo superior entre la primera dosis de GnRH y la PGF2 α , lo que se relacionaría con un mayor tiempo para la síntesis de E₂, en este sentido, Bartlewski PM et al., (2000), exponen que al final de la fase lútea, la frecuencia de pulso LH puede estimular la producción de estrógeno por el folículo ovulatorio. Por lo que en el presente trabajo T1 tuvo una mayor fase lútea en comparación a T2. Además existió diferencias significativas (p=0.010) en el diámetro folicular al inicio del tratamiento.

Sin embargo al final del tratamiento no se encontró diferencias significativas en los niveles de E₂ entre T1 y T2 posiblemente porque en T2 la presencia de un folículo de mayor tamaño al inicio del tratamiento retardo el recambio folicular. Finalmente, a pesar que no se observó significancia entre los niveles de estrógenos se evidencio diferencias entre porcentajes de preñez.

Baird, J. (1986), Manifiestan que el estradiol posee efectos reguladores agudos en el suero en las concentraciones de FSH en la oveja ya que estas son necesarias para el desarrollo de grandes folículos antrales, cuando la concentración de progesterona cae al final de la fase lútea, el aumento de la secreción de LH estimula el aumento progresivo de la secreción de estradiol que se produce durante la fase folicular y determinará el número de folículos ovulatorios. Este proceso parece no ser afectado por el uso de diferentes tipos de gonadotropinas. En cuanto tiene que ver con el porcentaje de polimorfos nucleares encontrados durante las citologías vaginales no se detectaron diferencias significativas al comparar los dos tratamientos (Tabla 8).

Tabla 8. Porcentaje de polimorfos nucleares encontrados en la citología vaginal

	T1	T2	P	EEM
%PMN	86,20	92,00	0.338	1,581

PMN: polimorfos nucleares. T1 (Buserelina). T2 (Gonadorelina)

En la tabla 9, se reporta el porcentaje de preñez que se obtuvo entre los tratamientos utilizados durante el periodo experimental, en el cual se encontró un porcentaje mayor de preñez en animales tratados con Gonadorelina

Tabla 9. Porcentaje de preñez de ovejas sincronizadas con diferentes tipos de gonadotropinas

Tratamientos	N°	% Preñez
T1 (Buserelina)	5	60%
T2 (Gonadorelina)	5	80%

En T1 se observó un porcentaje de preñes del 60% valor inferior a T2 (80%), estos valores podrían estar relacionados a las concentraciones plasmáticas de progesterona, las cuales pueden tener un efecto sobre la frecuencia de LH; Uribe, L (2008), tomando en cuenta que la LH es una hormona luteotrófica que interviene en la luteinización del folículo para transformarse en cuerpo lúteo, estructura encargada en la síntesis de progesterona hormona necesaria para mantener la preñez.

Los resultados encontrados en el presente trabajo sugieren utilizar unidades experimentales de mayor tamaño para poder contar con valores concluyentes.

CAPÍTULO VI

6. CONCLUSIONES, BIBLIOGRAFIA Y ANEXOS

6.1 Conclusiones

Se concluye que el tamaño del folículo al inicio del tratamiento ejerce un efecto marcado sobre una nueva onda folicular, sin importar el tipo de análogo de GnRH (buserelina y gonadorelina) que se utilice en la sincronización de ovinos. Sin afectar además las concentraciones en sangre de estradiol y posiblemente tampoco es influyente en el porcentaje de preñez.

6.2 Referencias bibliográficas

- Abecia, J. (2002): "The effect of progestagen treatment on sheep reproductive performance at different phases of the oestrus cycle. *Animal Research*, v.51, n.2, p.149-155".
- Abecia, J. (2011): "Pharmaceutical Control of Reproduction in Sheep and Goats. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*", v.27, n.1, p.67-79.
- Abecia, J. (2012): "Hormonal control of reproduction in small ruminants. *Animal Reproduction Science*", v.130, p.173-179.
- Acritopoulou, S. (1977): "Plasma progesterone and LH concentrations in ewes after injection of an analogue of prostaglandin F-2 α . *Journal Reproduction and Fertility*, v.49, p.337-340".
- Acritopoulou, S. (1980): "Response of ewes to a single injection of an analogue of PGF-2 α given at different stages of the oestrous cycle. *Journal Reproduction and Fertility*, v.58, p.219-223".
- Adams, G. (1994): "Control of ovarian follicular wave dynamics in cattle: implications for synchronization and superovulation *Theriogenology*". V. 41, p. 19-24
- Amiridis, G. (2005). Luteal stage dependence of pituitary response to gonadotrophin-releasing hormone in cyclic dairy ewes subjected to synchronization of ovulation. **Reprod. Fert. Dev.** 17:769-774.
- Albanese, C. (1996.)The gonadotrophin genes: evolution of distinct mechanisms for hormonal control. *Recent Progress in Hormone Res*; 51: 23-61.

Aust. J. Agric. Res. 31: 763-771.

Arroyo, J. (2009): “Sistemas neurales de retroalimentación durante el ciclo reproductivo anual de la oveja”: una revisión. *Interciencia* 31: 8-15.

Avendaño, L. (2007); Reproduction performance of pelibuey ewes in response to estrus synchronization and artificial insemination in Northwestern Mexico. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, v.6, n.6, p.807-812.

Baird, J. (1986). Improving the quality of teaching and learning: An Australian case study-the PEEL project. Melbourne: Monash University. The importance of reflection in improving.

Bleach E. (2004): “Association between ovarian follicle development and pregnancy rate in dairy cows undergoing spontaneous oestrous cycles. *Reproduction*”, v.127: p. 621-629.

Bozkurt, M. (2006): GNRH-PGF2 α and PGF2 α -PGF2 α synchronization in akkaraman cross-bred sheep in the breeding season. *Bull Veterinary Institute Pulawy*, v.50, p.101-104.

Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci. 36(5): 102-117. *Ciencia Veterinaria*; General Pico – La Pampa. ISSN.1515-1883. Volumen 9 – Numero 1 – 2007.

Burns DS, Jimenez-Krassel F, Ireland JL, Knight PG, Ireland JJ. Numbers of antral follicles during follicular waves in cattle: evidence for high variation amongst animals, very high repeatability in individuals, and an inverse association with serum follicle-stimulating hormone concentrations. *Biol Reprod* 2005;73:54–62.

Camacho, J. (2008): Características reproductivas de ovejas pelibuey sincronizadas e inducidas a la pubertad. *Asociación Latinoamericana de Producción Animal*, v.16, n.1, p.18-24.

- Capitaine Funes, A. 2002. Monitoreo de la eficiencia reproductiva de rodeos lecheros. Primeras jornadas Taurus de Reproducción Bovina. Buenos Aires, Argentina.
- Contreras, I. (2008): Systemic and intraovarian effects of corpus luteum on follicular dynamics during estrous cycle in hair breed sheep. **Anim. Reprod. Sci.** 104:47-55.
- Córdova, A. (1999): "Induction and synchronization of heat in creole ewes seasonal anestrus with impregnated vaginal sponge impregnated in FGA and injectable PMSG. Archivos de Zootecnia", v.48, p.437-440".
- Córdova, A. (2008): Procedimientos para aumentar el potencial reproductivo en ovejas y cabras. Revista Veterinaria, v.19, n.1, p.67-79.
- Figueiredo, R. (1997). "Ovarian follicular dynamics in Nelore breed (Bos Indicus) cattle. Theriogenology", v. 47: 1489-1504.
- Ginther, O. (1989): "Composition and characteristics of follicular waves during the bovine estrous cycle. Anim Reprod. Sci." 20:187-200.
- Gordon, R. 1997. "The Time-Varying NAIRU and Its Implications for Economic Policy," Journal of Economic Perspectives, American Economic Association, vol. 11(1), pages 11-32.
- Hernández CJ, Valencia MJ, Zarco QLA (2001) Regresión del cuerpo lúteo y presentación del estro en ovejas con dos inyecciones de prostaglandina con 8 días de intervalo. Téc. Pec. Méx. 39(1): 53-58.
- Hopkins, P. (1980): The effects of heat stress on the development of the foetal lamb.

- Kermani, N. (2012): et al. Physiology and reproductive management in sheep: Revision. Revista Eletrônica Faculdade de Montes Belos, v.1, n.1, p.79-98.
- Kuran, M. (2003) Effects of a single injection of hCG or GnRH agonist on day 12 postmating on fetal growth and reproductive performance of sheep. Vet. Méx. 80(1-2): 81-90.
- Laird, J. (1972). Levels of prostaglandins in the uterine endometrium during the ovine estrous cycle. J. Anim. Sci. 34: 93-99.
- López, M., (2014): “Monografía del ganado ovino. Dirección General Adjunta de Planeación Estratégica y Análisis Sectorial-Financiera Rural”. México, D.F. p. 3.
- Mejía, M., 2010. Effects of estradiol valerate on ovarian follicle dynamics and superovulatory response in progestin-treated cattle. Theriogenology, 63:1454:1468.
- Martinez M. (2005). “Effects of oestradiol and some of its esters on gonadotropin release and ovarian follicular dynamics in CIDR-treated beef cattle. Animal Reproduction Sciences”, v. 86: 37-52.
- Martin, G. 2004. Natural methods for increasing reproductive efficiency in small ruminants. Animal Reproduction Science, v. 82-83, p. 231-245.
- Martínez, J., (2008); en su estudio titulado: “Comportamiento reproductivo de ovejas f1 (Damara X Merino) sincronizadas con CIDR y dos tiempos de aplicación de GNRH”
- Murphy, a. (1991): “The origin of African sheep: archaeological and genetic perspective. African Archaeological Review. 30:39–50.

- Nagatani, S (1998): "Evidence for GnRH regulation by Leptin: Leptin administration prevents reduced pulsatile LH secretion during fasting. *Neuroendocrinology*" 67: 370-376.
- Olivera, J. (2011); Comparison of prostaglandin and progesterone-based protocols for timed artificial insemination in sheep. *Theriogenology*, v.75, n.7, p.1232-1238.
- Peralta, J. (2007): Oestrus synchronization of ewes, using norgestomet combined with PGF2 α and hCG in the reproductive season. *Research Journal of Animal Sciences*, v.1, n.1, p.44-48,
- Peter, A.T.; LEVINE, H.; DROST, M.; BERGFELT, D.R. Compilation of classical and contemporary terminology used to describe morphological aspects of ovarian dynamics in cattle. *Theriogenol.* 71:1343-1357. 2009.
- Porras, A. (2003). Estacionalidad reproductiva en ovejas (en línea). Consultado 5 oct. 2009. Disponible en <http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/cienciavet/revistas/CVvol9/CVv9c1.pdf>
- Quispe, T. (2009). Estudio sobre el uso de acetato de melengestrol para la sincronización e inducción de estros en ovejas (tesis de Doctorado). Mexico. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM. 2009.
- Raposo, R. (1999). Comparação qualitativa de diferentes técnicas de coloração para a citologia vaginal de ovelhas da raça Saanen. *Ciênc Anim.*, 9(2):81-5, 1999 (PDF) *Citología y Análisis Morfométrico de las...* Available from: https://www.researchgate.net/publication/262743008_Citologia_y_Analisis_Morfometrico_de_las_Celulas_del_Epitelio_Vaginal_Durante_el_Ciclo_Estral_en_Ovejas_de_Pelo_Ovis_aries [accessed Jul 16 2018].
- Savio, J. (1990): "Resumption of follicular activity in the early postpartum period of dairy cows. *Journal Reproduction Fertility*", v. 88: 569-579

- Simonetti L, Ramos G, Gardón JC (1999) Estrus presentation and distribution in ewes treated with intravaginal sponges impregnated with medroxyprogesterone acetate (MAP) in combination with pregnant mare serum gonadotropin (PMSG).
- Thatcher W.; MOREIRA, F.; SANTOS, J.; MATTOS, R.; LOPES, F.; PANCARCI, S.; RISCO, C. 2001. Effects of hormonal treatments on reproductive performance and embryo production. *Theriogenology* 55, 75–89.
- Tondello, L. ((2010) Microbiological and functional evaluation of an alternative device (OB®) for estrous synchronization in ewes. *Ciencia Rural*, v.49, p.389-395.
- Uribe, L., (2008), En su estudio titulado “Población folicular y concentraciones plasmáticas de progesterona (p4) en ovejas sometidas a diferentes protocolos de sincronización”.
- Villa, M. (2010). “Sincronización de celos en ovinos con doble dosis de prostaglandina”. EEA INTA Esquel, Carpeta Técnica Ganadería N° 39. 1.- INTA-OGA Tehuelche. 2.- INTA-OGA Trevelin. 3.- INTA Esquel.
- Vilariño, M. (2010). “Serum progesterone concentrations, follicular development and time of ovulation using a new progesterone releasing device (DICO®) in sheep. *Small Ruminant Research*”, v.91, p.219-224,
- Whittier, D. (1998): “Optimizing fertility in the beef herd. Proceedings of the Annual Meeting of the Society for Theriogenology”, pp. 429-441.

6.3 ANEXOS

Anexo 1. Exámenes de laboratorio para determinar la salud del rebaño



Clínica Veterinaria
AMBATO
Dermatología y Salud para tu Mascota

Recepción de muestra: 01/02/2018 Fecha de informe: 01/02/2018

Solicita: Darwin Acuña

Propietario: Nombre del paciente: B2

Especie: Ovino Raza: 4M Sexo: hembra Edad: 2 años 8 meses

Estudio solicitado: Hemograma, Diferenciales

RESULTADOS

HEMATOLOGIA	UNIDADES	VALORES HALLADOS	VALORES DE REFERENCIA
Hematocrito	%	41	27 a 45
Hemoglobina	g/dL	13.6	9 a 15
Recuento de G. Rojos	$\times 10^6$ /dL	13	9 a 15
VCM	fL	31.5	28 a 40
HCM	Pg	10	8 a 12
CHCM	g/dL	33	31 a 34
Leucocitos	$\times 10^3$ /uL	5.5	4 a 12
Neutrófilos	uL	2200	400 a 6000
Linfocitos	uL	2585	1600 a 9000
Monocitos	uL	165	0 a 750
Eosinófilos	uL	495	0 a 1200
Basófilos	uL	55	0 a 350
Neutrófilos en banda	uL	0	0 a 150
Neutrófilos juveniles	uL	0	Raros
Reticulocitos	uL	-	<1
Recuentos plaquetarios	$\times 10^3$ /uL	641	250 a 750



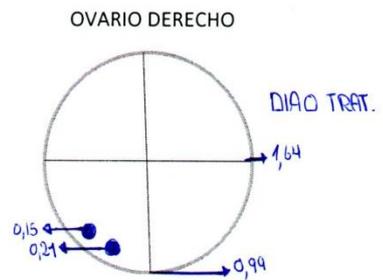
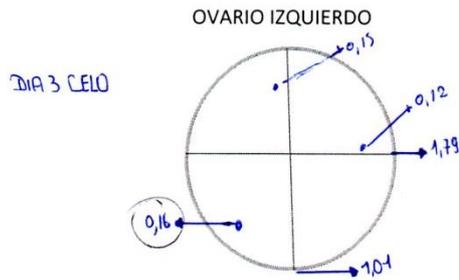
Clínica Veterinaria
AMBATO
FIRMA AUTORIZADA
FIRMA MEDICO RESPONSABLE

Anexo 2. Ficha de campo para registro de tamaño folicular.

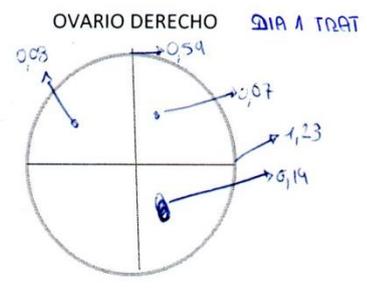
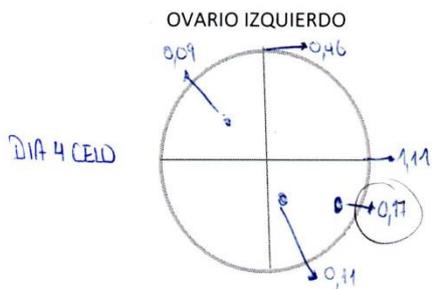
ECOGRAFIAS OVINAS

IDENTIFICACIÓN A1.....

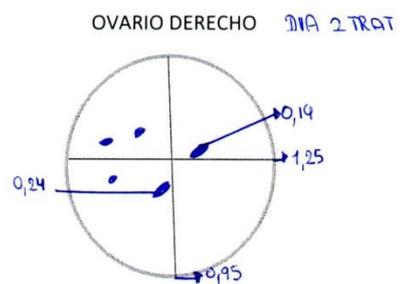
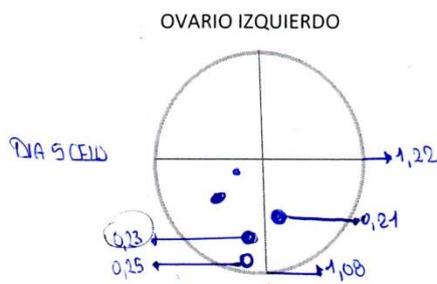
FECHA 29 ENERO 2018.....



FECHA 30 ENERO 2018.....



FECHA 31 ENERO 2018.....



Anexo 3 Exámenes de laboratorio determinación de 17 β -estradiol



VERDADERA MEDICINA CLÍNICA VETERINARIA "MI MASCOTA"

Dr. José Luis Castellanos C.
ESPECIALISTA EN MEDICINA CIRUGÍA Y ZOOTECNIA EN PERROS Y GATOS

Únicos en el país con: Endoscopia, Videoendoscopia, Laparoscopia, Electrocardiología, Ecografía, Rayos X, Tonometría, Video equipos de diagnóstico, Laboratorio Clínico (de perros y gatos, nó de seres humanos), Acupuntura, Oftalmología, Panoptic, Quirófano equipado con monitores de última generación, máquinas de anestesia inhalada (isoflurano) de última generación no tóxico ni peligrosos para nuestros pacientes, con ventiladores, electro histuri láser, equipos de urgencias, desfibrilador, succión, Oxígeno Centralizado, Verdadera Hospitalización cuidados por personal especializado (no practicantes ni estudiantes) y las 24 horas del día, nuestros pacientes son atendidos no en jaulas sino en perrera con calefacción y tomas de oxígeno, monitores de signos vitales, bombas de infusión, controles periódicos de gases sanguíneos, química sanguínea, análisis de orina, etc. Estética (peluquería) canina y felina sin tranquilizantes ni anestésicos.

Nombre del propietario:	_____
Dirección:	_____ Teléfono: _____
Nombre del paciente:	_____ Raza: _____
Fecha del examen:	9 FEBRERO 2018 Responsable: _____

PRUEBAS ESPECIALES

ESTRADIOL 71.38 pmol/L



Anexo 4 Presupuesto

A continuación se detalla el presupuesto a considerar en el presente proyecto:

PRESUPUESTO PARA LA ELABORACIÓN DEL PROYECTO				
EQUIPOS	UNIDAD	CANTIDAD	V. UNITARIO	V. TOTAL
Computadora	Horas	240	1	240
Transporte y salida de campo	Dinero	6	5	30
Materiales y suministros				
Corrales	Unidades	6	50	300
Exámenes de laboratorio sanguíneo	Unidades	24	11	264
D-Cloprostenol	Unidad	24	4	96
GNRH Buserelina	Unidad	1	65	65
GNRH Ganadorelina	Unidad	1	65	65
Portaobjetos	Caja	100	-	25
Guantes	Caja	100	-	10
Especulo	Unidad	12	6	72
Vacutainer	Caja	24	-	25
Jeringas 3MI	Caja	50	-	12
Jeringas 5L	Caja	50	-	12
Alimentación	Unidad	-	-	400
Transporte	Unidad	-	-	120
Material bibliográfico y fotocopias				
Copias	Hojas	100	0,05	5
Impresiones	Hojas	250	0,10	25
Otros gastos				200
	Sub total			1,702
	10%			170,2
	TOTAL			1872,2

Anexo 5 Gráficos



Instalaciones Utilizadas



Pesaje de Materias primas (Dieta)



Transporte de Animales



Recibimiento de animales



Desparasitación de las ovejas



Vitaminización de las ovejas



Determinación visual del celo



Ecografías ováricas diarias



Observación de ovarios y folículos



Conteo de polimorfos nucleares



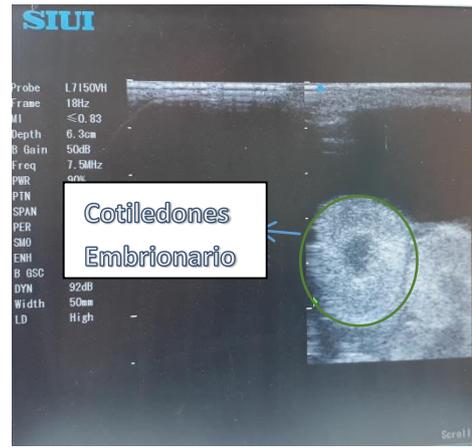
Extracción de muestras sanguíneas



Titulación de muestras



Servicio (Monta)



Determinación de preñez mediante ecografía

CAPÍTULO VII

PROPUESTA

Utilización de Buserelina o Gonadorelina para la sincronización efectiva y funcional de la dinámica folicular en ovinos.

7.1 Datos informativos

Esta investigación abarca temas de importancia para médicos veterinarios y especialistas que trabajan en el área de producción ovina, haciendo énfasis en que un método de sincronización efectivo influye directamente para comprender la fisiología del aparato reproductivo de la hembra ovina y así mejorar la producción ganadera.

7.2 Antecedentes de la propuesta

En este trabajo de investigación se analizó el efecto de la aplicación de dos tipos de hormonas análogas de GnRH para observar la cinética folicular utilizando la técnica de la ecografía trans rectal, y en base a los resultados se obtuvo que los dos productos no influenciaron directamente sobre el crecimiento folicular, pero se demostró que el tamaño del folículo al inicio del tratamiento sí influye sobre la tasa de preñez, por lo tanto se puede utilizar como alternativa para mejorar la reproducción de esta especie y contrarrestar los efectos del desconocimiento del tema y la importancia que tiene sobre la fertilidad del rebaño.

7.3 Justificación

En el presente trabajo de investigación se observó que el conocimiento acerca de la cinética folicular nos ayudan a mejorar problemas relacionados a la productividad y fertilidad en el rebaño, ya que el estudio a detalle del desarrollo folicular es de vital importancia debido a que el folículo es la estructura que sintetiza 17- β - estradiol

hormona responsable del celo, y la comprensión de estos mecanismos permitirá acciones más eficaces para la aplicación de biotecnologías relacionadas con la fisiología reproductiva.

7.4 Objetivos

- Desarrollar un plan estratégico de sincronización efectiva en el rebaño mediante técnicas específicas con la utilización de hormonas liberadoras de gonadotropinas..
- Generar proyectos de investigación acerca de la fertilidad en ovejas

7.5 Análisis de factibilidad

En el Ecuador en los últimos años la producción ovina ha sido infructuosa ya que ha tenido un constante descenso en el número de cabezas ovinas en estos últimos años, teniendo en cuenta el dato del último censo en 2014 de 696.806 cabezas de ganado (Fao 2014), en este sentido se está desperdiciando una importante área en la producción en nuestro país, la propuesta es factible ya que al fomentar proyectos destinados a reproducción asistida en esta especie creara fuentes de empleo y se evitaran perdidas económicas al obtener un mejor control reproductivo en el rebaño.

7.6 Fundamentación

La incorporación de la ultrasonografía ovárica transrectal asociada a la determinación hormonal por radioinmunoanálisis ha permitido desde mediados de los años 80 un fuerte avance en el conocimiento de la fisiología ovárica en los rumiantes. De este modo fue posible realizar un mapeo diario de los cambios anatómicos que ocurren a nivel ovárico en el mismo animal por períodos prolongados y de forma atraumática. A los trabajos iniciales desarrollados en bovinos, le siguieron una década después similares investigaciones efectuadas en ovinos y caprinos. Dado el tamaño de estas especies, el abordaje transrectal ha sido claramente más dificultoso que en bovinos pero esto no ha impedido que varios

grupos de investigación hayan podido obtener evidencias coincidentes sobre los procesos fisiológicos ováricos. (A.Menchaca, E. Rubianes 2012)

7.7 Metodología, modelo operativo

Preparación:

Ayuno 12 a 18 horas

La adecuada privación de alimento evita que las heces se acumulen en el intestino grueso por lo que se ve dificultada la observación de las estructuras internas del aparato reproductivo de la oveja.

Inmovilización de la hembra

Esta práctica contribuye a evitar los movimiento naturales del animal que puedan cambiar o alterar la medición de las estructuras a evaluarse.

Extracción de heces

Se extrae la mayor cantidad de heces introduciendo nuestros dedos previamente colocándonos un guante con gel lubricante para de esta manera facilitar el ingreso del transductor del ecógrafo en el recto del ovino.

Rasurado del área perianal

Una adecuada ejecución de esta práctica en esta zona previene que exista una contaminación cruzada.

Identificación y valoración de estructuras ováricas

Este estudio cuantitativo y cualitativo nos permite definir las condiciones fisiológicas y anatómicas específicas que posee cada individuo a examinarse.

Análisis de datos reportados

Mediante la recopilación de datos estadísticos del rebaño podemos determinar el uso de un tratamiento adecuado para plantear una sincronización efectiva.

Aplicación de tratamientos

Durante los últimos años la aplicación de tratamientos de sincronización efectiva han tenido un impacto positivo sobre la fertilidad en estos animales. Los protocolos OVSYNCH utilizados en ovinos son:

DIA 0	DIA 7	DIA 9	DIA 10
GnRH (Buserelina)	PGF2 α	GnRH (Buserelina)	SERVICIO

Tabla 4. Tratamiento 2 (T2)

DIA 0	DIA 6	DIA 9	DIA 10
GnRH (Gonadorelina)	PGF2 α	GnRH (Gonadorelina)	SERVICIO

7.8 Administración

La Universidad Técnica de Ambato mediante la Facultad de Ciencias Agropecuarias, así como docentes y estudiantes serán responsables de la realización de esta propuesta que pueda llevar a una adecuada utilización creando proyectos de reproducción asistida de ovinos, además promover investigaciones que complementen la creación de áreas para conservar recursos del país.