

UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABÍ

EXTENSIÓN EN EL CARMEN

CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

Creada Ley No 10 – Registro Oficial 313 de noviembre 13 de 1985

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

**TRABAJO EXPERIMENTAL PREVIO LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
INGENIERO AGROPECUARIO**

EFFECTO DE LA APLICACIÓN DE FSH (FOLLTROPIN) EN LA PRODUCCIÓN DE EMBRIONES BOVINOS *IN VITRO*.

AUTOR: CEDEÑO ALCIVAR YOEL ARIOSTO

TUTOR: MVZ. DAVID NAPOLEÓN VERA BRAVO MG.

EL CARMEN- MANABÍ – ECUADOR

ENERO, 2025

	NOMBRE DEL DOCUMENTO: CERTIFICADO DE TUTOR(A).	CÓDIGO: PAT-04-F-004
	PROCEDIMIENTO: TITULACIÓN DE ESTUDIANTES DE GRADO BAJO LA UNIDAD DE INTEGRACIÓN CURRICULAR	REVISIÓN: 1
		Página 1 de 1

CERTIFICACIÓN DEL TUTOR

El suscrito Tutor:

MVZ. David Napoleón Vera Bravo Mg. en calidad de tutor académico designado por el coordinador de la carrera de Ingeniería Agropecuaria de la Universidad Laica “Eloy Alfaro” de Manabí Extensión El Carmen, CERTIFICO que el presente trabajo de investigación con el tema: **“Efecto de la aplicación de FSH (FOLLTROPIN) en la producción de embriones bovinos in vitro”**, ha sido elaborado por el egresado: Yoel Ariosto Cedeño Alcívar con el asesoramiento pertinente de quien suscribe este documento, el mismo que se encuentra habilitado para su presentación y defensa correspondiente.

Es todo lo que puedo decir en honor a la verdad.

El Carmen, 6 enero del 2025



MVZ. David Napoleón Vera Bravo, Mg.

TUTOR



UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABÍ

CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

TÍTULO:

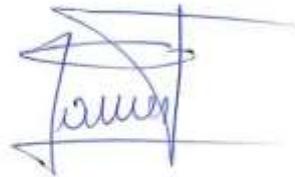
“EFECTO DE LA APLICACIÓN DE FSH (FOLLTROPIN) EN LA PRODUCCIÓN DE EMBRIONES BOVINOS *IN VITRO*”.

AUTOR: CEDEÑO ALCÍVAR YOEL ARIOSTO

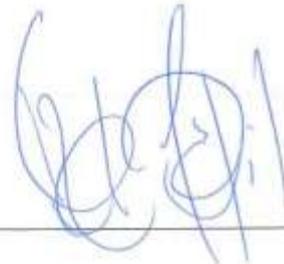
TUTOR: MVZ. DAVID NAPOLEÓN VERA BRAVO, MG.

TRABAJO EXPERIMENTAL PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERO AGROPECUARIO

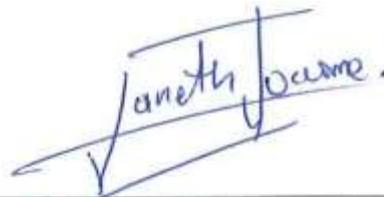
Ing. Salcán Sánchez Edison Javier Mg



MVZ. Kleber Fernando Mejía Chanaluisa, Mg



Ing. Jácome Gómez Janeth Rocío, PhD.



DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Yo, Yoel Ariosto Cedeño Alcívar con cédula de ciudadanía 131477453-8, estudiante de la Universidad Laica "Eloy Alfaro" de Manabí, Extensión El Carmen, de la Carrera de Ingeniería Agropecuaria, declaro que soy el autor de la tesis titulada **"Efecto de la aplicación de FSH (FOLLTROPIN) En la producción de embriones in vitro"** esta obra es original y no infringe derechos de propiedad intelectual. Asumo la responsabilidad total de su contenido y afirmo que todos los conceptos, ideas, textos y resultados que no son de mi autoría, están debidamente citados y referenciados.

Atentamente,



Yoel Ariosto Cedeño Alcívar

DEDICATORIA

Este proyecto de investigación está dedicado principalmente para mí, porque en toda esta trayectoria pude evidenciar que soy una persona capaz de lograr lo que me proponga, y que cuando me planteo algo lucho arduamente hasta conseguirlo.

A mis padres por ser mi fuente de inspiración en este camino este gran logro es por y para ellos por ser mi soporte y compañía durante todo el período de estudio.

A mi familia en general y demás amigos a todos ustedes quiero dedicar este proyecto realizado con todo mi esfuerzo y arduo trabajo.

YOEL ARIOSTO CEDEÑO ALCÍVAR

AGRADECIMIENTO

A Dios por darme salud y sabiduría cada mañana y por permitirme llegar hasta este momento importante en mi formación profesional.

A la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí extensión El Carmen que me dio la oportunidad de forjar mis conocimientos a través de una educación de alta calidad y así mejorar como ser humano y profesional.

A mis Padres por ser mi guía y apoyarme en cada una de mis etapas, a mis hermanos por ser mis compañeros y amigos más sinceros, a los amigos que me brindó la universidad a lo largo de este recorrido.

Al tutor, MVZ. David Napoleón Vera Bravo y a los miembros del tribunal por guiarnos y enriquecernos con sus conocimientos y sugerencias en el desarrollo de este proyecto de investigación.

Este gran logro es en gran parte gracias a ustedes, porque confiaron en mi incluso cuando ni yo mismo lo hacía, su apoyo en este recorrido fue fundamental para culminar con éxito esta nueva etapa profesional, siempre estaré eternamente agradecido.

YOEL ARIOSTO CEDEÑO ALCÍVAR

INDICE DE CONTENIDO

Contenido

CERTIFICACIÓN DEL TUTOR.....	¡Error! Marcador no definido.
DEDICATORIA.....	V
AGRADECIMIENTO.....	VI
INDICE DE CONTENIDO.....	VII
ÍNDICES DE GRAFICOS.....	IX
ÍNDICE DE TABLA	X
SUMMARY.....	XII
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPITULO I.....	4
1.1 Raza Guzerat	4
1.2 Ovocitos clivados	4
1.3 Ovocitos	5
1.4 Clasificación de ovocitos bovinos	5
1.5 Maduración de ovocitos bovinos	6
1.6 Embriones bovinos <i>in vitro</i>	7
1.7 Desarrollo de embriones	7
1.8 Maduración de embriones	8
1.9 Cultivo de embriones.....	8
1.10 Folltropin.....	9

CAPITULO II.....	11
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	11
2.1. Ubicación.....	11
2.2. Diseño experimental.....	11
2.3.1 Variable independiente	11
2.3.2 Variables dependientes	12
2.6.1. Cantidad de embriones viables (n):	12
2.6.2. Cantidad de ovocitos clivados:	13
Fertilización.....	14
CAPITULO III.....	16
3. EVALUACIÓN DE LOS RESULTADOS	16
3.1. Cálculo del porcentaje de ovocitos clivados producidos <i>in vitro</i> con y sin la aplicación de folltropin®.....	16
3.2. Cálculo del porcentaje de embriones producidos <i>in vitro</i> con y sin la aplicación de folltropin®.....	17
CAPITULO IV.....	19
CONCLUSIONES.....	19
CAPITULO V.....	20
BIOBLOGRAFÍAS.....	21
ANEXOS.....	27

ÍNDICES DE GRAFICOS

Figura 1. Clasificación de los CCOs de acuerdo a la morfología visual de las estructuras, de la calidad del citoplasma y de las células del cumulus.....	8
Figura 2. Folltropin	21
Figura 3. Mapa del cantón Pedernales	21
Anexo 1. Unidad experimental....	36
Anexo 2. Aplicación de folltropin	36
Anexo 3. Aspiración de ovocitos.....	38
Anexo 4 . Selección de ovocitos.....	38
Anexo 5. Aspiración de ovocitos.....	37
Anexo 6 . Ecografo para aspiracion de ovocitos	37
Anexo 7. Lugar de trabajo.....	37
Anexo 8. Ovocitos seleccionados.....	37
Anexo 9. Ovocitos Maduros	38
Anexo 10. Embriones	38

ÍNDICE DE TABLA

Tabla 1. Descripción de los tratamientos.....	22
Tabla 2. Prueba T student del % de clivaje	25
Tabla 3. Prueba T student del % de embriones	25

RESUMEN

La presente investigación tuvo el objetivo de evaluar el efecto de la hormona foliculoestimulante (FSH-Folltropin®) sobre la producción de embriones *in vitro* en bovinos de raza Guzerat. Para el presente estudio se empleó un Diseño de Bloques Completamente al Azar (DBCA), con dos tratamientos (aplicando Folltropin® y sin aplicación de Folltropin®) y diez repeticiones, con un peso promedio de 350 kg, condición corporal de 3 a 3,5 y una edad promedio de 36 a 50 meses, mismas que pasaron por ambos grupos experimentales (con y sin tratamiento), además ,los resultados obtenidos se analizaron con el software estadístico InfoStat; se incluyó una prueba de comparación de medias Prueba de T-Student con el 5% de probabilidad, con las variables porcentaje de ovocitos clivados y porcentaje de embriones se sometieron a este análisis. Los resultados muestran que la administración de la hormona foliculoestimulante (FSH - Folltropin®) en bovinos de raza Guzerat no aumentó la producción de óvulos bovinos, al presentar mayor cantidad de ovocitos clivados y de embriones producidos el tratamiento T (0) el cual corresponde al tratamiento Sin aplicación de Folltropin® sobre la producción de embriones, por ende se sugiere que no se utilice este estimulante en vacas de raza Guzerat.

Palabras claves: clivaje, Folltropin®, embriones, foliculoestimulante, ovocitos

SUMMARY

The objective of this research was to evaluate the effect of follicle-stimulating hormone (FSH-Folltropin®) on the production of in vitro embryos in Guzerat breed cattle. For the present study, a Completely Randomized Block Design (DBCA) was used, with two treatments (applying folltropin and without applying folltroping) and ten repetitions, with an average weight of 350 kg, body condition of 3 to 3.5 and an average age of 36 to 50 months, which passed through both experimental groups (with and without treatment), in addition, the results obtained were analyzed with the InfoStat statistical software; A means comparison test was included Tukey's test with 5% probability, with the variables percentage of cleaved oocytes and percentage of embryos being subjected to this analysis. The results show that the administration of follicle-stimulating hormone (FSH - Folltropin®) in Guzerat breed cattle did not increase the production of bovine embryos, as the T(0) treatment presented a greater number of cleaved oocytes and embryos produced, which corresponds to the treatment Without application of Folltropin® on embryo production, therefore it is suggested that this stimulant not be used in Guzerat breed cows.

Keywords: cleavage, Foltropin®, embryos, follicle stimulating, oocytes

INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas, el campo de la biotecnología ha experimentado un crecimiento exponencial, proporcionando a la comunidad científica instrumentos innovadores para manipular y alterar el material genético de los organismos más complejos: los mamíferos. El progreso en la creación de animales transgénicos y en la multiplicación de líneas genéticas superiores fuera del cuerpo animal se fundamenta en dos pilares tecnológicos principales: el perfeccionamiento de las técnicas de fertilización *in vitro* (FIV) y los avances en los métodos de cultivo de embriones (Fernández et al., 2007).

Diéz et al. (2010), señala que la producción de embriones bovinos *in vitro* se aplica no sólo en investigación y como modelo para obtener embriones en otras especies, incluida la humana, sino también para obtener descendencia a partir de vacas de alto valor genético. También es útil para un último aprovechamiento de hembras sacrificadas por motivos sanitarios, accidentes o reposición.

A esto se suma, lo emitido por Peláez (2011), quien sostiene que las técnicas para producir embriones bovinos, mediante la maduración de ovocitos y su posterior fertilización *in vitro*, ofrece la posibilidad de obtener embriones a bajo costo para ser utilizados con fines de estudio o con propósitos comerciales.

Finalmente, tenemos lo expuesto por Ramírez (2020), quien expone que la producción de embriones *in vitro* actualmente ha cobrado importancia en el sector ganadero por ser una técnica que ayuda a la mejora genética y eficiencia en la producción. La producción *in vitro* de embriones bovinos se ha ido posicionando como una de las biotecnologías reproductivas con la que se han logrado avances significativos a nivel de productividad, calidad y eficiencia reproductiva. Esta técnica requiere la obtención y maduración de ovocitos y su posterior fertilización en condiciones de laboratorio, por lo que requiere personal altamente calificado que garanticen y obtengan una mayor cantidad y calidad de embriones.

Gonella et al. (2013), menciona que la técnica de Producción de Embriones *In Vitro* (PIV) se ha consolidado como una herramienta biotecnológica de gran relevancia

en el ámbito de la reproducción animal. Su impacto se extiende más allá de la ganadería, donde juega un papel crucial en la aceleración del mejoramiento genético, hasta el campo de la investigación científica, donde sirve como modelo para estudiar el desarrollo embrionario en diversas especies. Para llevar a cabo este procedimiento, existen dos métodos principales para la obtención de ovocitos: Recolección *in vivo*: Este método implica la extracción de ovocitos directamente de animales vivos. Un procedimiento que utiliza imágenes de ultrasonido para localizar y extraer los ovocitos de los folículos ováricos. Ambos métodos permiten obtener los ovocitos necesarios para iniciar el proceso de producción de embriones *in vitro*, contribuyendo así tanto al avance de la investigación como a la mejora de la eficiencia reproductiva en la ganadería.

Mucci et al. (2006) Los métodos de producción de embriones bovinos en etapas previas a la implantación, que involucran la maduración de ovocitos y su subsecuente fecundación en laboratorio, presentan una alternativa económica para la obtención de embriones. Estos pueden ser empleados tanto en investigación científica como en aplicaciones comerciales. En el ámbito de la investigación, estos embriones son valiosos para estudiar el desarrollo embrionario temprano, realizar experimentos de transgénesis y avanzar en técnicas de clonación. Por otro lado, en el sector comercial, ofrecen una opción rentable para la mejora genética del ganado.

Mogollón y Burla (2013) la transferencia de embriones se posiciona como una estrategia clave en la investigación y desarrollo del sector ganadero, ofreciendo un medio eficaz para impulsar tanto la productividad como la calidad del ganado.

Es por ello por lo que la presente investigación tiene como propósito evaluar el efecto de la aplicación de FSH (Folltropin®) en la producción de embriones bovinos *in vitro* de raza Guzerat.

OBJETIVO GENERAL:

- Evaluar el efecto de la aplicación de FSH (Folltropin®) en la producción de embriones bovinos *in vitro*.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Identificar si la aplicación de Folltropin® en bovinos de raza Guzerat aumenta la producción de embriones bovinos *in vitro*.
- Determinar el porcentaje de ovocitos clivados con y sin la aplicación de Folltropin® en bovinos de raza Guzerat.
- Calcular el porcentaje de embriones producidos *in vitro* con y sin la aplicación de Folltropin® en bovinos de raza Guzerat.

HIPÓTESIS

Hipótesis alternativa (Ha):

La aplicación Folltropin® aumenta la producción de embriones bovinos *in vitro* en la raza Guzerat.

Hipótesis nula (Ho):

La aplicación Folltropin® no aumenta la producción de embriones en bovinos *in vitro* en la raza Guzerat.

CAPITULO I

1. MARCO TEORICO

1.1 Raza Guzerat

Su región de origen es el estado de Bombai en la India al igual que la Gyr, proviene de una zona de clima cálido de suelos secos y pobres, esta raza corresponde a la Kankrej de la India. El Guzerat se adapta fácilmente a medios adversos, y posee una gran capacidad de crecimiento en pastoreo, además de ser un buen productor de carne, por selección ha demostrado ser también una raza productora de leche, por sus grandes cualidades le garantizan un lugar de predominancia en la ganadería tropical Aso cebú (2022).

El mismo autor indica que sus cruzamientos con Bos Taurus, ya sean de origen lechero o productores de carne. Además de ser un buen productor de carne, por selección ha demostrado ser también una raza productora de leche. Se dice, sin embargo, que sus más remotos orígenes corresponden a la raza Kankej del subcontinental hindú-Paquistaní. El Guzerat desempeña un papel importante en la expansión de la genética cebú, además de sobrevivir la era de los cruzamientos con razas europeas.

Genética Tricolor (2021) el Guzerat se adapta fácilmente a medios adversos, y posee una gran capacidad de crecimiento en pastoreo. Además de ser un buen productor de carne, por selección ha demostrado ser también una raza productora de leche, por sus grandes cualidades le garantizan un lugar de predominancia en la ganadería tropical.

1.2 Ovocitos clivados

Se denominan segmentación o clivaje al proceso embriológico temprano que consiste en una serie de divisiones celulares (Mitosis) del óvulo fecundado (cigoto) que se producen antes de la gastrulación y que se relacionan con la morfología del huevo y en particular con la cantidad de vitelo que contiene. Las células resultantes de la división del cigoto se denominan blastómeros y forman una masa compacta llamada mórula; a partir de ésta se forma la blástula y posteriormente la gástrula Lino y Chasi, (2011).

Los ovocitos clivados son ovocitos madurados que se dividen de forma similar a un embrión a las 72 horas tótico) Lino y Chasi, (2011).

1.3 Ovocitos

Los ovocitos son células altamente especializadas, las únicas capaces, junto con los espermatozoides, de llevar a cabo procesos meióticos y las únicas dependientes de la introducción de ADN externo, proveniente del espermatozoide para poder llevar a cabo las siguientes fases de desarrollo en condiciones in vivo Champang (2019).

Mientras que Ruiz (2020) indica que los ovocitos son las células germinales femeninas que se generan en los ovarios durante el proceso denominado ovogénesis. Este proceso tiene lugar únicamente durante el desarrollo fetal, de manera, que todos los ovocitos que tendrá una mujer se producen ya antes de nacer. Se trata de un estadio primario de lo que acabará siendo un óvulo maduro.

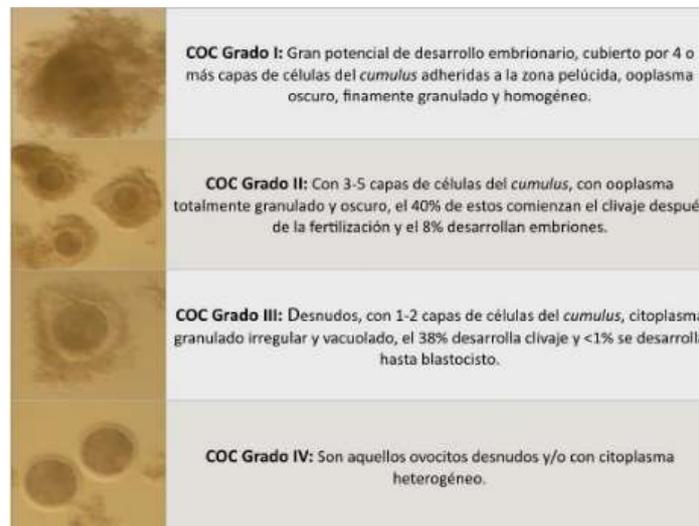
El mismo autor indica que los ovocitos que obtenemos tras la realización de la punción ovárica deben presentar una serie de características para considerarse válidos en un tratamiento de reproducción asistida. Para que un espermatozoide pueda fecundar un ovocito éste debe haber sufrido una serie de cambios que favorecen la denominada madurez ovocitaria. Dichos cambios son imprescindibles ya que sólo los ovocitos maduros pueden ser fecundados.

1.4 Clasificación de ovocitos bovinos

La Universidad Nacional Autónoma de México (2021) cita en su investigación que el objetivo principal de la clasificación de los ovocitos es poder identificar los que tienen mayor capacidad de desarrollo, que permitan la producción no solo de blastocistos sino que tengan la suficiente capacidad de competencia para producir gestaciones y nacimientos, la selección de ovocitos para maduración generalmente se basa en la evaluación morfológica visual de las estructuras, de la calidad del citoplasma y de las células del cumulus.

El mismo autor indica que el criterio de clasificación utilizado universalmente toma en cuenta dos características de los CCOs: Las células del cumulus (número de capas de células y compactación de estas) y apariencia del citoplasma. Con estas pautas de selección es necesario mantener el complejo cumulus-ovocito intacto considerando su importancia para observar y evaluar la viabilidad (figura 1).

Figura 1. Clasificación de los CCOs de acuerdo con la morfología visual de las estructuras, de la calidad del citoplasma y de las células del cumulus.



Fuente: Universidad Nacional Autónoma de México (2021)

1.5 Maduración de ovocitos bovinos

La maduración de ovocitos *in vitro* en animales es un proceso biológico crucial en la reproducción asistida y la investigación en biología reproductiva. La capacidad de madurar ovocitos fuera del cuerpo del animal ha revolucionado numerosos campos, desde la medicina veterinaria hasta la biotecnología y la conservación de especies en peligro de extinción. Este proceso permite manipular y estudiar el desarrollo ovárico en condiciones específicas, sin depender de la fisiología del animal. Esta biotecnología se ha convertido en una herramienta eficaz para mejorar las tasas de éxito en la reproducción y la producción de embriones de alta calidad Mancheno et al, (2024).

La maduración nuclear y citoplasmática ocurre *in vivo* durante el crecimiento folicular y la ovulación. Este desarrollo ovocitario va de la mano con la maduración folicular, siendo ambos procesos inducidos por cambios característicos en los niveles plasmáticos de las gonadotropinas. La relación entre el ovocito y las células foliculares se modifica durante el período de maduración como resultado de cambios en la membrana del ovocito y el sistema señales intercelulares Farfan (2019).

Las condiciones de maduración generalmente utilizadas, implica el uso de TCM199 suplementado con suero fetal bovino y gonadotropinas (FSH y LH) en una atmósfera húmeda con 5% CO₂, a 38.5°C. Es importante tener en cuenta que hay efectos paracrinos de los complejos cumulus-ovocito que afectan la maduración.

Consecuentemente, la maduración de ovocitos se hace en grupos, y se considera el volumen de la gota con la cantidad de ovocitos a madurar. Los ovocitos requieren 20-24 horas de incubación para completar la maduración con la exclusión del primer corpúsculo polar y estar listos para ser fertilizados. Bajo estas condiciones, alrededor del 90% de los ovocitos progresan hasta metafase II de la meiosis UNAN (2021).

1.6 Embriones bovinos *in vitro*

La producción de embriones *in vitro* (PIV) es una biotecnología reproductiva que tiene un gran potencial como herramienta en el mejoramiento genético porque permite un acortamiento del intervalo generacional y logra aumentar la propagación del material genético en los hatos Gonella A. et al, (2013).

Los resultados de producción *in vitro* de embriones en distintas especies fueron mejorando significativamente a medida que avanzaron los conocimientos acerca de sus requerimientos. Para ello, fue necesario transformar los medios de cultivo primitivos, muy complejos y suplementados frecuentemente con suero, en medios más definidos, en los cuales cada uno de sus componentes pudiera ser estudiado en función del efecto que genera sobre el desarrollo embrionario, su sobrevivencia poscriopreservación, la tasa de gestación y el porcentaje de crías viables Mucci et al, (2006).

La producción de embriones *in vitro* (PIV) consta de varias etapas, cada una de las cuales puede afectar a los resultados finales del proceso. Estas etapas pueden resumirse en las siguientes: obtención de ovocitos, selección de ovocitos, maduración *in vitro* (MIV), fecundación *in vitro* (FIV) y cultivo de los cigotos resultantes hasta blastocistos (CIV) Astiz et al, (2020).

1.7 Desarrollo de embriones

El desarrollo embrionario es el periodo que se produce entre la fecundación y el parto. Dura normalmente nueve meses, y en cada uno de los trimestres en los que se divide se desarrollan diferentes partes del cuerpo Marbello (2024).

El desarrollo embrionario es un proceso complejo por el cual una célula huevo se transforma, tras la fecundación, en un organismo adulto. Estas transformaciones están controladas por redes de interacción entre genes, la evolución también es un proceso complejo en el que la forma cambia a lo largo del tiempo en una población; Así, tanto el

desarrollo como la evolución son procesos de cambio, uno durante la vida de un organismo y el otro entre generaciones, estos dos procesos están íntimamente ligados porque cualquier cambio en la evolución aparece primero como un cambio en el desarrollo de un individuo en una población Salazar (2010).

Los factores que comprometen el desarrollo embrionario y el subsiguiente crecimiento fetal son complejos ya que involucra procesos como la proliferación celular, el desarrollo y mantenimiento del CL, las funciones del oviducto y del útero, la implantación y vascularización del embrión entre otros Tovío et al, (2008).

1.8 Maduración de embriones

La maduración *in vitro* de ovocitos es una técnica de reproducción asistida que permite madurar óvulos fuera del ambiente ovárico, en condiciones de cultivo en el laboratorio (*in vitro*) y generar embriones a partir de ellos. "La maduración *in vitro* de ovocitos consiste en madurar el ovocito extraído del complejo cúmulo-ovocitario in vivo de pequeños folículos antrales, el ovocito se extrae en estadio de vesícula germinal e *in vitro* se madura hasta metafase II", explica la doctora Beatriz Bueno Olalla, Ginecóloga especialista en Reproducción asistida y miembro de la Unidad de Reproducción Asistida del Hospital Ruber Internacional Bueno (2023).

Campoverde et al, (2024) cita en su investigación que la maduración de ovocitos *in vitro* en animales es un proceso biológico crucial en la reproducción asistida y la investigación en biología reproductiva. La capacidad de madurar ovocitos fuera del cuerpo del animal ha revolucionado numerosos campos, desde la medicina veterinaria hasta la biotecnología y la conservación de especies en peligro de extinción. Este proceso permite manipular y estudiar el desarrollo ovárico en condiciones específicas, sin depender de la fisiología del animal. Esta biotecnología se ha convertido en una herramienta eficaz para mejorar las tasas de éxito en la reproducción y la producción de embriones de alta calidad.

1.9 Cultivo de embriones

Los embriones se cultivan en un solo medio de cultivo, con recubrimiento de aceite, para mantener un sistema de cultivo estable y preservar la viabilidad del embrión, que es clave para mejorar los resultados clínicos Comín, (2021).

Mihura, (2023) cita en su investigación que el cultivo embrionario se puede definir como el periodo en el cual se desarrollan las estructuras desde presuntos cigotos hasta blastocistos. Este periodo está comprendido entre el día 1 y el 7 del desarrollo embrionario y corresponde al paso más prolongado dentro del proceso. Es el período que determina la eficiencia global del sistema, así como la calidad de los embriones obtenidos.

El mismo autor indica que el medio de cultivo es un aspecto fundamental en el cultivo embrionario, ya que debe proporcionar condiciones óptimas para el desarrollo del embrión. Se les aporta una fuente energética y una fuente de aminoácidos componentes esenciales. Los mismos, actúan como fuente de energía, reguladores del pH y precursores de proteínas y ácidos nucleicos. Resultan necesarios para almacenar proteína en los embriones, asociados a una división celular más rápida y blastocistos con mayor número de células.

1.10 Folltropin

La empresa Vetoquinol Especialidades Veterinarias (2024), señala que el producto Folltropin se compone de un extracto de glándulas pituitarias de cerdos, que contiene principalmente hormona foliculoestimulante (FSH) y una pequeña cantidad de hormona luteinizante (LH). La FSH es crucial para iniciar la actividad ovárica, pues impulsa el desarrollo de los folículos en los ovarios. Cuando se administra FSH externa a mamíferos durante el inicio de la ola folicular, se estimula el crecimiento de folículos mayores a 1,7 mm de diámetro, los cuales normalmente se degenerarían durante el ciclo estral. Para que varios folículos en crecimiento alcancen la madurez necesaria y puedan responder a la LH en las etapas finales de maduración y ovulación, se requiere un estímulo continuo de FSH durante aproximadamente 4 días. En el caso del ganado bovino, se ha observado que los óvulos fecundados resultantes de la superovulación con FSH, PMSG y otros fármacos con altos niveles de LH, muestran una fertilización reducida. Cuando se aplica por vía intramuscular, la FSH de Folltropin se absorbe velozmente desde el punto de inyección. Su vida media es de 5 horas y no se detecta en la sangre después de 12 horas de la aplicación. El hígado se encarga de inactivar la FSH, y los riñones la eliminan del organismo.

Figura 2. Folltropin



Fuente: Vetoquinol Especialidades Veterinarias (2024).

CAPITULO II

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Ubicación

El cantón Pedernales se encuentra ubicado al norte de la Provincia de Esmeraldas en Ecuador, al sur con los cantones Jama y Chone, al oeste con el Océano Pacífico.

Figura 3. Mapa del Cantón Pedernales



Fuente: Ecured (2024)

El presente trabajo de investigación se realizó en la Hacienda La Diligencia propiedad del Sr. Bosco Mendoza, ubicada en el sector La Chorrera del cantón Pedernales de la provincia de Manabí.

2.2. Diseño experimental

Para el presente estudio se empleó la T-Student, con dos tratamientos (aplicando Folltropin® y sin aplicación de Folltropin®) y diez repeticiones.

2.3. Variables en estudio

2.3.1 Variable independiente

- Folltropin® sobre la producción de embriones (2,5 ml).

2.3.2 Variables dependientes

- Cantidad de embriones viables (n).
- Cantidad de ovocitos clivados.

2.4. Tratamientos

Los tratamientos corresponden a la adición de Folltropin® sobre la producción de embriones expuestos en la siguiente tabla:

Tabla 1: Descripción de los tratamientos.

Simbología	Probiótico
T0	Sin Folltropin® sobre la producción de embriones.
T1	Folltropin® sobre la producción de embriones (2,5 ml).

Fuente: Elaboración Propia

2.5. Unidades experimentales

Las unidades experimentales se constituyeron por un total de 10 vacas cíclicas de raza Guzarat con un peso promedio de 450 kg, condición corporal de 3 a 3,5 y edad promedio de 36 a 50 meses. El total de los animales que pasaran por ambos grupos experimentales tratados con y sin FSH de acuerdo con el momento de la ejecución del experimento.

2.6. Variables dependientes

2.6.1. Cantidad de embriones viables (n):

La evaluación de calidad se realizó mediante la observación de características morfológicas, tales como la forma, tamaño, simetría y la presencia de fragmentación. Los embriones se clasificarán en tres categorías según su calidad: grado 1, grado 2 y grado 3. Aquellos clasificados como grado 1 presentan la mejor calidad, mientras que los embriones de grado 2 se consideran de calidad media. Por otro lado, los embriones clasificados como grado 3 no exhiben una buena calidad y tienen una capacidad de implantación inferior.

2.6.2. Cantidad de ovocitos clivados:

La evaluación del clivaje fue determinada por observación directa de los embriones bajo estereomicroscopio a las 48 hp0i registrando el número de embriones en cada estadio de acuerdo con los siguientes criterios: No clivados 1 célula; 1er clivaje 2 células; 2do clivaje 4 células; 3er clivaje 5-8 células.

2.7. Variable independiente

2.7.1. Folltropin® sobre la producción de embriones (2,5 ml).

En este estudio se realizó aspiración folicular con sincronización previa durante la onda folicular, FSH Folltropin® se administra de la siguiente manera: Día 0 2.mg BE (Gonadiol®, Zoetis, Argentina), 0,5 mg P4 unidad de aplicación.

Progesterona inyectable de 50 mg (Gestavec® 25, Vecol) IM 1 ½ x 18 g de aguja vacía, 50 mg de FSH inyectados cuatro días después (Folltropin®, Vetoquinol) El día 5 se retira el dispositivo y se realiza la aspiración.

2.8. Manejo del ensayo

- **Protocolo de Aplicación de FOLLTROPIN®**

El protocolo de superovulación con Folltropin®, detalla un esquema de administración de hormonas para la estimulación ovárica en un proceso de reproducción asistida.

A continuación, se describen los datos clave de la tabla:

Día 0 (8 am):

Coloque un dispositivo intravaginal.

Se administra 50 mg de progesterona y 2 mg de benzoato de estradiol.

Día 4 al Día 7:

Se administra 2 ml de Folltropin-V con diferentes concentraciones de NIH-FSH-P1 (hormona foliculoestimulante).

En los días 6 y 7, también se aplica 2 ml de PGF2 α para inducir la luteólisis.

Día 9:

En la mañana, se detecta el celo y se administra 3 ml de GnRH (hormona liberadora de gonadotropinas).

En la noche, se realiza la inseminación artificial.

Día 10 (8 am):

Se repite la inseminación artificial.

Día 15 (8 am):

Se lleva a cabo la colección de embriones.

- **Maduración**

Colocar los ovocitos en una incubadora con medio de cultivo durante 22 a 24 horas. La temperatura ideal para la incubación de embriones bovinos se mantiene a 38,5°C y se recomienda una humedad relativa del 85%. Todo el proceso se lleva a cabo en una incubadora THERMO 3031 equipada con aislamiento de poliuretano libre de CFC/HFC para garantizar una temperatura óptima y evitar la condensación. La puerta climatizada Smart Energy Control evita la condensación incluso a bajas temperaturas y dispone de una sofisticada función de temporizador que puede funcionar en modo semanal, diario o instantáneo. En este proceso se utilizó el medio TCM-199, que es rico en nutrientes, este medio se utiliza para la maduración de los óvulos y cultivo de embriones.

- **Fertilización**

El medio TALP IVF enriquecido con 20 μ M de penicilina, 10 μ M de hipotaurina y 1 μ M de epinefrina (PHE) se utilizó como suplemento antioxidante y estimulador de la motilidad de los espermatozoides y de la reacción del acrosoma. Además, también se añadió heparina para promover la capacitación de los espermatozoides y se añadió piruvato 1 mM. Después de 24 h de maduración in vitro (MIV), los ovocitos se lavaron

con medio de FIV y se dividieron en grupos de 9 a 15 ovocitos en 50 μ l de gotas de FIV de complejo cúmulo-ovocito (COC).

Los espermatozoides se conservaron previamente en un tanque de nitrógeno, se descongelaron a 35 °C durante 40 segundos y luego se condensaron utilizando un gradiente de densidad. Los espermatozoides de mejor calidad y más móviles llegan al fondo del tubo y se mueven a través del medio, aumentando su densidad. Este proceso provoca cambios bioquímicos en los espermatozoides, haciendo que se vuelvan hiperactivos y promuevan la reacción del acrosoma, que conduce a la fertilización del óvulo.

La capacitación espermática se realizó utilizando gradientes de densidad del 90% y 45%, Bovipure, y se almacenaron en tubos Eppendorf en el siguiente orden. Coloque una pipeta que contenga 500 μ L de esperma sobre estos gradientes sin alterarlos. Luego, la mezcla se centrifugó a 700 \times g durante 10 min, se eliminó el sobrenadante y el pellet resultante se disolvió en 500 μ l de medio de FIV y se centrifugó nuevamente a 700 \times g durante 5 min. Finalmente, el pellet se diluyó con medio de FIV hasta una concentración final de 2×10^6 espermatozoides/ml y se agregaron 10 μ l de la dilución a la gota de fertilización.

- **Cultivo de embriones**

Al final del período de fecundación, los óvulos potencialmente fecundados se retiran del medio de FIV. En la primera fase se extraen las células caliciformes que rodean al óvulo que se espera fecundado y luego se clasifican. Los óvulos fecundados, que tienen sus células del cúmulo separadas y son de mayor calidad, se transfieren al sistema de cultivo.

Las células del cúmulo se pueden eliminar mediante un pipeteo suave, la aplicación de hialuronidasa o mediante un vórtex. La clasificación de los cigotos potenciales se realizó de acuerdo con los criterios establecidos para la clasificación de ovocitos, con énfasis en el análisis citoplasmático. El objetivo fue excluir estructuras que tuvieran citoplasma claro u oscuro, signos de apoptosis o signos de degeneración.

El cultivo de embriones cubre el período desde el posible óvulo fertilizado hasta la formación del blastocisto y se desarrolla entre el día uno y siete del desarrollo embrionario.

2.9. Análisis estadístico

Los resultados obtenidos en las variables se analizaron con el software estadístico InfoStat; se incluyó una prueba de T-Student con el 5% de probabilidad, las variables porcentaje de ovocitos clivados y porcentaje de embriones se sometieron a este análisis.

CAPITULO III

3. EVALUACIÓN DE LOS RESULTADOS

Los resultados obtenidos en las variables se analizaron con el software estadístico InfoStat; se incluyó una prueba de comparación de medias T-Student y con el 5% de probabilidad, las variables en estudio son: porcentaje de ovocitos clivados y porcentaje de embriones.

3.1. Cálculo del porcentaje de ovocitos clivados producidos *in vitro* con y sin la aplicación de Folltropin®

Como podemos observar en la tabla 2 de Prueba de T-Student, el p-valor es mayor a 0,05 por lo que no hay significancia en las variables.

Tabla 2. Prueba T-Student del % de clivaje

TRATAMIENTO	MEDIA FIRMEZA	p-valor
Con Folltropin®	70,90	0,5347
Sin Folltropin®	75,70	

Fuente: Elaboración propia

En la investigación de Villamil, (2019) indica que la donadora es la que afecta el desempeño del semen en cada trabajo obteniendo porcentajes de clivaje altos y bajos, encontrando el porcentaje más alto corresponde al toro raza JDH Clanton de manso 313/8 con un 67%, y el más bajo con un toro raza Corbyn Lotto 27 con un 18%, cabe señalar que el trabajo se desarrolló sobre el número de ovocitos totales sin tener en cuenta la clasificación ovocitaria, lo que nos podría indicar que el comportamiento irregular de los toros se debe a la calidad de los ovocitos de cada donadora.

El mismo autor indica que la variación del clivaje depende de que la calidad del ovocito puede estar afectada por factores endógenos como especies reactivas de oxígeno del

metabolismo y exógenos como estrés por calor y malnutrición, los cuales pueden conducir a un deterioro progresivo de la calidad de los ovocitos, trayendo consigo un fallo de la fecundación y una menor tasa de desarrollo después de la fertilización.

Filipiak et al, (2017) obtuvieron en su investigación un 88 % de clivaje y un 34 % de desarrollo, si bien obtuvieron un clivaje mayor. En ese mismo estudio se comparó también dos métodos de capacitación de semen, el método del Percoll vs. centrifugación simple en Talp-Sperm (sin seleccionar vivos de muertos) y obtuvieron un mayor clivaje y desarrollo con el método del Percoll que selecciona vivos de muertos. Además, encontraron que se producen anomalías cromosómicas cuando el semen está más concentrado, así como cuando no se separa a los espermatozoides muertos.

3.2. Cálculo del porcentaje de embriones producidos *in vitro* con y sin la aplicación de Folltropin®

Como se evidencia en la tabla 3 prueba de T-Student, el p-valor es mayor a 0,05 por lo que no hay significancia en las variables.

Tabla 3. Prueba T-Student del % de embriones

TRATAMIENTO	MEDIA FIRMEZA	p-valor
Con Folltropin®	11,70	0,5742
Sin Folltropin®	14,20	

Fuente: Elaboración propia

Salinas (2013), al evaluar la eCG añadida a un tratamiento superovulatorio con la finalidad de incrementar el número de embriones viables y transferibles. Seleccionó 20 vacas donantes Holstein Friesian y divididos en dos grupos de 10: Grupo 1.- Vacas tratadas con (eCG más Folltropin-V), y Grupo 2.- Vacas tratadas con (Folltropin-V). Grupo 1.- el día 0, aplicación intravaginal del dispositivo CIDR; más 3 mg (BE) y (P4) 100mg. IM.; el día 4, se aplicó Folltropin-V (FSH-p) IM cada 12 horas en dosis decrecientes durante cuatro días; el día 6, se aplicó dos veces de PGF2a 2ml IM cada 12 horas; el día 7, se retiró el implante y se aplicó dos dosis de 200 UI de eCG cada 12 horas; El día 8, se inyectó 2,5 ml de (250 ug de Buseralina) y se inseminó 3 veces cada 12 horas. Mientras que el Grupo 2 se procedió de la misma manera, excluyendo la eCG. El día 15,

se recolectó los embriones para su evaluación y clasificación. Para el análisis de las variables cuerpos lúteos, total de estructuras colectadas, embriones transferibles se utilizó el Análisis de Varianza y Chi-cuadrado; concluyendo que no hubo significancia estadística alguna ($P > 0.05$) y que la eCG adicionada a Folltropin® no dio la respuesta esperada.

Mientras que Mendoza (2024), al evaluar el efecto de la hormona foliculoestimulante (FSH-Folltropin®) sobre la producción de embriones *in vitro* en bovinos. Para su determinación se desplegó un diseño experimental Cross Over, en el cual se trataron 25 vacas cíclicas de razas cebuinas, con un peso promedio de 350 kg, condición corporal de 3 a 3,5 y una edad promedio de 36 a 50 meses, mismas que pasaron por ambos grupos experimentales (con y sin tratamiento), en complemento, se determinaron los parámetros de las variables de estudio mediante modelos lineales generalizados mixtos, con un nivel de significancia del 5 %. Los resultados mostraron que la administración de FSH fue significativamente superior ($p < 0,0001$) al tratamiento control, al presentar mayores cantidades de folículos estimulados, de ovocitos viables y embriones transferibles.

Por otra parte, en la investigación de Vieira y Mapletoft, (2015), determinaron que la super estimulación de donantes Holstein con FSH aumentó la eficiencia de la producción *in vitro* al mantener más embriones viables que el tratamiento sin FSH.

CAPITULO IV

CONCLUSIONES

- La administración de la hormona foliculoestimulante (FSH - Folltropin®) en bovinos de raza Guzerat, con una dosis aplicada de 2,5ml no aumentó la producción de embriones bovinos *in vitro*, por lo que se rechaza la hipótesis alternativa y se acepta la hipótesis nula.
- En el análisis de varianza del porcentaje de ovocitos clivados se evidencio que el p-valor es mayor a 0,05 en ambos tratamientos lo que nos indica que no hay significancia en las variables es decir que la aplicación de la FSH no generó ningún impacto en las vacas en estudio.
- El mayor porcentaje de ovocitos clivados se obtuvo en el tratamiento T (0) el cual corresponde a la no aplicación de Folltropin® en la producción de embriones bovinos *in vitro* con un 75,70 % en comparación al tratamiento T (1) el cual es el método que si se le aplico el Folltropin® mismo que obtuvo el 70,90% ovocitos clivados.
- En el análisis de varianza del porcentaje de embriones bovinos producidos *in vitro* se demostró que el p-valor es mayor a 0,05 en ambos tratamientos lo que nos indica que no hay significancia en las variables es decir que la aplicación de la FSH no generó ningún impacto en las vacas en estudio.
- El mayor porcentaje de embriones producidos *in vitro* se obtuvo mediante el tratamiento T (0) al cual no se le aplico Folltropin® en la producción de embriones con un 14,20 % en comparación al tratamiento T(1) el cual es el método que si se le aplicó el Folltropin® obtuvo el 11,70% de porcentaje de embriones.

CAPITULO V

RECOMENDACIONES

- Realizar investigaciones adicionales que exploren la aplicación de diversas dosis de FSH en otras razas para obtener una perspectiva más integral y evidenciar si es la raza que afecta en la producción de embriones bovinos in vitro.
- Dado la baja producción ovocitos clivados y de embriones con la aplicación del FSH, se sugiere no considerar el uso de este foliculoestimulante en vacas de raza Guzerat.

BIOBLOGRAFÍAS

- Universidad Nacional Autónoma de México. (2021). *Universidad Nacional Autónoma de México*. Retrieved 8 de octubre de 2024, from REPRODUCCIÓN DE ANIMALES DOMESTICOS: <https://reproduccionanimalesdomesticos.fmvz.unam.mx/libro/capitulo23/clasificacion-ovocitos.html>
- Arias, C., Ruiz, T., Olivera, M., y Tarazona, A. (15 de diciembre de 2007). *EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON ALANINA Y GLICINA SOBRE LOS CLIVAJES INICIALES DE EMBRIONES BOVINOS PRODUCIDOS IN VITRO*. Retrieved 20 de noviembre de 2024, from file:///C:/Users/USUARIO/Downloads/Dialnet-EfectoDeLaSuplementacionConAlaninaYGlicinaSobreLos-2917354.pdf
- Asocebú. (2022). *ASOCEBÚ*. Retrieved 8 de octubre de 2024, from El Guzerá en Colombia: <https://www.asocebu.com/index.php/razas/guzera>
- Astiz, S., Romero, J., Poto, A., y Ruiz, S. (2020). *Producción de embriones in vitro*. Retrieved 10 de octubre de 2024, from <https://www.revistafrisona.com/portals/0/articulos/n188/a18802.pdf>
- Bueno, B. (15 de marzo de 2023). *Quiron Salud*. Retrieved 10 de octubre de 2024, from <https://www.quironsalud.com/es/comunicacion/actualidad/maduracion-in-vitro-de-ovocitos-una-opcion-de-reproduccion#:~:text=La%20maduraci%C3%B3n%20in%20vitro%20de%20ovocitos%20es%20una%20t%C3%A9cnica%20de,embriones%20a%20partir%20de%20ellos>.
- Campoverde, D., Mancheno, P., Llerena, J., y Mancheno, C. (enero de 2024). *Dominio de las ciencias*. Retrieved 10 de octubre de 2024, from <https://dominiodelasciencias.com/ojs/index.php/es/article/download/3771/8048/17678>
- Champang, E. (2019). *maduración del ovocito*. Retrieved 8 de octubre de 2024, from <https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/10850/egr03de10.pdf;jsessionid=7500C695E4A2948770A94F8E458F4AB0?sequence=3>

- Comín, J. (2021). *Kitazato*. Retrieved 10 de octubre de 2024, from <https://kitazato-ivf.com/es/ivf-lifecycle/cultivo-embrionario/>
- Diéz, C., Muñoz, M., Caamaño, J., y Gómez, E. (2010). *Biotechnologías reproductivas: Producción y criopreservación de embriones in vitro*. Revista Tecnología Agroalimentaria. N° 8. Pp. 41 - 46: <https://www.serida.org/publicacionesdetalle.php?id=4578>
- ECURED. (2024). *Cantón El Carmen (Ecuador)*. Retrieved 2024, from https://www.ecured.cu/Cant%C3%B3n_El_Carmen_%28Ecuador%29
- Farfan, C. (2019). *Journal Manager*. Retrieved 8 de octubre de 2024, from [file:///C:/Users/USUARIO/Downloads/publicaroracv,+Journal+manager,+Archivo_editado%20\(1\).html](file:///C:/Users/USUARIO/Downloads/publicaroracv,+Journal+manager,+Archivo_editado%20(1).html)
- Fernández, A., Díaz, T., y Muñoz, G. (2007). *Producción invitro de embriones bovinos*. Revista de la Facultad de Ciencias Veterinarias, UCV, vol. 48, núm. 1, : <https://www.redalyc.org/pdf/3731/373139068005.pdf>
- Filipiak, Y., Larocca, C., y Martinez, M. (2017). *Comportamiento del Semen Bovino Sexado Congelado-Descongelado en Fertilización in vitro (FIV) Capacitado Mediante BO en dos Concentraciones versus Percoll*. Retrieved 20 de noviembre de 2024, from https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-95022017000401337
- Filipiak, Y., Viqueira, M., y Bielli, A. (2016). *Desarrollo y dinámica de los folículos ováricos desde la etapa fetal hasta la prepuberal en bovinos*. Revista Veterinaria (Montev.) vol.52 no.202 : http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1688-48092016000200002#:~:text=El%20desarrollo%20folicular%20es%20un,resultando%20en%20un%20proceso%20continuo.
- Genética Tricolor. (2021). *Genética Tricolor*. Retrieved 8 de Octubre de 2024, from Guzerat Lechero: <https://geneticatricolor.com/home/categoria-producto/venta-de-semen/razas-lecheras-tropico/semen-guzerat-leche/>

- Gonella, A., Atuesta, J., Bernal, S., y Chacon, L. (junio de 2013). *Generalidades de la producción de embriones bovinos in vitro*. Retrieved 10 de octubre de 2024, from https://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/transplante_embriionario/39-generalidades_de_la_produccion.pdf
- Gonella, Á., Atuesta, J., Bernal, S., y Chacón, L. (2013). *Generalidades de la producción de embriones bovinos in vitro*. Universidad Nacional Abierta y a Distancia - Dialnet: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6285691>
- Hernández, J. (2016). *Fisiología Clínica de la reproducción de bovinos lecheros*. Universidad Nacional Autónoma de México. 1era edición: https://www.fmvz.unam.mx/fmvz/publicaciones/archivos/Fisiologia_Clinica.pdf
- Lino, A., y Chasi, B. (junio de 2011). *Efecto de dos medios de maduración sobre la producción de embriones partenogénéticos en bovinos*. Retrieved 21 de noviembre de 2024, from <https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/3288c0ea-246c-45fe-acf9-9f7097f4ebce/content>
- Mancheno, C., Campoverde, D., Mancheno, P., y Llerena, J. (12 de marzo de 2024). *Revista Científica Dominio de las Ciencias*. Retrieved 9 de octubre de 2024, from <file:///C:/Users/USUARIO/Downloads/Maduraci%C3%B3n+in+vitro+de+ovocitos,+an%C3%A1lisis+y+perspectivas+en+la+reproducci%C3%B3n+animal.pdf>
- Marbello, A. (21 de marzo de 2024). *Cuidate plus*. Retrieved 9 de octubre de 2024, from <https://cuidateplus.marca.com/reproduccion/fertilidad/diccionario/desarrollo-embriionario.html>
- Mendoza, B. (2024). *Efecto de la aplicación de FSH (FOLLTROPIN®) en la producción de embriones bovinos in vitro*. Tesis Med. Vet. Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí: <https://repositorio.espam.edu.ec/handle/42000/2390>
- Mendoza, B., y Jiron, J. (junio de 2022). *Producción in vitro de embriones bovinos utilizando InsulinaTransferrina-Selenio (ITS) en el medio de maduración*. Retrieved 20 de noviembre de 2024, from <https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/697f1641-ca57-4169->

95b2-

9cf43444221e/content#:~:text=Luego%20de%20la%20fertilizaci%C3%B3n%20de,y%20para%20el%20control%20respectivamente.

Mihura, H. (diciembre de 2023). *Facultad de ciencias veterinaria UNCPBA*. Retrieved 10 de octubre de 2024, from Producción in vitro de embriones bovinos: <https://ridaa.unicen.edu.ar:8443/server/api/core/bitstreams/0afc785d-e335-448a-a03a-e9828b2ccfe5/content>

Mogollón, É., y Burla, A. (2013). *Superovulación de hembras bovinas : alternativas para reducir el número de inyecciones de FSH*. Revista Spei Domus. Vol. 9 Núm. 18: <https://revistas.ucc.edu.co/index.php/sp/article/view/545>

Morera, A., Velasco, E., Héras, S., Romero, J., y Ruiz, S. (2022). *Respuesta a la estimulación ovárica mediante FSH (Folltropin®) y rendimiento de OPU en vacas adultas obtenidas por diferentes técnicas de reproducción asistida*. Anales de Veterinaria de Murcia. Vol. 36: <https://revistas.um.es/analesvet/article/view/538651>

Mucci, N., Aller, J., Kaiser, G., Hozbor, F., y Alberio, R. (2006). *Producción in vitro de embriones bovinos : suplementación de los medios de cultivo con suero*. Arch. med. vet. v.38 n.2 Valdivia : https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0301-732X2006000200002

Mucci, N., Faller, Kaiser, G., Hozbor, F., y Alberio, H. (2006). *Producción in vitro de embriones bovinos : suplementación de los medios de cultivo con suero*. Retrieved 10 de octubre de 2024, from Scielo: https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0301-732X2006000200002

Peláez, V. (2011). *Producción in vitro de embriones bovinos*. Universidad de Cuenca: <https://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/3053/1/mv170.pdf>

Peña, M., Góngora, A., y Estrada, J. (2007). *Factores de crecimiento en el desarrollo folicular, embrionario temprano e implantación. implicaciones en la producción de embriones bovinos*. Rev.MVZ Cordoba vol.12 no.1 :

http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0122-02682007000100010

Ramírez, J. (2020). *Formación en producción in vitro de embriones y biotecnologías reproductivas aplicadas al mejoramiento genético de los hatos ganaderos en Antioquia*. Tesis Biología. Universidad CES : https://repository.ces.edu.co/bitstream/handle/10946/5135/RAMIREZ%20OROZCO%20_2020_%20Formacion%20en%20Produccion%20in%20vitro%20de%20embriones%20bovinos.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Ruiz, N. (2020). *Instituto Bernabeu*. Retrieved 8 de octubre de 2024, from Ovocitos: Tipos y capacidad de desarrollo embrionario: <https://www.institutobernabeu.com/es/foro/tipos-de-ovocitos-y-su-capacidad-de-desarrollo-embrionario/>

Salazar, I. (mayo de 2010). *Universitat Autònoma de Barcelona*. Retrieved 9 de octubre de 2024, from <https://www.uab.cat/web/detalle-noticia/interrelacion-entre-evolucion-y-desarrollo-embrionario-1345680342040.html?articleId=1272870274492#:~:text=El%20desarrollo%20embrionario%20es%20un,redes%20de%20interacci%C3%B3n%20entre%20genes>.

Salinas, D. (2013). *Efecto de la aplicación gonadotrofina coriónica equina (ECG) en vacas donantes superovuladas con folltropin-v (FSH-P liofilizada)*. Tesis Maestría en Reproducción Animal. Universidad de Cuenca: <https://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/3410>

Tovío, N., Duica, A., y Grajales, H. (Mayo de 2008). *Scielo*. Retrieved 9 de octubre de 2024, from DESARROLLO EMBRIONARIO Y ESTRATEGIAS ANTILUTEOLITICAS HORMONALES EN PROGRAMAS DE TRANSPLANTE DE EMBRIONES BOVINOS: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0122-02682008000100015

UNAN. (2021). *Universidad Nacional Autónoma de México*. Retrieved 9 de Octubre de 2024, from

<https://reproduccionanimalesdomesticos.fmvz.unam.mx/libro/capitulo23/maduracion-ovocitos.html>

Vetoquinol Especialidades Veterinarias. (2024). *Folltropin-V*.
<https://www.vetoquinol.es/products/folltropin-v>

Vieira, y Mapletoft. (diciembre de 3 de 2015). 248 *ESTRATEGIAS DE SUPERESTIMULACIÓN PARA LA OBTENCIÓN DE ÓVULOS EN DONANTES HOLSTEIN*. Retrieved 20 de Noviembre de 2024, from <https://www.publish.csiro.au/rd/Fulltext/RDv28n2Ab248>

Villamil, E. (2019). *TASA DE CLIVAJE CON SEMEN CONGELADO DE TOROS BRAHMAN EN FERTILIZACIÓN IN VITRO*. Retrieved 20 de noviembre de 2024, from <https://repository.udca.edu.co/server/api/core/bitstreams/41fc4f1f-2b1e-4930-8f0a-1300d56e33be/content>

Zambrano, F., Hurtado, E., Arteaga, F., y Mendieta, D. (2020). *Dos protocolos de superovulación en donantes de embriones en*. Revista La técnica. Número 23.:
<https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/8232834.pdf>

ANEXOS

ANEXO 1
Unidad experimental



ANEXO 2
Aplicación de Folltropin



ANEXO 3
Aspiración de ovocitos



ANEXO 4
Selección de ovocitos



ANEXO 5
Aspiración de ovocitos



ANEXO 6
Ecógrafo para aspiración de ovocitos



ANEXO 7
Lugar de trabajo



ANEXO 8
Ovocitos seleccionados



ANEXO 9
Ovocitos Maduros



ANEXO 10
Embriones



ANEXO 11

Certificado de similitud Compilato



CERTIFICADO DE ANÁLISIS
magister

TESIS YOEL CEDEÑO

7%
Textos sospechosos

7% Similitudes
de similitudes entre el texto
y otros los textos (excluyendo
idiomas no reconocidos (ignorados))

Nombre del documento: TESIS YOEL CEDEÑO.docx
ID del documento: 6bd19b0562cf5b6996b69f6a520cb42e28c0c8
Tamaño del documento original: 2,02 MB
Autores: []

Depositante: David Vera Bravo
Fecha de depósito: 21/12/2024
Tipo de carga: Interface
Fecha de fin de análisis: 21/12/2024

Número de palabras: 7122
Número de caracteres: 50.334

Ubicación de las similitudes en el documento:



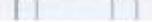
Fuentes principales detectadas

Nº	Descripciones	Similitudes	Ubicaciones	Datos adicionales
1	www.aspe.edu.ec Guayaquil <small>https://www.aspe.edu.ec/aspe/index.php?option=com_content&view=category&layout=editors&Itemid=133&lang=es</small> 5 fuentes similares	3%		2 Publicaciones detectadas: 3% (22 palabras)
4	dipacat.uzuzuma.edu.ec Dirección de la aplicación general de la certificación de calidad (DIPACAT) de la Universidad de Zamora <small>https://dipacat.uzuzuma.edu.ec/index.php?option=com_content&view=category&layout=editors&Itemid=133&lang=es</small>	3%		2 Publicaciones detectadas: 3% (22 palabras)
3	www.uzuzuma.edu.ec <small>https://www.uzuzuma.edu.ec/index.php?option=com_content&view=category&layout=editors&Itemid=133&lang=es</small> 27 fuentes similares	2%		2 Publicaciones detectadas: 2% (10 palabras)
4	repositorio.uzuzuma.edu.ec <small>https://repositorio.uzuzuma.edu.ec/index.php?option=com_content&view=category&layout=editors&Itemid=133&lang=es</small> 3 fuentes similares	2%		2 Publicaciones detectadas: 2% (10 palabras)
5	repositorio.uzuzuma.edu.ec <small>https://repositorio.uzuzuma.edu.ec/index.php?option=com_content&view=category&layout=editors&Itemid=133&lang=es</small> 3 fuentes similares	2%		2 Publicaciones detectadas: 2% (10 palabras)

Fuentes con similitudes fortuitas

Nº	Descripciones	Similitudes	Ubicaciones	Datos adicionales
1	www.dial.org <small>https://www.dial.org/16377206423</small>	< 1%		2 Publicaciones detectadas: < 1% (2 palabras)
2	repositorio.aspe.edu.ec <small>https://repositorio.aspe.edu.ec/index.php?option=com_content&view=category&layout=editors&Itemid=133&lang=es</small>	< 1%		2 Publicaciones detectadas: < 1% (2 palabras)
3	dipacat.uzuzuma.edu.ec <small>https://dipacat.uzuzuma.edu.ec/index.php?option=com_content&view=category&layout=editors&Itemid=133&lang=es</small>	< 1%		2 Publicaciones detectadas: < 1% (2 palabras)
4	repositorio.uzuzuma.edu.ec <small>https://repositorio.uzuzuma.edu.ec/index.php?option=com_content&view=category&layout=editors&Itemid=133&lang=es</small>	< 1%		2 Publicaciones detectadas: < 1% (2 palabras)
5	dial.org <small>https://dial.org/16377206423</small>	< 1%		2 Publicaciones detectadas: < 1% (2 palabras)

Fuentes ignoradas Estas fuentes han sido retiradas del cálculo del porcentaje de similitud por el propietario del documento.

Nº	Descripciones	Similitudes	Ubicaciones	Datos adicionales
1	www.dial.org <small>https://www.dial.org/16377206423</small>	3%		2 Publicaciones detectadas: 3% (12 palabras)
2	dipacat.uzuzuma.edu.ec <small>https://dipacat.uzuzuma.edu.ec/index.php?option=com_content&view=category&layout=editors&Itemid=133&lang=es</small>	3%		2 Publicaciones detectadas: 3% (12 palabras)
3	repositorio.espe.edu.ec Repositorio Digital ESPAM: Plataforma de acceso digital al repositorio de la Universidad de Esmeraldas <small>https://repositorio.espe.edu.ec/index.php?option=com_content&view=category&layout=editors&Itemid=133&lang=es</small>	2%		2 Publicaciones detectadas: 2% (8 palabras)
4	repositorio.uzuzuma.edu.ec <small>https://repositorio.uzuzuma.edu.ec/index.php?option=com_content&view=category&layout=editors&Itemid=133&lang=es</small>	2%		2 Publicaciones detectadas: 2% (8 palabras)
5	dial.org <small>https://dial.org/16377206423</small>	2%		2 Publicaciones detectadas: 2% (8 palabras)

Fuentes mencionadas (sin similitudes detectadas) Estas fuentes han sido citadas en el documento sin encontrar similitudes.

-  <https://www.tds.cat/hispanicam/handle/10803/10850/eg93te10.pdf?sessionid=7500C695E4A294870A94F81458F4AB0&sequence=3>
-  <https://www.serifa.org/publicaciones/detalle.php?id=4578>