

UNIVERSIDAD PERUANA LOS ANDES

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



TESIS

TÍTULO : **SINCRONIZACIÓN DE ONDA FOLICULAR CON PROGESTERONAS PARA LA RECOLECCIÓN DE OVOCITOS GUIADA POR ULTRASONOGRAFÍA EN VACAS BROWN SWISS, HUANCAYO - 2021**

Para Optar el : Título Profesional de Médico Veterinario y Zootecnista

Autor : Bachiller Neale Hilton Santiago Inga

Asesor : Mg. M.V. Cecil Rivera Palomino

Línea de Investigación Institucional : Salud y Gestión de la Salud

Fecha de inicio y culminación : Setiembre 2020 – enero 2021

Huancayo, Perú 2022

DEDICATORIA

A Dios, por el milagro de la vida, a mis Padres Digna y Baudilio, por su constante apoyo y amor incondicional, a Isamar y Nathan, por la alegría y motivación que le aportan a mi existencia y a Helen por el impulso y ejemplo como hermana.

AGRADECIMIENTOS

- A mi alma máter la Universidad Peruana Los Andes y a mi Escuela Profesional de Medicina Veterinaria y Zootecnia, por todos estos años de innumerables enseñanzas, no solo me enseñaron a ser profesional, sino también a ser una persona de bien.
- Al MV. Juan Carlos Solano Ayala, director de la Escuela Profesional, por sus grandiosas enseñanzas y su invaluable amistad.
- Al MV. Cecil Rivera Palomino por su apoyo incondicional y constante, en el desarrollo de este trabajo de investigación.
- Al Dr. Carlos Quispe Eulogio y la Dra. Edith Ancco Gómez quienes facilitaron y permitieron la ejecución de la presente tesis.
- Todos y cada uno de ustedes formaron parte de este logro. Muchas Gracias.

CONTENIDO

CONTENIDO DE FIGURAS.....	6
CONTENIDO DE TABLAS.....	7
RESUMEN	8
ABSTRACT	9
INTRODUCCIÓN.....	10
1. CAPÍTULO I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	12
1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	12
1.2. DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA.....	13
1.3. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	13
1.3.1. PROBLEMA GENERAL	13
1.3.2. PROBLEMAS ESPECÍFICOS	13
1.4. JUSTIFICACIÓN.....	14
1.4.1. JUSTIFICACIÓN SOCIAL.....	14
1.4.2. JUSTIFICACIÓN TEÓRICA.....	14
1.4.3. JUSTIFICACIÓN METODOLÓGICA.....	15
1.5. OBJETIVOS.....	15
1.5.1. OBJETIVO GENERAL.....	15
1.5.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
2. CAPITULO II. MARCO TEÓRICO	16
2.1. ANTECEDENTES DE ESTUDIO	16
2.1.1. A NIVEL INTERNACIONAL:.....	16
2.1.2. A NIVEL NACIONAL:	18
2.2. BASES TEÓRICAS	21
2.3. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS	33
3. CAPÍTULO III. HIPÓTESIS Y VARIABLES.....	35
3.1. HIPÓTESIS.....	35
3.2. VARIABLES	36
3.3. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES	36
4. CAPÍTULO IV. METODOLOGÍA	37
4.1. MÉTODO DE INVESTIGACIÓN.....	37

4.2.	TIPO DE INVESTIGACIÓN	37
4.3.	NIVEL DE INVESTIGACIÓN.....	37
4.4.	DISEÑO DE INVESTIGACIÓN	37
4.5.	POBLACIÓN Y MUESTRA	38
4.6.	TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS.....	39
4.7.	ASPECTOS ÉTICOS DE LA INVESTIGACIÓN	43
5.	CAPÍTULO V. RESULTADOS	45
5.1.	DESCRIPTIVOS ESTADÍSTICOS.....	45
5.4.	ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	52
5.5.	CONCLUSIONES.....	56
5.6.	RECOMENDACIONES.....	57
	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58
	ANEXOS	64
	MATRIZ DE CONSISTENCIA	65
	OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES.....	66
	FICHAS DE RECOLECCIÓN DE DATOS	67
	TABULACIÓN DE DATOS	71
	ANEXOS ESTADÍSTICOS	72
	ANEXO DE FIGURAS	78
	DECLARACIÓN JURADA DE AUTENTICIDAD DE TESIS	83
	DECLARACIÓN DE CONFIDENCIALIDAD.....	84
	COMPROMISO DE AUTORÍA	85

CONTENIDO DE FIGURAS

Figura N° 1 Población de Ganado Vacuno 2017	21
Figura N° 2 Onda folicular en la vaca	26
Figura N° 3 Tipos de Transductores.....	27
Figura N° 4 Dispositivos y hormonas empleadas.	40
Figura N° 5 Insertado de DIB en vacas de Grupo T1 y Grupo T2	40
Figura N° 6 Puesta de las hormonas de BE y CS.....	41
Figura N° 7 Diagrama del uso de equipos y materiales para OPU.....	42
Figura N° 8 Ejecución de OPU, mano izquierda palpación, mano derecha guía de aspiración folicular.....	42
Figura N° 9 Clasificación de los COCs.....	43
Figura N° 10 Gráfico de medias de la Tabla N° 4.	45

CONTENIDO DE TABLAS

Tabla N° 1 Clasificación de COCs por Categorías	32
Tabla N° 2 Operacionalización de las variables	36
Tabla N° 3 Técnicas para la recolección de datos	39
Tabla N° 4 Promedio de: Folículos recolectados de 2-4 mm, 4-8mm, N° total de folículos, N° Total de COCs Viables, N° Total de COCs No Viables y N° total de ovocitos recuperados; con dos tratamientos a base de dispositivo intravaginal Bovinos (DIB) de 1.2g y 0.6g de P ₄	45
Tabla N° 5 Promedio de Folículos recolectados de 2 a 4 mm post tratamiento de progesterona 1,2g en dispositivo intravaginal (DIB).....	46
Tabla N° 6 Promedio de folículos recolectados de 4 a 8 mm post tratamiento de progesterona 1,2 y 0,6g en dispositivo intravaginal (DIB).....	46
Tabla N° 7 Numero de folículos aspirados y ovocitos recuperados en vacas Brown Swiss tratadas con 1,2 y 0,6 g de progesterona en dispositivo intravaginal (DIB).....	47
Tabla N° 8 Medias ± D.E. de Folículos aspirados, COCs recuperados, COCs viables y COCs No Viables; en vacas Brown Swiss tratadas con 1,2 y 0,6 g de progesterona en dispositivo intravaginal (DIB).....	47
Tabla N° 9 HIPOTESIS ESPECÍFICA N° 1.	48
Tabla N° 10 HIPOTESIS ESPECÍFICA N° 2.	49
Tabla N° 11 HIPOTESIS ESPECÍFICA N° 3.	50
Tabla N° 12 HIPOTESIS ESPECÍFICA N° 4.	51

RESUMEN

La siguiente investigación tiene como objetivo principal evaluar el efecto de dos Dispositivos Intravaginales Bovinos (de 1.2g y 0.6g de P₄) en la sincronización de onda folicular para la posterior recolección de ovocitos por medio de OPU y comparar los resultados obtenidos tanto en número de folículos de 2 a 4mm, número de folículos de 4 a 8mm, número de COCs recuperados y calidad de COCs recuperados en ganado bovino; para la cual se emplearon 7 vacas secas mayores de 6 años de la raza Brown Swiss, las cuales son alimentadas únicamente al pastoreo. Para el proceso las vacas fueron sometidas a dos tratamientos; el T1: DIB de 1.2g de P₄ y el T2: DIB de 0.6g de P₄, logrando obtener 20 repeticiones por tratamiento. Para los tratamientos las vacas fueron sometidas a una sincronización de onda folicular: El día “0” se insertó el DIB Dispocel Plus® Von Franken de 1.2g de P₄ para el T1 y el DIB Dispocel® Von Franken de 0.6g de P₄ para el T2, además se les aplicó 1.2mg de Benzoato de estradiol (Estrovet®, Montana) y 0.524mg de Cloprostenol sódico (Lutaprost®, AgrovvetMarket); Al día “5” se realizó la colección por medio de OPU con el ecógrafo EsaoteVet® de MyLabOneVet con un transductor micro convexo a 7.5MHz por vía transvaginal con la guía de aspiración folicular WTA® Brasil, aspirando a 90mmHg. Los resultados obtenidos en la investigación, demuestran que el promedio de folículos recolectados y de ovocitos recuperados por animal en los dos tratamientos con diferentes dosis de progesterona (T1=1,2; T2=0,6), presentan valores de 8,85±3.33 y 11,75±2.67 (folículos recolectados) y de 3,55±2.33 (40.1%) y 4,75±2.34 (40.4%) (COCs recuperados) respectivamente. Los valores obtenidos y sometidos a una prueba estadística muestran diferencias estadísticamente significativas (p<0.05) entre los dos tratamientos, lo que indica que el uso de la progesterona de dosis 0,6g, influye significativamente en la obtención de folículos de 2 a 4mm (7.6±2.76) y en la calidad de COCs Viables recuperados (3.6±2.30).

Palabra Clave: Vacas, OPU, DIB, Aspiración folicular, Ovocito.

ABSTRACT

The following research has as main objective to evaluate the effect of two Bovine Intravaginal Devices (of 1.2g and 0.6g of P4) in the synchronization of follicular wave for the subsequent collection of oocytes by means of OPU and compare the results obtained in number of follicles from 2 to 4mm, number of follicles from 4 to 8mm, number of COCs recovered and quality of recovered COCs in cattle; for which 7 dry cows older than 6 years of Brown Swiss breed, which are fed only by grazing, were used. For the process, the cows were subjected to two treatments; T1: DIB of 1.2g of P4 and T2: DIB of 0.6g of P4, obtaining 20 replicates per treatment. For the treatments, the cows were subjected to follicular wave synchronization: On day "0" the DIB Dispocel Plus® Von Franken of 1.2g of P4 was inserted for T1 and the DIB Dispocel® Von Franken of 0.6g of P4 for T2, in addition to 1.2mg of Benzoate of estradiol (Estrovet®, Montana) and 0.524mg of Cloprostenol (Cloprostenol®, Montana) were applied. 524mg of Cloprostenol sodium (Lutaprost®, AgrovvetMarket). On day 5, the collection was performed by means of OPU with the EsaoteVet® ultrasound scanner of MyLabOneVet with a micro convex transducer at 7.5MHz through transvaginal route with the follicular aspiration guide WTA® Brazil, aspirating at 90mmHg. The results obtained in the research show that the average number of follicles collected and oocytes recovered per animal in the two treatments with different doses of progesterone (T1=1.2; T2=0.6), presented values of 8.85 ± 3.33 and 11.75 ± 2.67 (follicles collected) and 3.55 ± 2.33 (40.1%) and 4.75 ± 2.34 (40.4%) (COCs recovered) respectively. The values obtained and subjected to a statistical test show statistically significant differences ($p < 0.05$) between the two treatments, indicating that the use of 0.6g dose progesterone, significantly influences in obtaining follicles from 2 to 4mm (7.6 ± 2.76) and in the quality of Viable COCs recovered (3.6 ± 2.30).

Keyword: Cows, OPU, DIB, Follicular aspiration, Oocyte.

INTRODUCCIÓN

En el Perú las biotecnologías reproductivas en animales domésticos vienen implementándose y diversificándose cada vez con mayor fuerza, esto con el fin de obtener un mejor resultado en cuanto a cantidad y calidad de crías; Actualmente se sabe que el bovino, al nacimiento presenta más de 133 000 folículos primordiales en el ovario y en condiciones naturales, menos del 0.1% de estos folículos llegan a ovular.

Es por ello que teniendo la oportunidad de aprovechar de forma eficiente esta fuente de folículos con diferentes programas de producción de embriones tanto in vivo como in vitro se decide actuar tanto en el desarrollo de la onda folicular, las fases de reclutamiento, crecimiento y regresión de los folículos, donde se ve directamente la calidad de los ovocitos.

En ese sentido la investigación “SINCRONIZACIÓN DE ONDA FOLICULAR CON PROGESTERONAS PARA LA RECOLECCIÓN DE OVOCITOS GUIADA POR ULTRASONOGRAFÍA EN VACAS BROWN SWISS, HUANCAYO-2021” tuvo como objetivo primordial el análisis de variables relacionadas a la recuperación de ovocitos mediante la técnica de Ovum Pick Up (OPU por sus siglas en inglés), aplicándose dos protocolos de sincronización de onda folicular con diferentes presentaciones de progesterona las cuales son nuestras variables independientes, teniendo como variable dependiente el número de folículos, la cantidad de ovocitos y su calidad.

La metodología que se utilizará respeta el método científico además utilizará como métodos específicos la deducción, la inducción, el análisis y la síntesis para poder fundamentar los resultados obtenidos.

El presente estudio presenta los siguientes capítulos:

En el Capítulo I, se realiza el planteamiento del problema de investigación, además se hace una descripción del problema a nivel global y local. Se formulan los problemas tanto general como específicos, la justificación y las limitaciones de la investigación. Se precisan los objetivos y las variables que dan sustento al trabajo de investigación.

En el Capítulo II, se contrastan nuestras variables con diferentes estudios y autores formando así el Marco teórico, de igual manera se menciona las diferentes técnicas a emplear para el correcto desarrollo de la investigación.

En el capítulo III, se plantea la hipótesis del presente trabajo.

En el capítulo IV, hace referencia a la Metodología empleada, donde se explica el tipo y diseño de investigación. Además, se define la población y muestra del estudio, la Operacionalización de las variables, el instrumento y los procedimientos a seguir para el manejo de las muestras, y el análisis de los datos utilizando las técnicas estadísticas que corresponden.

Finalmente, en el Capítulo V, se presentarán los resultados, la discusión, una discusión con otros autores y recomendaciones.

Con la seguridad de poder aportar a la sociedad ganadera, en especial en el campo de la biotecnología reproductiva, pongo en consideración el presente trabajo para formar líderes en el desarrollo de trabajos de campo de carácter científico y fomentar el desarrollo de nuestra ganadería regional y nacional.

El autor.

CAPÍTULO I.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las biotecnologías reproductivas (B.R.) han sufrido grandes avances en genética molecular, como en la reproducción. Tanto la Inseminación Artificial, los trasplantes de embriones y otras técnicas, ya han sido aplicadas en el campo ganadero y han tenido un impacto favorable en el mejoramiento genético de nuestro y otros países. Todas estas técnicas aceleran de forma significativa el mejoramiento de los animales, reduciendo la transmisión de enfermedades y problemas de escasa base genética de calidad que posee el ganadero, ayudándolo a obtener un mejor número de animales que puedan superar a sus progenitores.

Si bien es cierto estos avances en la biotecnología animal se deben en gran parte al avance de la tecnología, que desde los 80s impulsó el uso de la ultrasonografía para el diagnóstico, trayendo consigo múltiples ventajas con un impacto económico positivo para la ganadería en el tema reproductivo y productivo. (1)

Ahora, el desarrollo de nuevas técnicas de producción de embriones in vitro, parten de la obtención de los ovocitos que son aspirados desde los folículos con la guía del ecosonógrafo por medio de ondas de ultrasonido que van desde 1 – 10 MHz, permitiendo obtener imágenes que nos orienten durante el proceso. (2)

Teniendo el apoyo de estas técnicas y estas herramientas la colección de ovocitos viene a ser fundamental para los procedimientos de fertilización in vitro. La técnica usada para poder realizar este proceso se denomina Aspiración Transvaginal Ecoguiada por Ultrasonido (OPU), esta técnica puede utilizarse en los diferentes estados del ciclo estral del ganado bovino y puede llegar a ser usada en periodos cortos de 1 a 2 veces por semana durante 3 a 6 meses, con ventajas como el poder ser aplicada en campo, con mínimos riesgos, pero cuenta con desventajas como el elevado costo de los materiales y quipos, además de lo complejo de su ejecución ya que debe ser realizado por personal altamente calificado. (3)

Este es el punto de partida para este trabajo de investigación ya que en nuestra región Junín al no ser una técnica muy explotada se tiene un limitado conocimiento en cuanto a la sincronización de onda folicular de los animales para la correcta colección

de sus ovocitos, bajo este contexto es muy importante conocer el mejor protocolo de sincronización de onda folicular, haciendo uso de diferentes presentaciones de hormona de Progesterona (p4), en dispositivos de 1.2g y 0,6g, además del uso de hormonas como la GnRH, el Cipionato de Estradiol y el Benzoato de Estradiol.

1.2. DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA

1.2.1. DELIMITACIÓN ESPACIAL

Este trabajo de investigación fue realizado en el establo lechero que pertenece a la Facultad de Zootecnia, de la Universidad Nacional del Centro del Perú, ubicado en la margen izquierda del Valle del Mantaro, en el distrito de El Mantaro, provincia de Jauja. A una altura de 3320 msnm y una temperatura promedio de 15°C la mayor parte del año.

1.2.2. DELIMITACIÓN TEMPORAL

El presente trabajo se ejecutó durante los meses de setiembre del 2020 a enero del 2021, con una duración total del experimento de 5 meses.

1.2.3. DELIMITACIÓN DEL UNIVERSO

Se trabajó con 7 vacas Brown Swiss en seca, utilizando 2 Dispositivos intra vaginales de progesterona con concentraciones diferentes, en diferentes colecciones, para evaluar al efecto que tiene cada dispositivo frente a la sincronización de onda folicular y su posterior recolección por aspiración folicular in vivo.

1.3. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

1.3.1. PROBLEMA GENERAL

¿Qué efecto tendrá la sincronización de onda folicular con dos fuentes de progesterona para la recolección de ovocitos guiada por ultrasonografía en vacas Brown Swiss, Huancayo 2021?

1.3.2. PROBLEMAS ESPECÍFICOS

1.3.2.1. ¿Cuál será el efecto de la progesterona en dispositivo intravaginal (DIB) de 1,2g sobre la sincronización de onda folicular para la obtención de número de folículos de 2 a 4mm, número de folículos de 4 a 8mm, número de COCs recuperados y la calidad de COCs recuperados mediante OPU en vacas Brown Swiss, Huancayo – 2021?

- 1.3.2.2.** ¿Cuál será el efecto de la progesterona en dispositivo intravaginal (DIB) de 0,6g sobre la sincronización de onda folicular para la obtención de número de folículos de 2 a 4mm, número de folículos de 4 a 8mm, número de COCs recuperados y la calidad de COCs recuperados mediante OPU en vacas Brown Swiss, Huancayo – 2021?

1.4. JUSTIFICACIÓN

1.4.1. JUSTIFICACIÓN SOCIAL

La explotación ganadera en el centro del país no es tratada con la importancia que merece, esto en gran medida se debe al bajo impacto económico que muestra en comparación con otras regiones del país y del mundo. Por ello la presente investigación tuvo como objetivo el aplicar biotecnologías de gran impacto para la ganadería local, demostrando que se puede mejorar a gran medida la calidad genética de los hatos, en tiempos más cortos de lo establecido, y con una capital ganadera local, haciendo de esta una oportunidad para toda la sociedad ganadera existente en nuestro Valle del Mantaro.

1.4.2. JUSTIFICACIÓN TEÓRICA

El sistema de producción que se usa en la mayoría de establos de El Valle del Mantaro, evidencia una desactualización e ineficiencia en el manejo reproductivo, Esta ineficiencia y algunos otros factores derivan en un rendimiento productivo y reproductivo carente. Los principales factores son la falta de diversificación de biotecnologías reproductivas por parte de Centros de Investigación y Universidades existentes en la zona. Es por ello que los estudios acerca de sincronización de onda folicular que nos permitan obtener mejor cantidad y calidad de ovocitos son de alguna manera poco existentes en la región. El presente trabajo de investigación tiene como objetivo aplicar el conocimiento sobre estas técnicas, bajo parámetros predispuestos en un establo del Valle del Mantaro, de esta manera los hallazgos del estudio generen resultados que puedan ser usados como base teórica sobre el comportamiento de las variables de causa y sus efectos en la zona. Así permitir en gran medida realizar un manejo reproductivo que incremente el progreso genético en el menor tiempo deseado.

1.4.3. JUSTIFICACIÓN METODOLÓGICA

Este trabajo de investigación hace uso de técnicas innovadoras en la región, como es la de aspiración de folículos guiada por ultrasonido (Ovum Pick Up, OPU por sus siglas en inglés) dichas técnicas requieren tanto de personal altamente preparado, materiales específicos y conocimiento especializado, por ello el presente trabajo permitirá evaluar el uso de esta técnica en condiciones de nuestra región, como también lo que se necesite para poder adaptarla a las diversas condiciones de nuestra región.

1.5. OBJETIVOS

1.5.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto que tiene la sincronización de onda folicular con dos fuentes de progesterona para la recolección de ovocitos guiada por ultrasonografía en vacas Brown Swiss, Huancayo 2021.

1.5.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1.5.2.1. Determinar el efecto de la aplicación de progesterona en dispositivo Intravaginal (DIB) de 1,2g sobre la sincronización de onda folicular para la obtención de número de folículos de 2 a 4mm, número de folículos de 4 a 8mm, número de COCs recuperados y la calidad de COCs recuperados mediante OPU en vacas Brown Swiss, Huancayo – 2021

1.5.2.2. Determinar el efecto de la aplicación de progesterona en dispositivo intravaginal (DIB) de 0,6g sobre la sincronización de onda folicular para la obtención de número de folículos de 2 a 4mm, número de folículos de 4 a 8mm, número de COCs recuperados y la calidad de COCs recuperados mediante OPU en vacas Brown Swiss, Huancayo – 2021

CAPITULO II. MARCO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES DE ESTUDIO

2.1.1. A NIVEL INTERNACIONAL:

Según Rusiñol A, En su estudio titulado: **EFEECTO DE LA ADICIÓN DE UNA PROGESTERONA INYECTABLE (MAD-4) EN UN PROTOCOLO DE SINCRONIZACIÓN DE CELOS EN VAQUILLONAS HOLANDO**, con una población de 101 vaquillonas Holstein, de 22 meses, dividido en 2 grupos, uno de ellos recibió al día “0”: 2mg de Benzoato de Estradiol, al día “7”: 0,15mg de Prostaglandina F2 α y al día “9”: 8 μ g de GnRH; posteriormente se realizó IATF, y 16 horas después al primer grupo (n=51) se le administró por la vía SC, 100mg de Progesterona. Mientras que el otro grupo (n=50), grupo control, no recibió Progesterona, teniendo los siguientes resultados: G. Control tuvo 20% de preñez y el G. Experimental un 26%, no se encontraron diferencias significativas ($p>0.05$) Por lo tanto se concluye que los 100mg de P4 no evita los celos prematuros, ni tampoco mejora el porcentaje de preñez (4).

También, Soria M, Soria C, Argudo D, Serpa G, Méndez S, Torres C, et al. En su trabajo titulado: **SUPEROVULACIÓN CON SINCRONIZACIÓN DE LA ONDA FOLICULAR Y CON CELO NATURAL EN VACAS HOLSTERIN**. Compara los efectos de diferentes protocolos para la superovulación. Su grupo de estudio fue aleatorio uno con Sincronización de onda folicular (n=10) y otro con Celo natural (n=10), el primero grupo fue sincronizado al día “0” con un Dispositivo Intravaginal que contenía progesterona, además del uso de benzoato de estradiol; también se le administro FSH durante 4 días en dosis decrecientes. Al sexto día el implante de retiró y se administró Prostaglandinas F2 α . Al octavo día se inseminó en dos oportunidades, a las 6 de la mañana y las 6 de la tarde. Al segundo grupo se le administró FSH cada 12 horas por 4 días y de igual forma en dosis decrecientes a partir del décimo día. Ya en el día 12 se le aplicó PGf2 α y posterior a ello se inseminó en el día número 14 en dos oportunidades, 6 de la mañana y 6 de la tarde. Como resultado se obtuvo que ambos grupos permitieron la recuperación de embriones con técnicas no quirúrgicas, posterior a los 7 días de la primera I.A. Los embriones transferibles son los siguientes: Para el grupo de Sincronización de onda

folicular: 5.7 ± 0.76 y para el grupo de Celo natural: 2.8 ± 0.31 ($p < 0.05$) Concluyendo así que el grupo de Sincronización de onda folicular tuvo mayor cantidad de embriones de calidad 1 y 2 en comparación con el grupo de Celo natural (5).

Además, Sarmiento S, Naulaguari L. En su trabajo de investigación con título: **VALORACIÓN DE OVOCITOS OBTENIDOS MEDIANTE OVUM PICK-UP EN VAQUILLAS SOMETIDAS A PROTOCOLOS ALTERNATIVOS DE SINCRONIZACIÓN DE LA ONDA FOLICULAR Y ESTIMULADAS CON FSH-LH**, Se observó lo siguiente: Se utilizaron 9 vaquillas en el experimento divididos en 3 grupos: T1: Ablación folicular; T2: GnRH; T3: Benzoato de estradiol. En los cuales se utilizó una sincronización antes de utilizar los tratamientos para todo el grupo experimental. El día "0": DIB de P4 de 0.5g + 2mg de BE. Y el Día "7" 0.5mg de PgF2 α + un parche colorimétrico para detectar el celo y el retirado del implante. El día "8": 1mg de BE. Para reiniciar la onda folicular se aplicó 500 UI de FSH-LH, I.M. y a las 48 horas se realizó OPU. Para el número total de Foliculos se encontraron: 11.7, 9.8, 9.0 respectivamente $P > 0.05$. para el porcentaje de ovocitos recuperados: 52.4, 55.7, 61.7% respectivamente $P > 0.05$. En cuanto a la tasa de COCs viables: 47.3, 57.1, 52% Respectivamente $P > 0.05$. Concluyendo que la estimulación con FSH-LH al momento del reinicio folicular logra promedios similares independientemente del método utilizado para reiniciar la onda folicular (6).

También, Ledur F. En su trabajo titulado **CONTROL DEL DESARROLLO FOLICULAR PARA LA OBTENCIÓN DE COCS POR ASPIRACIÓN GUIADA POR ULTRASONOGRAFÍA**. Logró obtener los siguientes resultados: Al experimentar en vacas de la raza Brangus ($n=13$) y también en la raza Angus ($n=32$); distribuyo 2 grupos, Al día "0", las vacas donantes del 1er Grupo fueron administradas con 2.5mg de Benzoato de Estradiol, también con 50 mg de Progesterona vía I.M.; A las donantes del 2do Grupo no se le administró ningún tratamiento a base de hormonas. Al 6to día se realizó OPU y posterior a ello se clasifico los COCs recuperados. Los foliculos aspirados, los COCs recuperados y viables fueron mayores en cantidad para el 1er Grupo tratado que en el 2do Grupo que no recibió ningún tratamiento. Para concluir la sincronización de onda folicular y la superestimulación a base de hormonas, logran un aumento significativo ($p < 0.05$) de COCs y foliculos aspirados en cada sesión de OPU para vacas tanto Bos Taurus, como las cruza de Bos Taurus y Bos Indicus (7).

Igualmente, Solis A, Guerra R, Sandoya G, Armas R. En su trabajo de investigación titulado **EFFECTO DE SINCRONIZACIÓN DE LA ONDA FOLICULAR Y DE LA FRECUENCIA DE ASPIRACIÓN DE FOLÍCULOS EN NOVILLAS DE LA RAZA BRAHMAN**. Obteniendo los siguientes resultados: Al trabajar con 16 vacas Brahman en diferentes sesiones de OPU y diferentes tratamientos, en el 1er Grupo se realizó la sincronización de onda folicular por medio de la Punción folicular, posterior a ello se realizó OPU 1 vez por semana. En el 2do Grupo se realizó la sincronización de onda por medio de Punción folicular, y posterior a ello se realizó OPU 2 veces por semana. En el 3er Grupo se realizó la sincronización de onda con la administración de Benzoato de Estradiol y Progesterona, además se realizó OPU 1 vez por semana. En el 4to Grupo se realizó la sincronización de onda con la administración de Benzoato de Estradiol y Progesterona, pero se hizo OPU 2 veces por semana. Como resultado se obtuvo que los grupos en los que se realizaron OPU 2 veces por semana tuvieron mayor número de folículos aspirados y COCs. ($p < 0.01$). Con medias semanales de: 18.5 ± 1.3 , 35.5 ± 1.3 , 18.4 ± 1.3 , 36.2 ± 1.3 y COCs de 12.0 ± 0.8 , 17.6 ± 0.8 , 11.3 ± 0.8 , 19.5 ± 0.8 , respectivamente a los Grupos: 1, 2, 3 y 4 (8).

Finalmente, Alvarado J. En su trabajo de investigación titulado: **EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DE OVOCITOS PROVENIENTES DE VACONA CRIOLLAS Y OVARIOS DE MATADERO**, obteniendo los siguientes resultados: Al haber empleado 10 vaquillas criollas con condición corporal entre 3 a 3.5 y unos 200 ovarios de un matadero, tras una recolección con agujas N°18 por medio de OPU, se demostró que existen diferencias significativas en cuando a las fuentes de ovocitos ($p < 0.05$), más para la actividad enzimática y su viabilidad no existen diferencias significativas ($p < 0.05$) (9).

2.1.2. A NIVEL NACIONAL:

Según, Alvarado A, Gamarra G, Gallegos A, Samillán V. En su trabajo titulado: **TASA DE RECUPERACIÓN DE OVOCITOS EN VACAS HOLSTEIN EN DECARTE**, se obtuvieron los siguientes resultados: Al haberse utilizado 9 vacas de la raza Holstein mayores a 9 años con buena condición corporal. Se realizó 24 sesiones de OPU por 12 semanas, logrando aspirar 2 veces por semana. Se obtuvo 4.2 COCs por cada sesión y cada vaca. Logrando un total de 403 COCs de los cuales se clasificaron según su calidad; 47 de Tipo A, 102 del Tipo B, 235 del Tipo C y finalmente 19 del Tipo D. Por lo tanto, al comparar el total de COCs recuperados

y los de Tipo AyB. Se obtiene que un 36.97% son potencialmente aptos para maduración y fertilización in vitro (10).

También, Quispe C, Mercado J, Fernández E, Mixan E, Gamarra S, Mellisho E. En su trabajo de investigación con título: **EFFECTO DE TRATAMIENTOS CON BENZOATO DE ESTRADIOL Ó GnRH SOBRE LA DINÁMICA FOLICULAR PARA ASPIRACIÓN DE FOLÍCULOS (OVUM PICK UP) GUIADA POR ULTRASONIDO EN VACAS LECHERAS**. Se obtuvo los siguientes resultados: Tras evaluar los efectos en la fase luteal simulada tanto del Benzoato de Estradiol y también de la GnRH en la dinámica folicular. En 14 vacas de la raza Holstein en lactación post parto entre 50 a 120 días. En el 1er grupo (n=7) al día “0” se administró 1,2mg de Benzoato de Estradiol por vía I.M., 0,524mg de Prostaglandina F2 α por vía I.M. y se le aplicó un dispositivo intravaginal DIB. En el 2do grupo (n=7) al día “0” se le administró 0,024mg de GnRH por vía I.M., además 0,524mg de Prostaglandina F2 α y se le aplicó también un dispositivo intravaginal DIB. Existieron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) para la cantidad de folículos de 2 – 4mm (7,7 y 4,4) para el 1er grupo y 2do grupo respectivamente. Para concluir, en vacas post parto, la sincronización de onda folicular con el uso de Benzoato de estradiol en lugar de GnRH, nos permite obtener un mayor número de folículos de 2 a 4 mm, los cuales son ideales para la aspiración folicular (11).

Además, Vásquez J. En su trabajo de investigación titulado: **TASA DE RECUPERACIÓN DE OVOCITOS POR OVUM PICK UP EN VACAS HOLSTEIN CON ADMINISTRACIÓN DE PROPILENGLICOL EN SU DIETA EN LA UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA – 2016**. Donde se obtuvo los siguientes resultados. Se seleccionaron 20 vacas de la raza Holstein, separadas en cuatro grupos de tratamiento, los cuales fueron a base de sincronización de la onda folicular y suplementos energéticos. Las recolecciones por medio de OPU se hicieron el día 6 posterior a los tratamientos. El mayor NFA fueron del Tratamiento 3 (10,40 \pm 1,73) y el Tratamiento 4 (11,25 \pm 1,94) ($p < 0,05$); el mayor número de COCs de tipo A se obtuvo en el Tratamiento 4 (4,15 \pm 1,23) y ovocitos de tipo B en el Tratamiento 4 (2,70 \pm 0,73) y Tratamiento 3 (2,40 \pm 0,99) ($p < 0,05$). Concluyendo así que los grupos Tratamiento en los que se sincronizó la onda folicular nos permitieron obtener un mayor número de folículos aspirados (NFA), y la administración de

Propilenglicol ayuda a incrementar el número de ovocitos de tipo A, y la tasa general de ovocitos tipo A y B aptos para la producción de embriones in vitro (12).

Además, Quispe C, Ancco E, Solano J, Unchupaico I, Mellisho E. En su investigación titulada **CAPACIDAD DE DESARROLLO EMBRIONARIO DE OVOCITOS DE BOVINO RECUPERADOS VÍA ULTRASONOGRAFÍA Y DE OVARIOS DE MATADERO**. Obtuvieron los siguientes resultados. Al realizar colecciones durante 9 sesiones en 59 vacas de raza Holstein mediante OPU, y al recolectar en 408 ovarios pertenecientes a 204 vacas de matadero. Se logró obtener una tasa de recuperación de ovocitos de tipo 1 y 2, además del porcentaje de embriones producidos in vitro al día siete. Dicha tasa de recuperación de ovocitos llegó a ser mayor en las colectas de ovarios de matadero en comparación con los ovocitos recolectados por medio de OPU (10,0 vs 7,2 por sesión/vaca) ($p < 0,05$). Existiendo mayor cantidad de COCs de tipo 1 y 2 en las colectas de ovarios de matadero. (7,6 vs 3,4 ovocitos durante sesión/vaca) ($p < 0,05$). Concluyendo que se pudo obtener mayor capacidad de desarrollo en ovocitos que fueron obtenidos de ovarios del matadero que en los que fueron recolectado mediante la técnica OPU (13).

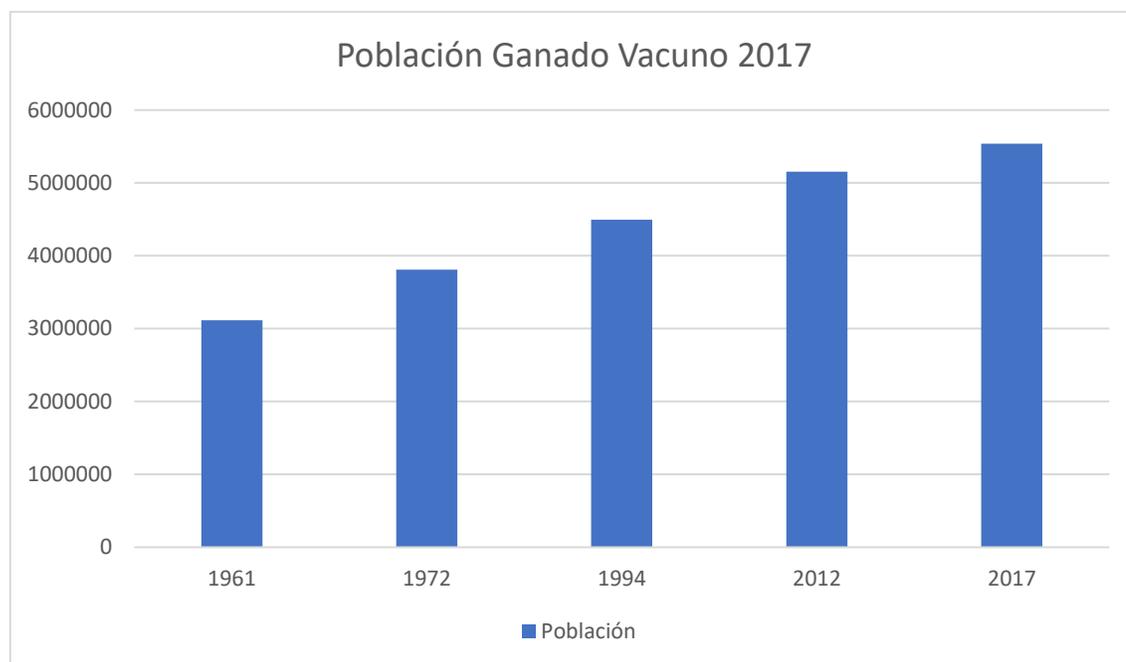
Finalmente, Santi L. En su trabajo de investigación: **ASPIRACIÓN FOLICULAR GUIADA MEDIANTE LA ULTRASONOGRAFÍA CON EL TRANSDUCTOR ENDOVAGINAL HUMANO, PARA LA RECOLECCIÓN DE OVOCITOS EN VACAS BROWN SWISS EN ALTURA**. Obtuvo los siguientes resultados: Empleando 4 vacas en seca con 8 – 10 años, y con un total de veinticuatro sesiones de OPU, en total 6 repeticiones vaca/semana. Se logró medir el tamaño de los folículos, 54,3% Folículos $< 5\text{mm}$, 37,0% Folículos de 5 a 10mm y 8,7% para los \geq a 10mm. Además, se obtuvo una tasa de recuperabilidad de 19,4% de este total un 21,4% pertenecientes al tipo A, 21,4% de tipo B, 14,3% de categoría C y un 42,9% de categoría D. Para concluir el transductor endovaginal usado en humanos, puede ser acondicionado para OPU, permitiendo que se recupere ovocitos. Con una obtención mayor de tipo D. ($p < 0,05$) (14).

2.2. BASES TEÓRICAS

2.2.1. POBLACIÓN DEL GANADO VACUNO

En el Perú se estima que para el año 2017 la población del ganado vacuno es de 5 535 569, teniendo aproximadamente el 7,36% más que en el censo ganadero del 2012 (15), tal como puede ser apreciado en la siguiente Figura:

Figura N° 1 Población de Ganado Vacuno 2017



Fuente: MINAG – INEI (15).

Siendo la raza criolla la predominante representada con un 63,9% del total, en segundo lugar, la raza Brown Swiss representada con el 17,6% del total, la raza Holstein es representada con el 10,3% del total y otras razas con un 8,2%. Además, la mayor parte de esta población censada estuvo concentrada en la región Sierra con un total de 3 774 300 cabezas, siendo un 73,2% del total. MINAG (15).

2.2.2. ANATOMÍA Y FISIOLÓGÍA REPRODUCTIVA BOVINA

Tanto la anatomía y fisiología del aparato reproductor del ganado vacuno y en especial el de la vaca, es muy necesaria para poder ejecutar de forma correcta la técnica OPU, puesto que se debe sincronizar la onda folicular conociendo cada una de sus etapas e identificar correctamente cada una de las estructuras ováricas, para así poder interpretar

de forma correcta las imágenes obtenidas por el ecógrafo y poder lograr una correcta punción.

2.2.2.1. EL OVARIO

El Ovario permanece en la cavidad abdominal, a diferencia del testículo. Realizando funciones tanto exocrinas como endócrinas. La corteza viene a ser el tejido predominante en el Ovario, la forma y tamaño dependen de la etapa en que se encuentre su ciclo estral, además de ser diferentes en cada especie animal (16).

El ovario tiene dos estructuras fundamentales, la médula y la corteza, y se encuentra rodeado por un epitelio superficial que es llamado epitelio germinal. Su médula consta de un tejido conectivo fibro-elástico que cuenta con un sistema vascular y nervioso extenso que derivan en el ovario por medio del Hilio. Su corteza contiene los folículos ováricos, que se encontrarán en diferentes etapas de desarrollo o regresión, además cuenta con un cuerpo amarillo o cuerpo lúteo (16).

2.2.2.2. OVOGÉNESIS

Los gametos que poseen las vacas están determinados desde el momento de su nacimiento, se estima que una ternera nace con 40 000 a 800 000, los que disminuyen rápidamente desde el nacimiento y posteriormente de forma gradual (17). La ovogénesis propiamente dicha comienza desde la vida fetal de la vaca, con la mitosis de ovogonias, y termina cuando se convierten en ovocitos y dan paso al proceso conocido como meiosis, que les permite crear una célula haploide lista para su fecundación (18).

La meiosis viene a ser necesaria para que las células germinales tanto para las ovogonias en hembras como para las espermatogonias en los machos, tiene dos objetivos: primero la reducción del número a haploide de los cromosomas y su recombinación genética (16). Esta meiosis solo se detendrá bajo dos circunstancias, al nacimiento o al lograr la ovulación y se pueda completar la fecundación. La meiosis propiamente dicha se divide en dos: Meiosis I y Meiosis II, cada una con 4 fases, las cuales son: Profase, Metafase, Anafase y la Telofase (18)

2.2.2.3. FOLICULOGÉNESIS

La formación de los folículos se da en tres etapas: en estado fetal, animales pre-púberes y durante la gestación. Los folículos primordiales se forman durante el periodo fetal; El crecimiento del folículo y posterior desarrollo del folículo de Graaf seguido de la ovulación solo se dará en hembras vacías pasando la pubertad y en pleno ciclo reproductivo (16). Los folículos primordiales crecen y se diferencian en un proceso continuo e irreversible llamado foliculogénesis, cuando un folículo primordial ingresa al grupo de crecimiento es llevado o bien a la Degeneración por Atresia (que sucede en el 99% de los casos) o a la ovulación (lograda por pocos) (16).

2.2.2.4. DESARROLLO FOLICULAR

En las especies domésticas las hembras nacen con ovocitos limitados, de los cuales la mayoría sufrirá atresia. Durante la vida de las hembras los folículos primordiales se encontrarán en un estado de reposo y solo cada cierto periodo serán reclutados para concluir su desarrollo. La onda folicular es continua y solo termina cuando un folículo maduro alcance la ovulación o la regresión (19).

Durante el crecimiento folicular, intervienen la proliferación y la diferenciación de células TECA, lo que causará el incremento en cuanto a capacidad del folículo para producir Estradiol, además, de reaccionar a las gonadotropinas. La producción de Estradiol permite determinar qué folículos llegarán a adquirir los receptores de LH que son necesarios para sufrir la luteinización. Interrupciones en una respuesta por parte de la granulosa y células TECA, frente a estímulos de las gonadotropinas causarán una interrupción en el crecimiento del folículo seguido por una atresia (16). Prácticamente el total de folículos llegan a sufrir atresia, por lo que una vaca al llegar a los 10 años y con un parto anual, solo podrá ovular entre 30 a 50 ovocitos. Además, está demostrado que un animal con ciclos estrales normales durante 15 años logrará ovular 300 ovocitos de los 700 000 en promedio que tienen desde el nacimiento (20).

2.2.2.5. FLUIDO FOLICULAR

El fluido folicular tiene su origen en la trasudación sanguínea que se da en las diferentes capas de la granulosa, tiene un pH alcalino de 7,4 similar al del plasma sanguíneo (20).

Este fluido tiene funciones esenciales para que el ovario pueda cumplir con las suyas, dentro de ellas encontramos: La esteroidogénesis, el crecimiento folicular o también llamado la maduración de ovocitos y el transporte del ovocito por el oviducto (21). Muchas funciones del ovocito dependen del fluido folicular, como el transporte de los nutrientes desde el plasma sanguíneo hacia la granulosa (16). Los componentes principales de este fluido folicular son: Proteínas, aminoácidos, enzimas, carbohidratos, glucoproteínas, gonadotropinas, esteroides, prostaglandinas e inmunoglobulinas (22)

2.2.2.6. CRECIMIENTO DEL OVOCITO

Posterior a la formación del antro, existe la división de las células granulosas en 2 sub grupos: el primer grupo está conformado por células de la granulosa que se encargarán de revestir las paredes del folículo y desarrollarán un epitelio estratificado en contacto con la lámina basal; el segundo grupo conformado por células del Cúmulus oophorus que formarán diversas capas de células cilíndricas rodeando el ovocito (23). Ya formada la cavidad antral por parte del folículo, se llamará folículo terciario, folículo antral o folículo de Graaf, llegando a medir 2.2mm de diámetro (24).

Los folículos dominantes serán seleccionados para poder continuar con su crecimiento, esta selección produce ovocitos maduros que podrán ser ovulados cada ciclo estral, determinado por los receptores de LH y la FSH en las células de la granulosa (25).

Dentro de las células de la granulosa estarán presentes los receptores para la hormona FSH, que se incrementan en las fases de crecimiento, logrando una expresión de genes que codificarán tanto los factores de crecimiento, las enzimas y las proteínas que intervienen en la esteroidogénesis, como también algunos péptidos que regularán la liberación de gonadotropinas, mismas que se sintetizan y reservan en el fluido

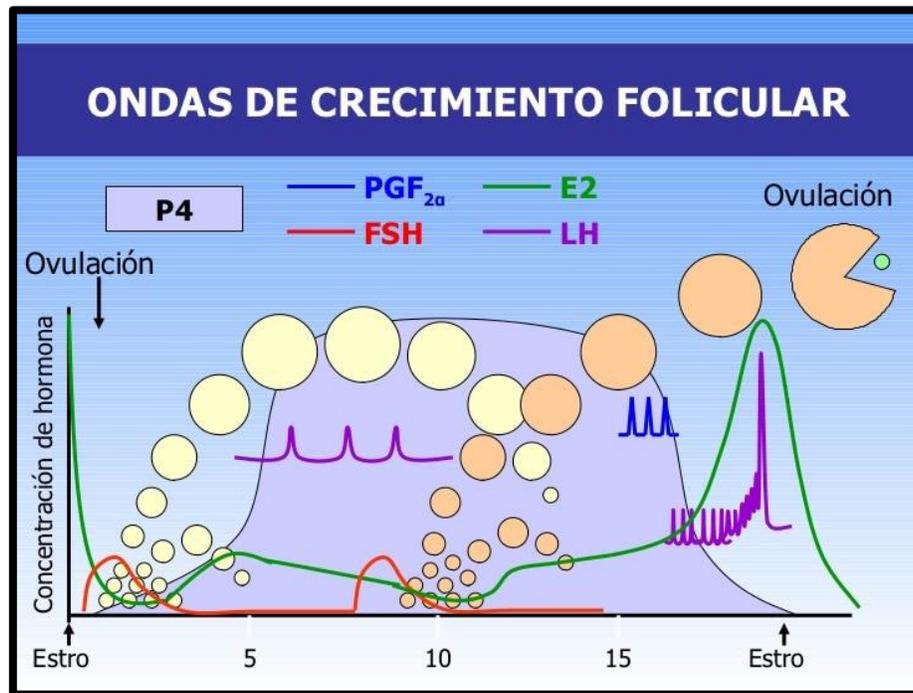
folicular. Las células TECA, estimuladas por la acción de la LH, sintetizarán andrógenos que se irán a transformar en Estradiol por las células de la granulosa (18).

Posterior al pico en el ciclo preovulatorio de la LH, los folículos que fueron seleccionados comenzarán su expansión acelerada en reacción de la acumulación de fluido folicular. Las grandes concentraciones de gonadotropina en el fluido folicular cambiarán el patrón de síntesis en los Esteroides de las células de la granulosa y TECA, preparando así al ovocito para reiniciar la Meiosis y su posterior maduración (23).

2.2.2.7. ONDAS FOLICULARES

El desarrollo folicular en los rumiantes se caracteriza por tener dos o tres ondas foliculares en cada ciclo estral. Cada una de las ondas involucra el desarrollo y crecimiento sincronizado de todo un grupo de folículos (26). Durante el desarrollo folicular se pueden identificar 3 fases distintas: El Reclutamiento folicular, la selección y la desviación o dominancia. Durante cada Ola se podrá observar un pico de la FSH, que otorga estímulo para el crecimiento de no menos de 5 folículos de 4 – 5mm de diámetro; todo este proceso es conocido como reclutamiento cíclico. En la etapa de selección los folículos son elegidos para poder seguir con su crecimiento conocidos como Folículos Dominantes, para finalizar, La dominancia que vendrá a ejercer el folículo seleccionado frente a los otros que crecieron con él, conocidos como Folículos Subordinados, estos folículos que no fueron seleccionados sufrirán un proceso degenerativo conocido como Atresia Folicular (27).

Figura N° 2 Onda folicular en la vaca



2.2.3. BIOTECNOLOGÍA EN LA REPRODUCCIÓN

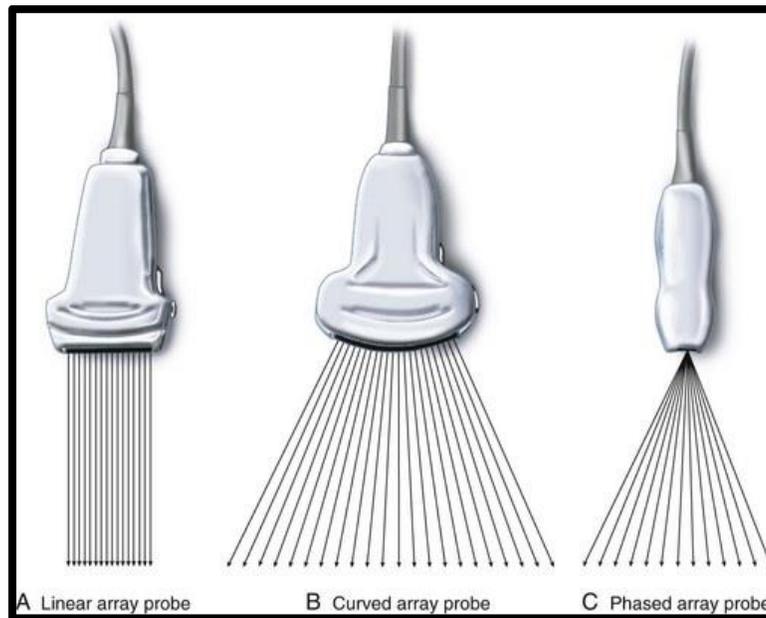
Las diferentes biotecnologías reproductivas se vieron favorecidas enormemente desde los 80s, gracias a la implementación de la ultrasonografía, que trajo consigo muchas ventajas en su aplicación para animales con miras productivas, concediendo una mejor organización en diferentes aspectos reproductivos, otorgándoles un impacto económico favorable en su relación Costo-Beneficio (2).

El ovario de las diferentes especies mamíferas y en especial la del ganado vacuno, contiene miles de ovocitos, que por su largo periodo gestacional nos otorga un número limitado de veces que una hembra pueda preñar, pudiendo liberar solo 1 o 2 óvulos por cada ciclo estral. Pero este número se puede incrementar a gran medida con el uso y aplicación de técnicas de fertilización in vitro, logrando producir embriones de gran calidad y buen valor comercial (16).

2.2.3.1. ULTRASONIDO EN LA REPRODUCCIÓN ANIMAL

El uso del ultrasonido para los exámenes del tracto reproductivo, se debe al trabajo en conjunto de diferentes componentes electrónicos para producir una imagen. Dentro de estos componentes el principal es el transductor, que tiene un contacto directo con los tejidos a evaluar y se conecta a la consola por medio de un cable formado por alambres de cristales individuales para el pulsor y para el receptor, las señales electrónicas enviadas desde el pulsor originan ondas de ultrasonido. Esta pulsación es calculada en una imagen y así se logra visualizar en una pantalla tomando forma. Estas imágenes son estructuras que se forman entre 20 a 30 por segundo (28).

Figura N° 3 Tipos de Transductores



2.2.3.1.1. Transductor Lineal

En este transductor los cristales individuales son alineados a lo largo de la superficie, de esta forma permite que las ondas viajen de forma paralela y rectas. La imagen que brindan se plasma de forma rectangular (28).

2.2.3.1.2. Transductor Convexo

A diferencia del anterior los cristales están acomodados sobre una superficie convexa por lo que generan una imagen en forma de un abanico

semi abierto. Está diseñado para poder facilitar tanto la ablación de ovocitos y folículos dominantes por medio de punciones foliculares y también para la obtención de ovocitos (28).

2.2.3.1.3. Transductor Sectorial

Son llamados Phased Array y tienen una superficie de un semicírculo, los cristales están acomodados siguiendo esta forma. A diferencia del convexo brindan la imagen de un abanico totalmente abierto (28).

2.2.3.2. PUNCIÓN FOLICULAR

Existen diferentes métodos para poder realizar la recuperación de Ovocitos. Dentro de ellas la Aspiración Folicular en los ovarios de animales de camal ya sacrificados, ha sido el método más utilizado, pero viene a ser no repetible. Los métodos por medio de laparoscopia también han sido utilizados para la recuperación de ovocitos en animales con vida, pero este método laparoscópico viene a ser muy traumático para la donante de Ovocitos (29).

El método OPU o Aspiración folicular guiada por ultrasonido, viene a ser un método que se utiliza para recuperar ovocitos inmaduros de folículos ováricos en animales con vida, sin necesidad de una intervención quirúrgica, y se puede realizar en todas las etapas del ciclo estral, ya sea en vacas que tengan problemas reproductivos, también durante el primer tercio de gestación e incluso en novillas pre-púberes. Estudios confirman que se puede obtener una tasa de recuperabilidad de 2 a 3 ovocitos por vaca donante en cada sesión sin ningún tratamiento hormonal, e incluso recuperar hasta 11 ovocitos por cada sesión (30).

2.2.3.3. ASPIRACIÓN FOLICULAR GUIADA POR ULTRASONIDO (OPU)

Los Recuperación de Ovocitos por medio de OPU ha sufrido muchos cambios desde que se inició a aplicar esta técnica con éxito por primera vez (29). Estos cambios se hicieron para lograr la optimización de la técnica y conseguir una tasa de recuperación mucho más viable por cada sesión.

La OPU además permite obtener ovocitos con destino de PIV de embriones, con ovarios de hembras genéticamente conocidas y vivas, concediendo así la aceleración de una selección genética. La OPU nos ayuda solucionar diferentes limitaciones para el uso de los ovarios de hembras de sacrificio, que siempre limitó la recolección y recuperación de una misma donante. Además, el número de gametos que se recuperan son limitados, a comparación de la enorme reserva ovárica. Esta técnica también se usó para poder eliminar Folículos Dominantes o súper oculados y también poder recolectar tejido ovárico (31).

Al comenzar con el uso de la OPU, las aspiraciones eran realizadas con agujas de 55cm, que era elaboradas especialmente para la aplicación de la técnica (29). Elaborar y adquirir dichas agujas significaban un elevado costo y al no ser descartables perdían filo, ocasionando una pérdida en la tasa de recuperación de ovocitos, causando también lesiones a los ovarios y la región peri ovárica. Es por ello que el uso de agujas hipodérmicas de número 18 y 19G x 5cm de largo es posible (32).

Un punto importante en relación con las agujas utilizadas es la presión de aspiración al vacío, mucho otros investigadores observaron que una baja presión de 50mmHg ocasionaba una baja eficacia de la aspiración, y que las presiones mayores a 120mmHg causaban daños en las capas de los COCs (32).

Ahora, Ireland J, Smith G, Scheetz D, Jimenez F, Folger J, Ireland J, et al. Nos dicen que las cantidades de folículos obtenido de los ovarios varían de forma considerable durante la vida reproductiva de los bovinos. Siendo que una ternera recién nacida cuenta con 10 000 a 350 000, mientras que a los 12 meses de edad cuenta con 1 920 a 40 960. También nos dice que las vacas al año de nacidas logran perder el 80% de su población total de ovocitos. Actualmente hay evidencia de que las vacas con un conteo bajo en folículos antrales, tienden a estar asociadas con la infertilidad. Es por ello que hay una relación entre el número de folículos antrales y el tamaño de ovarios en animales tanto jóvenes como adultos, y mayormente las vacas con bajo número de estos folículos, responden mal a los estímulos hormonales de superovulación (33).

2.2.4. TRATAMIENTOS HORMONALES

Las diferentes necesidades de incrementar el mejoramiento genético en ganado bovino lograron el impulso de programas para la superovulación y posterior colección de ovocitos in vivo, de igual forma a la PIV de embriones. Actualmente, la técnica OPU es estándar y nos permite obtener ovocitos en las diferentes etapas del ciclo estral. Pero el deseo de incrementar la tasa de recuperación y calidad de ovocitos, hizo que los diferentes protocolos utilizados a base de hormonas sean cambiados con el propósito de lograr grupos de ovocitos más homogéneos y que tengan una mayor calidad, teniendo en cuenta que el número de folículos en los bovinos es muchas veces limitado (34).

Los protocolos suelen tener como finalidad la sincronización de emergencia de las ondas foliculares, logrando así estimular el crecimiento folicular y apoyar en la maduración de los ovocitos. Hay diferentes factores que pueden reducir la respuesta del tratamiento en los animales, como: su condición corporal, historial reproductivo, edad, la raza, estación anual, el estado fisiológico del ovario al momento de iniciar el tratamiento y finalmente los efectos de un tratamiento repetido que puede provocar diferencias en las estimulaciones hormonales (35).

2.2.4.1. SINCRONIZACIÓN DE EMERGENCIA DE ONDA FOLICULAR

Durante el ciclo estral del bovino, el número general de los ovocitos será determinado por su dinámica folicular al momento que se realice la aspiración folicular. Ahora, los folículos pequeños tienen ovocitos mucho más competentes en desarrollo y recuperación en comparación con los folículos más grandes (36). Es por ello que la recuperación de ovocitos permite obtener un mayor número y una población más homogénea si se realiza al inicio de la onda folicular.

La sincronización emergente de la onda folicular puede ser realizada por ablación folicular o de forma farmacológica mediante tratamientos con hormonas, logrando respuestas similares (37). La ausencia del folículo dominante al inicio del tratamiento con hormonas, logra obtener una superovulación mayor, así como también una mayor tasa de ovocitos para PIV (38).

El uso de Progesterona exógena logra suprimir el desarrollo del Folículo dominante al ser administrado en la fase de crecimiento, desencadenando la

aparición temprana de una onda folicular (35). Mientras que el uso de Estradiol induce atresia folicular, de la misma forma el Valerato de estradiol frena la fase de folículo dominante y evita su crecimiento por ende su dominio funcional. La combinación entre el Estradiol y la Progesterona otorga la supresión consistente del folículo dominante y la temprana aparición de otra onda folicular (37). Esta asociación se basa en los efectos de inhibir el desarrollo del folículo y también en su capacidad de estimular la atresia en los mismos producto de la liberación de la FSH (39).

2.2.4.2. TRATAMIENTOS SUPEROVULATORIOS

La etapa del crecimiento folicular y la posterior dominancia que da paso a la ovulación es fundamental para el desarrollo potencial de ovocitos. La estimulación ovárica previa la realización de la OPU, nos permite el rápido crecimiento folicular y una maduración acelerada por parte de los ovocitos (40). Los tratamientos más usados para la superovulación y la PIV de embriones son: La eCG (Gonadotropina coriónica equina) en dosis única o con la FSH extraída de los cerdos, equinos u ovinos (41).

Tras la aplicación de FSH se logra un aumento considerable en el NFA y el número de COCs recuperados de tipo A, además de un número mayor de embriones transferibles al utilizar múltiples dosis de hormonas. Concluyendo que el tratamiento con FSH previo a la OPU, mejora el NFA y también el número y calidad de ovocitos recuperados como también de embriones producidos (42). Reportaron un aumento en la tasa de producción de embriones yendo de un 22% a un 39%, posterior a los 3 días con la administración de dosis decrecientes de la FSH (40).

2.2.5. CLASIFICACIÓN Y SELECCIÓN DE OVOCITOS

Las técnicas para la PIV de embriones posterior a su maduración, fecundación y cultivo, ha creado la necesidad de buscar otros métodos menos invasivos para poder seleccionar ovocitos aptos para una maduración (43). Teniendo en cuenta que las células que rodean al ovocito provenientes del folículo, son muy importantes para su maduración (44). La homogeneidad en el citoplasma del ovocito dependerá de diferentes

factores foliculares, además de las conexiones directas que tengan con el ovocito. Todo este complejo ayudará en la producción de nutrientes y el transporte del ovocito, así como también el controlar y regular su metabolismo para posteriormente lograr su maduración nuclear y citoplasmática (43).

Tabla N° 1 Clasificación de COCs por Categorías

Categoría	Número de Células de Cúmulus	Citoplasma	Estado
A	Múltiples capas compactas de células de Cúmulus, >4.	Transparente y homogéneo.	VIABLE
B	Múltiples capas compactas de células de Cúmulus, entre 1 a 3.	Homogéneo, con Zonas periféricas oscuras.	
C	Desnudos	Irregular, con zonas oscuras.	NO VIABLE
D	Células expandidas	Irregular, con zonas oscuras.	

Fuente: Lonergan P, Sharif H, Gordon I. (45)

El Cúmulus tiene muchas funciones, tanto mecánicas como fisiológicas, algunas de ellas son:

- Proporcionar de sustancias nutritivas al ovocito mientras se encuentra en el folículo (46).
- Posterior a la ovulación, se convierte en un medio de protección del ovocito, mientras este es transportado hacia el ámpula del oviducto (47).
- Incrementa el área de contacto entre el espermatozoide y el ovocito (48).
- Tiene una gran participación sobre la capacitación del espermatozoide (46).

2.3. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS

OPU: Ovum Pick Up, es la técnica por la que se realiza la punción del ovario con la finalidad de recuperar al ovocito inmaduro, este proceso es realizado con ayuda del ecógrafo y una guía para la aspiración (49).

TVR: La Recuperación Transvaginal de Ovocitos, es un proceso en el que se logra recuperar ovocitos inmaduros, puede ser por medio de la OPU (50).

FIV: La Fecundación In Vitro, es el proceso por el que se puede fertilizar ovocitos ya maduros, puede ser con semen fresco o por medio de semen congelado disponible en pajillas, todo esto puede realizarse posterior a una capacitación espermática (51).

PIV: La Producción de Embriones In Vitro, se logra en laboratorio por medio de ovocitos maduros, con equipos como la incubadora de Dióxido de Carbono (CO₂) (51).

PROGESERONA (P4): La progesterona es una hormona sexual, un esteroide que se caracteriza por ser propio de las hembras, se produce en el cuerpo lúteo del ovario. Está compuesta en su mayoría por colesterol y su principal función es reproductiva, actuando a nivel del útero para que este mantenga funciones durante el desarrollo inicial del embrión, logrando llevar a cabo su implantación y correcta placentación, de esta forma un exitoso desarrollo del feto (52).

DIB: Es un dispositivo intravaginal bovino, impregnado con progesterona y con la función de regular el ciclo estral en el ganado vacuno (53).

ESTRÓGENO (E2): El estrógeno es una hormona sexual compuesto por 18 moléculas de Carbono y de tipo principalmente femenino; es producida por las células TECA del folículo del ovario, también por la placenta durante el embarazo y en menores cantidades por las glándulas adrenales; su función es promover el comportamiento sexual (16).

GnRH: Esta hormona Gonadotropina es liberada por el hipotálamo, glándula ubicada en el cerebro del animal; y tiene la función de producir las hormonas LH y también FSH (16).

FSH: La Hormona Folículo Estimulante, es una hormona que promueve el crecimiento y también la maduración de los folículos ováricos (16).

LH: La Hormona Luteinizante, es una hormona compuesta por una subunidad alfa y una beta, tiene un peso molecular aproximado de 30 000 Dalton, y su actividad biológica es de solo 30 minutos. Su principal función en interacción con la FSH es de inducir la

ruptura de la pared folicular posterior a la secreción de Estrógeno del Folículo dominante, produciendo así la ovulación (16).

PROSTAGLANDINA F2 α : Esta hormona ocasiona la regresión del cuerpo lúteo y reinicia el ciclo estral (16).

OVOCITO: Esta célula del gameto femenino, o también conocida como célula germinal, participará en la reproducción, siendo el precursor inmaduro del óvulo o una célula huevo. Esta célula al ser fecundada por el espermatozoide dará paso a la formación del embrión (16).

CAPÍTULO III.

HIPÓTESIS Y VARIABLES

3.1. HIPÓTESIS

3.1.1. HIPÓTESIS ESPECÍFICAS N° 1

- Ho: No existe diferencias del efecto de la aplicación de progesterona en dispositivo intravaginal (DIB) de 1.2 g y 0.6 g sobre el número de folículos de 2 a 4mm, obtenidos mediante aspiración guiada por ultrasonografía en vacas Brown Swiss.
- H1: Existe diferencias del efecto de la aplicación de progesterona en dispositivo intravaginal (DIB) de 1.2 g y 0.6 g sobre el número de folículos de 2 a 4mm, obtenidos mediante aspiración guiada por ultrasonografía en vacas Brown Swiss.

3.1.2. HIPÓTESIS ESPECÍFICAS N° 2

- Ho: No existe diferencias del efecto de la aplicación de progesterona en dispositivo intravaginal (DIB) de 1.2 g y 0.6 g sobre el número de folículos de 4 a 8 mm, obtenidos mediante aspiración guiada por ultrasonografía en vacas Brown Swiss.
- H1: Existe diferencias del efecto de la aplicación de progesterona en dispositivo intravaginal (DIB) de 1.2 g y 0.6 g sobre el número de folículos de 4 a 8 mm, obtenidos mediante aspiración guiada por ultrasonografía en vacas Brown Swiss.

3.1.3. HIPÓTESIS ESPECÍFICAS N° 3

- Ho: No existe diferencias del efecto de la aplicación de progesterona en dispositivo intravaginal (DIB) de 1.2g y 0.6g sobre el Número de COCs recuperados; obtenidos mediante aspiración guiada por ultrasonografía en vacas Brown Swiss.
- H1: Existen diferencias del efecto de la aplicación de progesterona en dispositivo intravaginal (DIB) de 1.2g y 0.6g sobre el Número de COCs recuperados; obtenidos mediante aspiración guiada por ultrasonografía en vacas Brown Swiss.

3.1.4. HIPÓTESIS ESPECÍFICAS N° 4

- Ho: No existe diferencias del efecto de la aplicación de progesterona en dispositivo intravaginal (DIB) de 1.2g y 0.6g sobre la calidad de COCs recuperados, obtenidos mediante aspiración guiada por ultrasonografía en vacas Brown Swiss.
- H1: Existe diferencias del efecto de la aplicación de progesterona en dispositivo intravaginal (DIB) de 1.2 g y 0.6 g sobre la calidad de COCs recuperados, obtenidos mediante aspiración guiada por ultrasonografía en vacas Brown Swiss.

3.2. VARIABLES

3.2.1. VARIABLES INDEPENDIENTES

- Progesterona en DIB de 1.2g
- Progesterona en DIB de 0.6g

3.2.2. VARIABLES DEPENDIENTES

- Número de Folículos de 2 a 4mm.
- Número de Folículos de 4 a 8mm.
- Número de COCs recuperados.
- Calidad de COCs recuperados.

3.3. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Tabla N° 2 Operacionalización de las variables

Variables		Tipo de Variable	Definición Conceptual	Dimensión	Indicador	Instrumento	Escala
Independientes	Progesterona en DIB de 1.2g	Cuantitativa Continua	Dispositivo de depósito intravaginal de 1.2g de Progesterona	Gramos	Cantidad de Progesterona en gramos	Pistola para DIB	Ordinal
	Progesterona en DIB de 0.6g	Cuantitativa Continua	Dispositivo de depósito intravaginal de 0.6g de Progesterona	Gramos	Cantidad de Progesterona en gramos	Pistola para DIB	Ordinal
Dependientes	Número de folículos de 2 a 4mm	Cuantitativa Continua	Folículos de Graaf de menor tamaño que en su interior contiene un ovocito	De 2 a 4 milímetros	Milímetros	Ecógrafo	Ordinal
	Número de folículos de 4 a 8mm	Cuantitativa Continua	Folículos de Graaf de mayor tamaño que en su interior contiene un ovocito	De 4 a 8 milímetros	Milímetros	Ecógrafo	Ordinal
	Número de COCs recuperados.	Cuantitativa Continua	El número de COCs recuperados será determinado por el NFA por sesión.	Numérica	Numérica	Ecógrafo y estereoscopio	Ordinal
	Calidad de COCs recuperados.	Cualitativa Ordinal	Es el estado morfológico adecuado de los COCs	Viabile: A y B No Viabile: C y D	Integridad de la membrana plasmática de los COCs	Estereoscopio	Nominal

Fuente: Elaboración propia.

CAPÍTULO IV. METODOLOGÍA

4.1. MÉTODO DE INVESTIGACIÓN

Este trabajo de investigación utilizó el método científico, cuyo proceso requiere que los investigadores hagan observaciones, formulando tanto problemas como también hipótesis, a partir de las que realizarán deducciones y alcanzarán razonamientos lógicos. Además, en las consecuencias que se darían a partir de una relación hipotética cierta, y comprobar las mismas por medio de la recopilación de datos. Logrando así aceptar o rechazar una hipótesis en base a estas (54).

Además, se utilizó los métodos específicos lógicos tales como la deducción, la inducción, el análisis y la síntesis para poder fundamentar los resultados y conclusiones obtenidas, generando discusiones y sugerencias (54).

4.2. TIPO DE INVESTIGACIÓN

Este estudio tiene un tipo de investigación Aplicada, ya que persigue los fines de aplicación tanto directos como inmediatos. Buscando su aplicación sobre la realidad circunstancial, antes de desarrollar teorías. Este tipo de investigación persigue conocer para hacer y poder actuar (54).

4.3. NIVEL DE INVESTIGACIÓN

En esta investigación se tiene un Nivel Explicativo ya que se busca el porqué de los hechos acontecidos, todo mediante el establecimiento de la interacción causa-efecto (54). Además, en esta investigación buscamos analizar los efectos que produce los DIB de progesterona sobre la sincronización de onda folicular y posterior análisis de la cantidad de ovocitos, la calidad de ovocitos, y la cantidad de folículos tanto de 2 a 4mm como también los de 5 a 8mm, recolectados mediante OPU en vacas Brown Swiss.

4.4. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

Según Oseda D, Alvarado H, Cori S, Zevallos S. El diseño de este estudio es Pre-experimental, ya que se controla de forma parcial los factores que puedan influir para la validez tanto interna como externa (54).

Además, el presente trabajo cuenta con un diseño Post Test, o también conocido como estudio de caso con una sola medición, esto significa que realizaremos un estímulo

o tratamiento a nuestro grupo de estudio y posteriormente aplicaremos la medición en 1 o más variables (54).

Es por ello que nuestra investigación tendrá el siguiente diseño:



Donde:

G: Grupo de sujetos o casos.

X: Estímulo, tratamiento o condición experimental

O: Medición de los sujetos de un grupo posterior al tratamiento.

4.5. POBLACIÓN Y MUESTRA

4.5.1. POBLACIÓN

En este trabajo de investigación la población está conformada por 30 vacunos en periodo de seca de la raza Brown Swiss, del establo de la Facultad de Zootecnia de la Universidad Nacional del Centro del Perú, localizado en la margen izquierda del Valle del Mantaro, perteneciente al distrito de El Mantaro, provincia de Jauja, departamento de Junín, a una altura de 3320 msnm y a unos 36.5km de la ciudad de Huancayo.

4.5.2. MUESTRA Y TIPO DE MUESTREO

Se realizó un muestreo no probabilístico intencionado por conveniencia, ya que se realizó atendiendo razones de comodidad, procurando que exista homogeneidad (54). En el presente estudio la muestra fue conformada por 7 vacas en seca de la raza Brown Swiss. Las que fueron sometidas a dos tratamientos, obteniendo 20 repeticiones por Tratamiento.

4.5.3. CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Vacas secas mayores a 2 partos de la raza Brown Swiss
- Vacas mayores a 6 años
- Vacas sin problemas sanitarios
- Vacas con una Condición Corporal entre 3 a 3.5

4.5.4. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Vacas en lactación y pertenecientes a otras razas.
- Vacas con problemas nutricionales o reproductivos.

4.6. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

4.6.1. TÉCNICAS PARA LA RECOLECCIÓN DE DATOS

Tabla N° 3 Técnicas para la recolección de datos

TÉCNICAS	INSTRUMENTOS	DATOS A OBSERVAR
Observación en el campo y laboratorio.	Ecógrafo	Cantidad de folículos de 2 a 4mm.
Observación en el campo y laboratorio.	Ecógrafo	Cantidad de folículos de 4 a 8mm.
Observación en el laboratorio.	Estereoscopio	Cantidad de COCs
Observación en el laboratorio.	Estereoscopio	Calidad de COCs; Tipo: A, B, C y D.

Fuente: Elaboración propia.

4.6.1.1. SINCRONIZACION DE LA ONFA FOLICULAR

Este trabajo de investigación utilizó dos tratamientos. El primero **Grupo “T1”** del DIB DispoceL Plus® Von Franken de 1.2g de P₄ fue insertado en el día “0” de forma intravaginal en las vacas, además se aplicó 1.2mg de Benzoato de Estradiol con nombre comercial Estrovet® de Montana y 0.524mg de Cloprostenol sódico con nombre comercial Lutaprost® de AgrovMarket. Para el segundo **Grupo “T2”** del DIB DispoceL® Von Franken de 0.6g de P₄ fue insertado también en el día “0” intravaginal en las vacas y posteriormente se aplicó 1.2mg de Benzoato de Estradiol con nombre comercial Estrovet® de Montana y 0.524mg de Cloprostenol sódico con nombre comercial Lutaprost® de AgrovMarket.

Figura N° 4 Dispositivos y hormonas empleadas.



Figura N° 5 Insertado de DIB en vacas de Grupo T1 y Grupo T2



Figura N° 6 Puesta de las hormonas de BE y CS



4.6.1.2. RECOLECCIÓN DE OVOCITOS POR MEDIO DE OPU

La recolección de ovocitos por medio de OPU se realizó el día “5” posterior a las sincronizaciones de Onda Folicular y en primer lugar se llevó a las vacas de cada tratamiento a un corral adaptado para dicho propósito con un brete angosto donde se pudiese inmovilizar lo suficiente al animal para realizar los procedimientos.

Ya en el corral, una por una fue pasando a la manga del brete donde se les retiró el dispositivo y se les realizó tanto el vaciamiento del recto como la limpieza de la vulva y toda la zona perineal. Finalmente, dentro de la preparación del animal se les administró Lidocaína al 2% vía epidural para insensibilizar el procedimiento y contar con un animal más relajado y cómodo.

Ya en la ejecución de la recolección de ovocitos por medio de OPU, se procedió a palpar al animal y localizar los ovarios, posteriormente se introdujo el transductor Micro convexo del Ecógrafo EsaoteVet® a 7.5MHz con la guía de aspiración folicular WTA®, una vez localizados los folículos en la imagen del ultrasonido, se introduce la aguja 18G 1,2x75mm por medio de la guía de aspiración misma que está

conectada directamente a un tubo Falcon de 50ml que será nuestro frasco de colecta por medio de una manguera para unidad de aguja de Teflón® que irá conectado al vacío de nuestra bomba de aspiración Minitube® que aspirará bajo una presión de 90mmHg.

Figura N° 7 Diagrama del uso de equipos y materiales para OPU

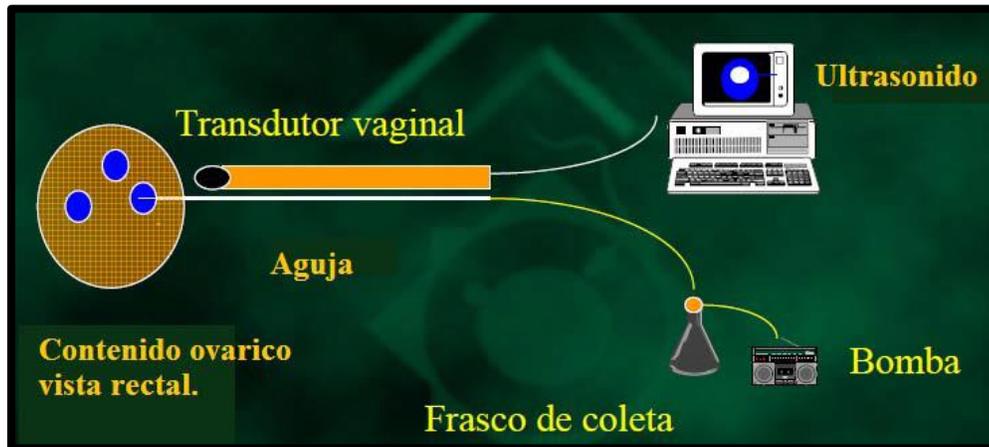


Figura N° 8 Ejecución de OPU, mano izquierda palpación, mano derecha guía de aspiración folicular



El medio donde se aspira los ovocitos tiene que estar compuesto por PBS (medio Buffer) además de heparina sódica a unas 2'2 UI/ml y también suero fetal bovino (1%), también una temperatura constante no menor de 37°C ni mayor a 38°C,

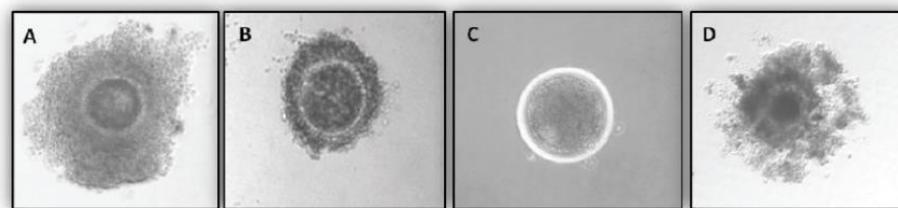
asegurando de esa forma la conservación de los ovocitos que se hayan recolectado para su posterior conteo y clasificación.

4.6.1.3. CONTEO Y CLASIFICACIÓN DE OVOCITOS

Una vez concluida la recolección de ovocitos por medio de OPU se procedió a su traslado al laboratorio donde todos los contenidos de los tubos Falcon® rotulados con los nombres de cada vaca serán tamizados por filtros de 100um y de esa forma poder conservar solo las células de ovocitos con sus cumulus o COCs, una vez tamizados por medio del lavado y el filtro serán transferidos a Placas Petri de 35x10mm con medio Hepes (H-199®) y así poder contados y clasificados en un estereoscopio a un aumento entre 20x y 40x.

Para su clasificación se tendrá en cuenta su aspecto y morfología, teniendo 4 categorías; Viables A y B y No Viables C y D. Las características a tener en cuenta serán: Las capas de células del cumulus y un citoplasma homogéneo, también ovocitos parcialmente cubiertos por células de cúmulos y tengan un citoplasma regular, ovocitos desnudos y ovocitos rodeados por fibrina únicamente con aspecto de telas de araña (45).

Figura N° 9 Clasificación de los COCs



Fuente: Lonergan P (45).

4.7. ASPECTOS ÉTICOS DE LA INVESTIGACIÓN

Los aspectos éticos de la presente investigación están contemplados en los reglamentos específicos de la Universidad Peruana Los Andes tal como se presenta a continuación:

El investigador cumplió los principios y normas de comportamiento del código de ética para la investigación científica de la Universidad Peruana los Andes. Estipulados en el Reglamento General de Investigación,

ARTÍCULO 27:

- Se protegió el grupo de trabajo conformado por animales bovinos de acuerdo al reglamento de protección de animales, por lo tanto, la obtención de los datos se efectuó sin perjuicio ni maltrato a estos. Se respetó la Ley 30407, Capítulo IV, artículos 16, animales beneficiados y de bienestar animal. Es decir que la investigación evitó acciones lesivas a la naturaleza y a la biodiversidad, lo que implica el respeto al conjunto de todas y cada una de las especies de seres vivos y de sus variedades, así como a la diversidad genética.
- No se dañó a ningún animal para la realización de esta investigación.
- La presente investigación se realizó con el consentimiento informado y declaración de confidencialidad. Además, para la manipulación y aplicación de los DIB de p4, como para la recolección de ovocitos se solicitó permiso y autorización a la administración de la UNCP.
- El investigador cumplió con los principios de beneficencia y responsabilidad para poder garantizar la veracidad y objetividad de esta investigación.

ARTICULO 28:

- El investigador garantiza haber realizado una investigación original y bajo los parámetros que estipula el RGI de la Universidad Peruana Los Andes.
- Los datos recolectados están a disposición de forma abierta y completa en los anexos, asegurando que no hubo de ninguna forma falsificación o invención de los mismos.
- Además, la investigación contempla evitar el plagio de acuerdo a los acápites de los reglamentos en mención,

CAPÍTULO V. RESULTADOS

5.1. DESCRIPTIVOS ESTADÍSTICOS

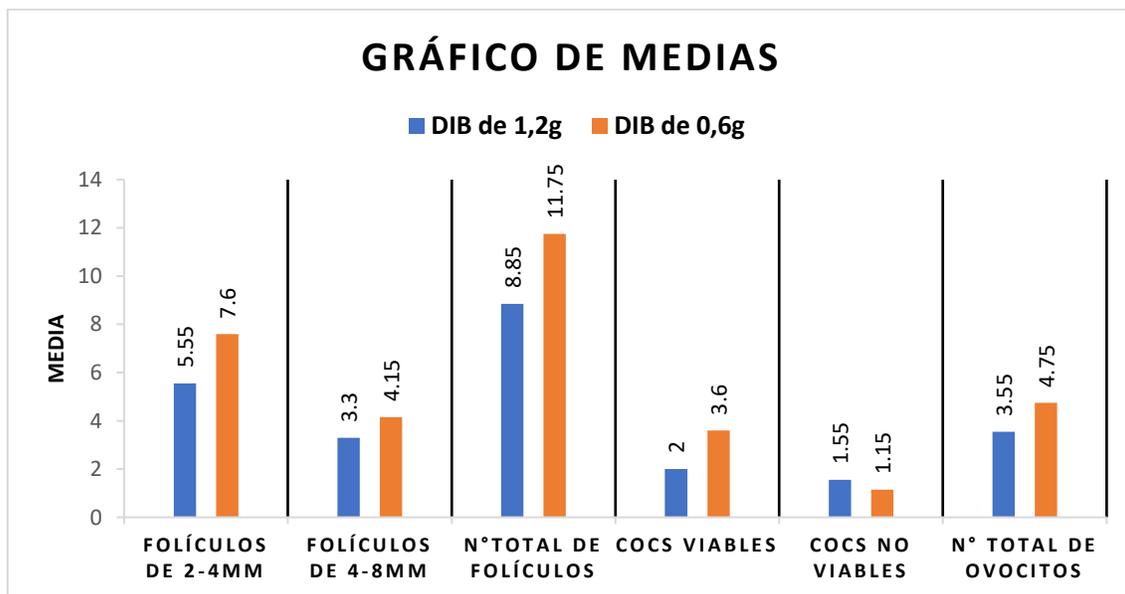
DESCRIPTIVOS ESTADÍSTICOS PARA LA VARIABLE RECOLECCIÓN DE FOLÍCULOS Y COCS CON DOS FUENTES DE PROGESTERONA EN DISPOSITIVO DIB, EN VACAS BROWN SWISS

A continuación, se presentan los resultados del efecto que tiene la sincronización de onda folicular con ambas fuentes de progesterona para la recolección de ovocitos guiada por ultrasonografía en vacas Brown Swiss, siendo de interés para la maduración y posterior fertilización in vitro.

Tabla N° 4 Promedio de: Folículos recolectados de 2-4 mm, 4-8mm, N° total de folículos, N° Total de COCs Viables, N° Total de COCs No Viables y N° total de ovocitos recuperados; con dos tratamientos a base de dispositivo intravaginal Bovinos (DIB) de 1.2g y 0.6g de P₄

Tratamientos	N	Rep.	Folículos de 2-4mm	Folículos de 4-8mm	N° total de folículos	N° Total de COCs Viables	N° Total de COCs No viables	N° Total, de ovocitos recuperados
DIB de 1.2g	7	20	5.55 ± 3.39	3.3 ± 2.09	8.85 ± 3.33	2.0±1.65	1.55±1.05	3.55 ± 2.33
			(111)	(66)	(177)	(40)	(31)	(71)
DIB de 0.6g	7	20	7.6 ± 2.76	4.15 ± 2.08	11.75 ± 2.67	3.6±2.30	1.15±0.88	4.75 ± 2.34
			(152)	(83)	(235)	(72)	(23)	(95)

Figura N° 10 Gráfico de medias de la Tabla N° 4.



En la Tabla N° 4 y Figura N° 10. Se muestra la media obtenida de las 6 variables que involucran a los Folículos y Ovocitos (COCs) obtenidos de ambos tratamientos con DIB de P4. Se observa que existe mayor número de folículos y ovocitos recolectados mediante la aplicación de 0,6 g de progesterona mediante un dispositivo intravaginal bovino.

ESTADÍSTICOS DESCRIPTIVOS PARA LA RECOLECCIÓN DE FOLÍCULOS DE 2-4MM MEDIANTE LA APLICACIÓN DE 1,2G Y 0,6G DE PROGESTERONA EN DISPOSITIVO INTRAVAGINAL (DIB)

Tabla N° 5 Promedio de Folículos recolectados de 2 a 4 mm post tratamiento de progesterona 1,2g en dispositivo intravaginal (DIB).

Parámetros	T1, 1.2g de DIB	T2, 0.6g de DIB
Repeticiones	20	20
N° de Fol. De 2-4mm	111	152
Media	5.55	7.6
% N° de Fol. T1 y T2	42.2% (263)	57.8% (263)
Mediana	5	8
Desviación estándar	3,39	2,76
Mínimo	0	2
Máximo	12	11

La Tabla N° 5 muestra el Número de Folículos de 2 a 4mm obtenidos con dos fuentes de progesterona en donde el tratamiento 2 mediante la aplicación de progesterona de 0,6g del T2 tiene mayor porcentaje (57.8%) de obtención que el de T1 (42.2%).

ESTADÍSTICOS DESCRIPTIVOS PARA LA RECOLECCIÓN DE FOLÍCULOS DE 4-8MM MEDIANTE LA APLICACIÓN DE 1,2G Y 0,6G DE PROGESTERONA EN DISPOSITIVO INTRAVAGINAL (DIB).

Tabla N° 6 Promedio de folículos recolectados de 4 a 8 mm post tratamiento de progesterona 1,2 y 0,6g en dispositivo intravaginal (DIB).

Parámetros	T1, 1.2g de DIB	T2, 0.6g de DIB
Repeticiones	20	20
N° de Fo. De 4-8mm	66	83
Media	3.3	4.15
% N° de Fol. T1 y T2	44.3% (149)	55.7% (149)
Mediana	2	4
Desviación estándar	2.09	2.08
Mínimo	0	7
Máximo	1	8

La Tabla N° 6 muestra el número de folículos de 4 a 8mm obtenidos con dos fuentes de progesterona en donde el T2 mediante la aplicación de progesterona de 0,6 g tiene mayor porcentaje (55.7%) de obtención que el de T1(44.3%).

5.2. Estadísticos descriptivos para determinar el N° total folículos aspirados y la Cantidad y Calidad de Ovocitos, recolectados mediante la aplicación de 1,2 y 0,6 g de progesterona en dispositivo intravaginal (DIB)

Tabla N° 7 Numero de folículos aspirados y ovocitos recuperados en vacas Brown Swiss tratadas con 1,2 y 0,6 g de progesterona en dispositivo intravaginal (DIB)

Tratamiento	N	Repeticiones	Número de folículos aspirados	Número de ovocitos recuperados	Recuperados/aspirados
DIB de 1.2g	7	20	(177)	(71)	71/177 (0,401)
DIB de 0.6g	7	20	(235)	(95)	95/235 (0,404)

En la Tabla N° 7 se señala que, de un total de folículos aspirados realizadas con el DIB de 1,2 g, solo se ha recuperado 71 ovocitos (0.401), viniendo a ser una tasa de 40.1% como recuperación general, mientras que para el tratamiento con DIB de 0,6 g se reporta una mayor recuperación con 95 ovocitos (0,404) con una tasa de recuperación de 40,4%.

Tabla N° 8 Medias \pm D.E. de Folículos aspirados, COCs recuperados, COCs viables y COCs No Viables; en vacas Brown Swiss tratadas con 1,2 y 0,6 g de progesterona en dispositivo intravaginal (DIB)

Tratamiento	Rep.	Total, de folículos aspirados	Total, de ovocitos recuperados	N° Total de COCs viables	N° Total de COCs No viables
DIB de 1.2g	20	8.85 \pm 3.33	3.55 \pm 2.33	2.0 \pm 1.65	1.55 \pm 1.05
DIB de 0.6g	20	11.75 \pm 2.67	4.75 \pm 2.34	3.6 \pm 2.30	1.15 \pm 0.88

En la tabla N° 8 al analizar el efecto de los tratamientos sobre la obtención de folículos y ovocitos, podemos apreciar que la estimulación ovárica con el T2., después de la ablación folicular, tuvo una tendencia numérica ligeramente mayor en el número de folículos y ovocitos recuperados mediante la técnica OPU, así como de los ovocitos viables y no viables, con respecto al T1. En el presente estudio se tuvo en cuenta que los ovocitos se clasificaron en A, B, C y D. Los de calidad A y B fueron considerados viables y los de calidad C y D fueron considerados no viables, tanto para la maduración como su posterior fertilización in vitro.

5.3. PRUEBA DE HIPOTESIS: Resultados inferenciales

Tabla N° 9 HIPOTESIS ESPECÍFICA N° 1.

1	<p>Planteamiento de hipótesis estadísticas específica N°1 Ho: No existe diferencias del efecto de la aplicación de progesterona en dispositivo intravaginal (DIB) de 1.2 g y 0.6 g sobre el número de folículos de 2 a 4mm, obtenidos mediante aspiración guiada por ultrasonografía en vacas Brown Swiss. H1: Existe diferencias del efecto de la aplicación de progesterona en dispositivo intravaginal (DIB) de 1.2 g y 0.6 g sobre el número de folículos de 2 a 4mm, obtenidos mediante aspiración guiada por ultrasonografía en vacas Brown Swiss.</p>															
2	<p>Nivel de significancia o riesgo Nivel de Significancia (alfa) $\alpha = 0.05 = 5\%$</p>															
3	<p>Utilización de la prueba estadística: t de Student para muestras independientes <i>Empleamos la prueba T para muestras independientes</i> a fin de comparar las medias de dos grupos de tratamientos diferentes.</p>															
4	<p>Intervalos de confianza (95%) para la media número de folículos de 2 a 4mm, con DIB de dosis de 1,2g y 0,6g</p> <table border="1" data-bbox="326 905 1419 1203"> <thead> <tr> <th data-bbox="326 905 857 1041">Medidas</th> <th data-bbox="857 905 1149 1041">N.º de folículos de 2 a 4 mm con dosis de 1,2 g de progesterona</th> <th data-bbox="1149 905 1419 1041">N.º de folículos de 2 a 4 mm con dosis de 0,6 g de progesterona</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td data-bbox="326 1041 857 1083">Media =</td> <td data-bbox="857 1041 1149 1083">5.55</td> <td data-bbox="1149 1041 1419 1083">7,60</td> </tr> <tr> <td data-bbox="326 1083 857 1125">Error estándar =</td> <td data-bbox="857 1083 1149 1125">0.759</td> <td data-bbox="1149 1083 1419 1125">0,617</td> </tr> <tr> <td data-bbox="326 1125 857 1167">IC 95% Límite inferior =</td> <td data-bbox="857 1125 1149 1167">4.062</td> <td data-bbox="1149 1125 1419 1167">6.391</td> </tr> <tr> <td data-bbox="326 1167 857 1203">IC 95% Límite superior =</td> <td data-bbox="857 1167 1149 1203">7.038</td> <td data-bbox="1149 1167 1419 1203">8.809</td> </tr> </tbody> </table> <p>Comparación entre medias del número de folículos de 2 a 4mm, con DIB de dosis de 1,2g y 0,6 g Valor de P= 0,043= 4,3% Lectura del p-valor Con una probabilidad de error de 4,3%, existe diferencias significativas del efecto de la aplicación de progesterona en dispositivo intravaginal (DIB) de 1.2 g y 0,6 g sobre el número de folículos de 2 a 4mm</p>	Medidas	N.º de folículos de 2 a 4 mm con dosis de 1,2 g de progesterona	N.º de folículos de 2 a 4 mm con dosis de 0,6 g de progesterona	Media =	5.55	7,60	Error estándar =	0.759	0,617	IC 95% Límite inferior =	4.062	6.391	IC 95% Límite superior =	7.038	8.809
Medidas	N.º de folículos de 2 a 4 mm con dosis de 1,2 g de progesterona	N.º de folículos de 2 a 4 mm con dosis de 0,6 g de progesterona														
Media =	5.55	7,60														
Error estándar =	0.759	0,617														
IC 95% Límite inferior =	4.062	6.391														
IC 95% Límite superior =	7.038	8.809														
5	<p>Toma de decisiones: (dar como respuesta una de las Hipótesis) Existe diferencias del efecto de la aplicación de progesterona en dispositivo intravaginal (DIB) de 1.2 g y 0.6 g sobre el número de folículos de 2 a 4mm, obtenidos mediante aspiración guiada por ultrasonografía en vacas Brown Swiss.</p>															
6	<p>Interpretación de los resultados: Se acepta la hipótesis alterna, y se concluye que, con el uso de la DIB de 0,6 g de progesterona, el promedio de folículos aspirados de 2 a 4 mm, es significativamente mayor que con el uso de la DIB 1,2 g., en vacas Brown Swiss.</p>															

Tabla N° 10 HIPOTESIS ESPECÍFICA N° 2.

1	<p>Planteamiento de hipótesis estadísticas específica N°2 Ho: No existe diferencias del efecto de la aplicación de progesterona en dispositivo intravaginal (DIB) de 1.2 g y 0.6 g sobre el número de folículos de 4 a 8 mm, obtenidos mediante aspiración guiada por ultrasonografía en vacas Brown Swiss. H1: Existe diferencias del efecto de la aplicación de progesterona en dispositivo intravaginal (DIB) de 1.2 g y 0.6 g sobre el número de folículos de 4 a 8 mm, obtenidos mediante aspiración guiada por ultrasonografía en vacas Brown Swiss.</p>															
2	<p>Nivel de significancia o riesgo Nivel de Significancia (alfa) $\alpha = 0.05 = 5\%$</p>															
3	<p>Utilización de la prueba estadística: t de Student para muestras independientes Empleamos la prueba T para muestras independientes a fin de comparar las medias de dos grupos de tratamientos diferentes.</p>															
4	<p>Intervalos de confianza (95%) para la media número de folículos de 4 a 8mm, con DIB de dosis de 1,2g y 0,6 g</p> <table border="1" data-bbox="321 842 1419 1142"> <thead> <tr> <th data-bbox="321 842 834 982">Medidas</th> <th data-bbox="834 842 1125 982">N.º de folículos de 4 a 8mm con dosis de 1,2 g de progesterona</th> <th data-bbox="1125 842 1419 982">N.º de folículos de 4 a 8mm con dosis de 0,6 g de progesterona</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td data-bbox="321 982 834 1024">Media =</td> <td data-bbox="834 982 1125 1024">3,30</td> <td data-bbox="1125 982 1419 1024">4,15</td> </tr> <tr> <td data-bbox="321 1024 834 1066">Error estándar =</td> <td data-bbox="834 1024 1125 1066">0,465</td> <td data-bbox="1125 1024 1419 1066">0,466</td> </tr> <tr> <td data-bbox="321 1066 834 1108">IC 95% Límite inferior =</td> <td data-bbox="834 1066 1125 1108">2,389</td> <td data-bbox="1125 1066 1419 1108">3,237</td> </tr> <tr> <td data-bbox="321 1108 834 1142">IC 95% Límite superior =</td> <td data-bbox="834 1108 1125 1142">4,211</td> <td data-bbox="1125 1108 1419 1142">5,063</td> </tr> </tbody> </table> <p>Comparación entre medias del número de folículos de 4 a 8mm, con DIB de dosis de 1,2g y 0,6g Valor de P= 0,205= 20.5% Lectura del p-valor Con una probabilidad de error de 20.5%, existe diferencias significativas del efecto de la aplicación de progesterona en dispositivo intravaginal (DIB) de 1.2 g y 0,6 g sobre el número de folículos de 4 a 8mm</p>	Medidas	N.º de folículos de 4 a 8mm con dosis de 1,2 g de progesterona	N.º de folículos de 4 a 8mm con dosis de 0,6 g de progesterona	Media =	3,30	4,15	Error estándar =	0,465	0,466	IC 95% Límite inferior =	2,389	3,237	IC 95% Límite superior =	4,211	5,063
Medidas	N.º de folículos de 4 a 8mm con dosis de 1,2 g de progesterona	N.º de folículos de 4 a 8mm con dosis de 0,6 g de progesterona														
Media =	3,30	4,15														
Error estándar =	0,465	0,466														
IC 95% Límite inferior =	2,389	3,237														
IC 95% Límite superior =	4,211	5,063														
5	<p>Toma de decisiones (dar como respuesta una de las Hipótesis) No existe diferencias del efecto de la aplicación de progesterona en dispositivo intravaginal (DIB) de 1.2 g y 0.6 g sobre el número de folículos de 4 a 8 mm, obtenidos mediante aspiración guiada por ultrasonografía en vacas Brown Swiss.</p>															
6	<p>Interpretación de los resultados: Según el valor observado de p valor ($p > 0.05$) se concluye que la aplicación de progesterona en dispositivo intravaginal (DIB) con dosis de 1.2g y 0.6g., no influye sobre el número de folículos de 4 a 8 mm en vacas Brown Swiss. Por lo que se acepta la hipótesis nula.</p>															

Tabla N° 11 HIPOTESIS ESPECÍFICA N° 3.

1	<p>Planteamiento de hipótesis estadísticas específica N°3 Ho: No existe diferencias del efecto de la aplicación de progesterona en dispositivo intravaginal (DIB) de 1.2g y 0.6g sobre el Número de COCs recuperados; obtenidos mediante aspiración guiada por ultrasonografía en vacas Brown Swiss. H1: Existen diferencias del efecto de la aplicación de progesterona en dispositivo intravaginal (DIB) de 1.2g y 0.6g sobre el Número de COCs recuperados; obtenidos mediante aspiración guiada por ultrasonografía en vacas Brown Swiss.</p>															
2	<p>Nivel de significancia o riesgo Nivel de Significancia (alfa) $\alpha = 0.05 = 5\%$</p>															
3	<p>Utilización de la prueba estadística: t de Student para muestras independientes Empleamos la prueba T para muestras independientes a fin de comparar las medias de dos grupos de tratamientos diferentes.</p>															
4	<p>Intervalos de confianza (95%) para la media número total de ovocitos recuperados con DIB de dosis de 1,2g y 0,6g</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="text-align: center;">Medidas</th> <th style="text-align: center;">N.º de COCs recuperados con dosis de 1,2 g de progesterona</th> <th style="text-align: center;">N.º de COCs recuperados con dosis de 0,6 g de progesterona</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Media =</td> <td style="text-align: center;">3,55</td> <td style="text-align: center;">4,75</td> </tr> <tr> <td>Error estándar =</td> <td style="text-align: center;">0,521</td> <td style="text-align: center;">0,523</td> </tr> <tr> <td>IC 95% Límite inferior =</td> <td style="text-align: center;">2.529</td> <td style="text-align: center;">3.725</td> </tr> <tr> <td>IC 95% Límite superior =</td> <td style="text-align: center;">4.571</td> <td style="text-align: center;">5.775</td> </tr> </tbody> </table> <p>Prueba de muestras independientes: Prueba de Levene con $p > 0,761$ indica la igualdad de varianzas de los dos tratamientos (distribución normal de datos)</p> <p>Valor de P= 0,112= 11.2% Lectura del p-valor Con una probabilidad de error de 11.2%, existe diferencias significativas del efecto de la aplicación de progesterona en dispositivo intravaginal (DIB) de 1.2 g y 0,6 g sobre el número total de ovocitos recuperados, mediante aspiración guiada por ultrasonografía en vacas Brown Swiss.</p>	Medidas	N.º de COCs recuperados con dosis de 1,2 g de progesterona	N.º de COCs recuperados con dosis de 0,6 g de progesterona	Media =	3,55	4,75	Error estándar =	0,521	0,523	IC 95% Límite inferior =	2.529	3.725	IC 95% Límite superior =	4.571	5.775
Medidas	N.º de COCs recuperados con dosis de 1,2 g de progesterona	N.º de COCs recuperados con dosis de 0,6 g de progesterona														
Media =	3,55	4,75														
Error estándar =	0,521	0,523														
IC 95% Límite inferior =	2.529	3.725														
IC 95% Límite superior =	4.571	5.775														
5	<p>Toma de decisiones (dar como respuesta una de las Hipótesis) No existe diferencias significativas del efecto de la aplicación de progesterona en dispositivo intravaginal (DIB) de 1.2 g y 0,6 g sobre el número total de ovocitos recuperados, mediante aspiración guiada por ultrasonografía en vacas Brown Swiss.</p>															
6	<p>Interpretación de los resultados: Con respecto a la evaluación número total de ovocitos recuperados luego de la aplicación de dosis de 1.2 y 0.5 g de progesterona en dispositivos intravaginales, se tiene que no existe influencia de estas hormonas sobre la calidad los ovocitos tipo A, B, C y D, teniendo un $p = 0.112$ ($p > 0.05$).</p>															

Tabla N° 12 HIPOTESIS ESPECÍFICA N° 4.

1	<p>Planteamiento de hipótesis estadísticas específica N°2 Ho: No existe diferencias del efecto de la aplicación de progesterona en dispositivo intravaginal (DIB) de 1.2g y 0.6g sobre la calidad de COCs recuperados, obtenidos mediante aspiración guiada por ultrasonografía en vacas Brown Swiss. H1: Existe diferencias del efecto de la aplicación de progesterona en dispositivo intravaginal (DIB) de 1.2 g y 0.6 g sobre la calidad de COCs recuperados, obtenidos mediante aspiración guiada por ultrasonografía en vacas Brown Swiss.</p>															
2	<p>Nivel de significancia o riesgo Nivel de Significancia (alfa) $\alpha = 0.05 = 5\%$</p>															
3	<p>Utilización de la prueba estadística: t de Student para muestras independientes Empleamos la prueba T para muestras independientes a fin de comparar las medias de dos grupos de tratamientos diferentes.</p>															
4	<p>Intervalos de confianza (95%) para la media, Calidad de COCs (complejo ovocito cumulus) viables por tratamiento, con DIB de dosis de 1,2g y 0,6g.</p> <table border="1" data-bbox="321 856 1419 1150"> <thead> <tr> <th data-bbox="321 856 857 995">Medidas</th> <th data-bbox="857 856 1149 995">N.º de COCs viables (A, B) con dosis de 1,2 g de progesterona</th> <th data-bbox="1149 856 1419 995">N.º de COCs viables (A, B) con dosis de 0,6 g de progesterona</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td data-bbox="321 995 857 1031">Media =</td> <td data-bbox="857 995 1149 1031">2.00</td> <td data-bbox="1149 995 1419 1031">3.60</td> </tr> <tr> <td data-bbox="321 1031 857 1066">Error estándar =</td> <td data-bbox="857 1031 1149 1066">0.370</td> <td data-bbox="1149 1031 1419 1066">0.515</td> </tr> <tr> <td data-bbox="321 1066 857 1102">IC 95% Límite inferior =</td> <td data-bbox="857 1066 1149 1102">1.275</td> <td data-bbox="1149 1066 1419 1102">2.591</td> </tr> <tr> <td data-bbox="321 1102 857 1150">IC 95% Límite superior =</td> <td data-bbox="857 1102 1149 1150">2.725</td> <td data-bbox="1149 1102 1419 1150">4.609</td> </tr> </tbody> </table> <p>Valor de P= 0,016= 1.6% Lectura del p-valor Con una probabilidad de error de 1.6%, existe diferencias significativas del efecto de la aplicación de progesterona en dispositivo intravaginal (DIB) de 1.2 g y 0,6 g sobre la Calidad de COCs (complejo ovocito cumulus) viables por tratamiento, mediante aspiración guiada por ultrasonografía en vacas Brown Swiss.</p>	Medidas	N.º de COCs viables (A, B) con dosis de 1,2 g de progesterona	N.º de COCs viables (A, B) con dosis de 0,6 g de progesterona	Media =	2.00	3.60	Error estándar =	0.370	0.515	IC 95% Límite inferior =	1.275	2.591	IC 95% Límite superior =	2.725	4.609
Medidas	N.º de COCs viables (A, B) con dosis de 1,2 g de progesterona	N.º de COCs viables (A, B) con dosis de 0,6 g de progesterona														
Media =	2.00	3.60														
Error estándar =	0.370	0.515														
IC 95% Límite inferior =	1.275	2.591														
IC 95% Límite superior =	2.725	4.609														
5	<p>Toma de decisiones (dar como respuesta una de las Hipótesis) Existe diferencias significativas del efecto de la aplicación de progesterona en dispositivo intravaginal (DIB) de 1.2 g y 0,6 g sobre la Calidad de COCs (complejo ovocito cumulus) viables por tratamiento, mediante aspiración guiada por ultrasonografía en vacas Brown Swiss.</p>															
6	<p>Interpretación de los resultados: Para la evaluación Calidad de COCs (complejo ovocito cumulus) viables por tratamiento, con DIB de dosis de 1,2g y 0,6g., se concluye que existe efecto favorable sobre la mayor cantidad de ovocitos viables con la dosis de 0,6. Estadísticamente, tiene un $p = 0.016$ ($p < 0.05$).</p>															

5.4. ANALISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El presente trabajo evalúa el efecto de dos dispositivos intravaginales bovinos con Progesterona(P4) sobre la sincronización de ondas foliculares en vacas Brown Swiss con la finalidad de recuperar u obtener un número determinado de folículos de 2 a 4 mm, y de 4 a 8mm, así como determinar el Número de COCs recuperados y la calidad de los mismos, mediante OPU en el Valle del Mantaro, en el departamento de Junín perteneciente al Perú. Los resultados obtenidos en la investigación, demuestran que el promedio de folículos recolectados y de ovocitos recuperados por animal en los dos tratamientos con diferentes dosis de progesterona (T1=1,2; T2=0,6), presentan valores de $8,85 \pm 3.33$ y $11,75 \pm 2.67$ (folículos recolectados) y de $3,55 \pm 2.33$ (40.1%) y $4,75 \pm 2.34$ (40.4%) (COCs recuperados) respectivamente. Estos valores obtenidos son independientemente de su localización derecha o izquierda. Los valores obtenidos y sometidos a una prueba estadística muestran diferencia estadística entre los dos tratamientos, lo que indica que el uso de la progesterona de dosis 0,6g, influye significativamente en la obtención de folículos de 2 a 4mm y en la calidad de COCs recuperados.

Investigaciones realizadas por Sarmiento S. (6) reporta promedios de folículos visualizados por animal con el tratamiento experimental por ablación folicular de 11.7 en comparación con el uso de GnRH y BE con valores promedios de 9,8 y 9,0. Así mismo Vásquez J. (12) también reporta tasa de 10,40 y 11,25 utilizando para ellos la sincronización de la onda folicular y la administración de Propilenglicol como suplemento energético el cual ayuda a incrementar el número de folículos y ovocitos. Por otro lado, Santi L. (14) reportó una tasa de total de 7,6 folículos aspirados, y una tasa de recuperación de ovocitos de 19.4% (0,194), el cual representa valores mucho menores a lo encontrado por nuestra investigación, el cual podría deberse a la técnica empleada como lo señala Bols et al. (32) Caso contrario, la investigación realizada por Solís A. (8) reporta un mayor número de folículos aspirados (18,5) y ovocitos recuperados (12,0) durante un periodo de siete semanas y entre uno y dos sesiones por semana, el cual difiere de nuestra investigación en la cual realizamos una sola sesión de trabajo cada 15 días con 7 repeticiones, 3 para el T1 y 4 para el T2. Por otro lado, al contrastar nuestro hallazgo en cuanto a número de folículos aspirados y COCs recuperados, con trabajos realizados por Ledur F. (7), Bols et al. (32) utilizando diferentes protocolos hormonales, obtuvieron una tasa

de recuperación que van desde 36% a 44.2%, los cuales son similares a nuestra investigación. Las diferencias encontradas entre los reportes señalados y esta investigación podrían deberse a la edad del animal, la condición corporal, el estado de preñez y el tamaño de los ovarios e inclusive a razas, como lo señala Alvarado J. (9) el cual considera que la raza cebuina tienen la capacidad de producir mayor cantidad de folículos en comparación con las razas europeas. Por su parte Bols et al. (32) considera que trabajar con equipos específicos y un sistema de guía de agujas para la aspiración folicular, optimiza y aumenta la tasa de recuperación de ovocitos.

Con respecto al efecto de la aplicación de progesterona en dispositivo intravaginal sobre el número de folículos de 2 a 4mm, los resultados fueron muy favorables con el uso de DIB de 0,6 g de P4 en comparación con DIB 1,2 g ($P < 0,05$), en donde el número medio de folículos aspirados fue de $7,60 \pm 2,76$ (64,7%) del número total. Actualmente no hay reportes sobre el uso de diferentes dispositivos intravaginal de P4 con concentraciones de 1.2g y 0.6g que se hayan aplicado en condiciones de sierra para la recolección de folículos y ovocitos, además una gran mayoría de investigadores coinciden en señalar que los folículos de 2 a 4mm de diámetro son de mayor importancia para obtener ovocitos viables para la fertilización in vitro. Autores como Chaubal S. (51) mencionan que la predominancia de folículos pequeños en una respuesta superovulatoria hormonal podría deberse a la dinámica folicular en el ovario, que como se sabe el desarrollo de un folículo dominante producirá grandes cantidades de estrógenos estimulando a la LH para la ovulación, e inhibina por lo que detiene el crecimiento de los demás folículos reclutados, mostrándose por tanto una mayor cantidad de folículos pequeños. Las investigaciones realizadas por Santi L. (14) señala valores de 54,3% para folículos < 5 mm, que contrastados con nuestros resultados son mucho menores, lo cual podría deberse a la técnica empleada y uso de hormonas y el operador como lo señala Bols et al. (32) Otros investigadores como Quispe et al. (11) obtuvieron un rango entre 7,7 y 4,4 folículos de 2 – 4mm por animal y por tratamiento hormonal, resultado que es muy similar de lo observado en el presente trabajo. En el mencionado estudio, se utilizó un protocolo que consistió en la inserción del DIB y la administración simultánea de Benzoato de Estradiol y Prostaglandina (T1) y GnRH y Prostaglandina (T2).

En referencia al efecto de la aplicación de progesterona en dispositivo intravaginal sobre el número de folículos de 4 a 8mm, concluimos que la aplicación de progesterona en dispositivo

intravaginal (DIB) con dosis de 1.2 g y 0.6 g., no influye ($p > 0.05$) sobre la recolección de folículos > 4 mm (grandes), obteniéndose promedios de $3,30 \pm 2.09$ (37,3%) y $4,15 \pm 2.08$ (35,3%) folículos para cada tratamiento hormonal. Como podemos apreciar, nuestros resultados muestran una mayor cantidad de folículos pequeños (2-4mm) entre el 62,7% y 64,7% en relación a folículos grandes (4-8mm) 37,3% y 35,3%. Estos resultados concuerdan con los señalado por Santi, L (14). que obtuvo 37.0 % para folículos entre 5 a 10 mm y 8.7% de folículos mayores a 10mm. También Bols et al (32). en su investigación mencionan haber hallado una mayor cantidad de folículos pequeños (< 5 mm) 74.4% en relación a folículos grandes (≥ 5 mm) 25.6 %, lo cual estaría relacionado según, Moussa et al. (25) a que una mayor cantidad de folículos pequeños podría ser debido a la presencia de un folículo dominante (mayor), quien inhibe el crecimiento del resto de folículos, siendo en el reclutamiento los folículos menores a 4mm.

Los resultados del efecto de la aplicación de progesterona en dispositivo intravaginal sobre el número total de folículos aspirados y sobre la cantidad y calidad de COCs recuperados; obtenidos mediante aspiración guiada por ultrasonografía en vacas Brown Swiss, demostraron que la aplicación de progesterona en dispositivo intravaginal (DIB) 0.6 g tiene un efecto muy favorable ($p < 0,05$) con respecto al uso de DIB de 1.2 g, sobre el número total de folículos aspirados; así como para la **Calidad de COCs (complejo ovocito cumulus) Viables** por cada tratamiento. El mayor número de folículos aspirados fueron con el DIB de 0,6g de P4 $11,75 \pm 2.67$ en comparación con DIB 1,2g que fue de 8.85 ± 3.33 , y de manera particular para los folículos de 2-4 mm, que tuvieron valores de 64,7%. Con respecto a la calidad de ovocitos recuperados, la tasa de recuperación de ovocitos viables categorías A y B fue de 75.8% (media de $3,6 \pm 2.3$) para el uso del DIB 0,6 g en comparación con DIB 1,2 g que fue de 56,3% ($2,0 \pm 1.65$). Estos resultados difieren a la investigación realizada por Ledur F (7). en las que utilizando FSH en dosis múltiple asociado el ácido hialurónico promovieron el crecimiento de folículos totales de 14,1 y 13,3 y por ende de una mayor recuperación de ovocitos viables de 5,5 y 5,7 en relación al grupo control no tratado con medias de 3,7. Estos resultados son evidentemente más altos que lo reportado en nuestra investigación, considerando que el objetivo de nuestro trabajo ha sido evaluar el efecto de la presencia de progesterona en la población folicular, con dosis de 1,2 y 0,6 g. Además, Quispe C, et al. (11) en una investigación encontró diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre el uso del DIB de 0.6g de P4 acompañado de BE y Prostaglandinas F2 α en la sincronización de onda folicular en donde este tratamiento es superior al uso de GnRH

vía I.M., para la obtención de folículos de 2 a 4mm con 7.7 y 4.4 folículos respectivamente siendo estos folículos pequeños de mayor importancia para la obtención de Ovocitos Viabiles. En referencia a la Calidad de COCs viables, el estudio de Solís A. et al. (8) utilizando una sincronización de la onda folicular mediante el método hormonal con estrógenos y progesterona reporta un número de ovocitos de calidad A y B, entre 3,9 (41%) folículos (una sola aspiración) y de 8,0 (34,5%) folículos viables (dos aspiraciones semanales), considerando que estas diferencias de recolección son debido al número de aspiraciones por semana y animales empleados por experimento que en este caso fueron cuatro vacas por tratamiento, y que en el caso de nuestra investigación se aspiró 1 sola vez por semana y con descansos de 14 días y se emplearon 7 animales por tratamiento. Así mismo, Alvarado A, et al. (10) señala haber recuperado un total de COCs Tipo A y B. de 36.97% los cuales son considerados aptos para maduración y fertilización in vitro. En nuestro estudio la calidad de los COCs fue evaluada en cuatro categorías A, B, C y D los cuales están fundamentadas por los criterios de selección propuestos por Lonergan P, Sharif H, Gordon I. (45). Los COCs de categoría A y B fueron considerados ovocitos viables y aptos para fecundación in vitro, los de categoría C y D ovocitos no viables. Así mismo Chaubal S, et al (51). señala que la calidad de los ovocitos puede ser influenciada en gran medida por aspectos técnicos como el procedimiento de aspiración, tipo de aguja y diámetros y la presión de vacío de aspiración.

Los resultados obtenidos en esta investigación sobre la cantidad de ovocitos recolectados demostraron que, al comparar estadísticamente los tratamientos con DIB 1,2 y 0,6 g de P4, no se halló diferencias estadísticamente significativas ($P > 0,05$), aunque la estimulación ovárica con progesterona al momento de reinicio de la onda folicular inducida con benzoato de estradiol y cloprostenol sódico permitió recuperar porcentajes similares de COCs para DIB 1,2 (40,1%) con respecto a DIB 0,6 (40.4%). Diferentes investigadores (10) (29) han señalado que las diferencias encontradas en los porcentajes de COCs recuperados podrían ser explicados por el protocolo de estimulación utilizado, tipo de hormona o dosis administradas, la raza de los animales, el equipo usado para OPU, sin excluir la experiencia del operador y el sistema de manejo de los animales. El trabajo de Sarmiento S (6). señala que la estimulación ovárica con FSH-LH al momento de reinicio de la onda folicular inducida con benzoato de estradiol tiene un efecto positivo sobre el desarrollo de ovocitos, permitiendo recuperar un porcentaje mayor de COCs (61,7%) con respecto a otras técnicas hormonales como son ablación folicular (52,4%), GnRH (55,7%). Pero

del análisis efectuado por Ledur F. (7) en su investigación detalla que a pesar de una mayor obtención de ovocitos en grupos tratados con FSH, el número de ovocitos viables y de embriones producidos no fue significativamente mayor, esto posiblemente debido a que el uso de FSH no produce un ambiente ideal para el desarrollo de ovocitos saludables.

5.5. CONCLUSIONES

- En la presente investigación, y de acuerdo con nuestros resultados podemos concluir, que la aplicación de progesterona en dispositivo intravaginal sobre el número de folículos, la cantidad y calidad de ovocitos obtenidos por OPU, fueron muy favorables con el uso de DIB de 0,6 g de P4 en comparación con DIB 1,2 g ($P < 0,05$), en donde el número medio de folículos aspirados fue de $11,75 \pm 2,67$ (235/20) y $4,75 \pm 2,34$ (95/20) de ovocitos recuperados, y de este último $3,6 \pm 2,30$ (75,8%) de COCs viables y aptos para fertilización.
- Al analizar el efecto de la aplicación de progesterona en dispositivo intravaginal sobre el número de folículos pequeños de 2 a 4mm, concluimos que la aplicación de progesterona en dispositivo intravaginal (DIB) con dosis de 0.6g., influye significativamente ($p < 0.05$) sobre la recolección de folículos pequeños en comparación con los folículos grandes > 4 mm, en donde el número medio de folículos aspirados pequeños (2-4mm) fue de $7,60 \pm 2,76$ (64,7%).
- Se determinó así mismo, que la aplicación de progesterona en dosis de 1,2 g y 0,6 g en dispositivo intravaginal no influye ($p > 0.05$) sobre la recolección de folículos de 4-8 mm (grandes), obteniéndose promedios de $3,30 \pm 2,09$ (37,3%) y $4,15 \pm 2,08$ (35,3%) folículos para cada tratamiento hormonal, el cual está relacionado según, varios investigadores, a que una mayor cantidad de folículos pequeños podría ser debido a la presencia de un folículo dominante (mayor), quien inhibe el crecimiento del resto de folículos, siendo en el reclutamiento los folículos menores a 4mm.
- La cantidad total de ovocitos recuperados por OPU, luego de la aplicación de progesterona en dosis de 1,2 y 0,6 g, fue similar entre tratamientos, pero estos porcentajes de COCs estuvieron por debajo de las cantidades reportados por otros investigadores en los cuales utilizaron otras hormonas y dosis administradas.

- Finalmente concluimos que la aplicación de progesterona en dispositivo intravaginal (DIB) 0.6 g tiene un efecto muy favorable ($p < 0,05$) con respecto al uso de DIB de 1.2 g, sobre el número total de folículos aspirados; así como para la **Calidad de COCs** (complejo ovocito cumulus) **Viables** de categorías A y B el cual tuvo una recuperación del 75,8% con una media de $3,6 \pm 2.30$.

5.6. RECOMENDACIONES

- Se recomienda utilizar un dispositivo intravaginal con 0.6g de progesterona en la sincronización de Onda folicular para obtener un mayor número de folículos de 2 a 4mm y mayor calidad de los ovocitos Viables por OPU.
- Se recomienda probar la sincronización con el DIB de 0.6g de P₄ a mayor tiempo de sincronización (7 días) para su recolección.
- La técnica OPU empleada durante el proceso de investigación no afectó la actividad reproductiva de las vacas ya que los mismos pudieron reestablecer su ciclo estral después de finalizado el tratamiento, por lo tanto, recomendamos utilizar otras fuentes de P₄ para futuros estudios y poder permitir los diferentes efectos de la misma en diferentes concentraciones y vías de administración.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bellenda OG. SITIO ARGENTINO DE PRODUCCIÓN ANIMAL. [Online]; 2003. Acceso 3 de Enero de 2021. Disponible en: <https://www.produccion-animal.com.ar/>.
2. Bellenda OG. Ecografiavet. [Online]; 2002. Acceso 7 de Enero de 2021. Disponible en: https://www.ecografiavet.com/pdf/Manejo_Lechero_Web.pdf.
3. Adams G, Dominguez M. APLICACIONES DEL ULTRASONIDO EN LA REPRODUCCIÓN BOVINA [Saskatchewan]: Wester Callege Of Veterinary Medicine; 2021.
4. Rusiñol A. Efecto de la adición de una Progesterona inyectable (MAD-4) en un protocolo de sincronización de celos en vaquillonas Holando [Tesis]. [Montevideo]: Universidad de la República; 2011.
5. Soria M, Soria C, Argudo D, Serpa G, Méndez S, Torres C, et al. SUPEROVULACIÓN CON SINCRONIZACIÓN DE LA ONFA FOLICULAR Y CON CELO NATURAL EN VACAS HOLSTEIN [Cuenca, Ecuador]: Universidad de Cuenca; 2017.
6. Sarmiento S, Naulaguari L. VALORACIÓN DE OVOCITOS OBTENIDOS MEDIANTE OVUM PICK-UP EN VAQUILLAS SOMETIDAS A PROTOCOLOS ALTERNATIVOS DE SINCRONIZACIÓN DE LA ONDA FOLICULAR Y ESTIMULADAS CON FSH-LH [Tesis]. [Cuenca]: Universidad de Cuenca; 2019.
7. Ledur F. CONTROL DEL DESARROLLO FOLICULAR PARA LA OBTENCIÓN DE COCS POR ASPIRACIÓN GUIADA POR ULTRASONOGRAFÍA [Tesis]. [Córdoba]: Universidad Nacional de Córdoba; 2013.
8. Solis A, Guerra R, Sandoya G, Armas R. EFECTO DE SINCRONIZACIÓN DE LA ONDA FOLICULAR Y DE LA FRECUENCIA DE ASPIRACIÓN DE FOLÍCULOS EN NOVILLAS DE LA RAZA BRAHMAN [Panamá]: Universidad de Panamá; 2012.
9. Alvarado J. EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DE OVOCITOS PROVENIENTES DE VACONAS CRIOLLAS Y OVARIOS DE MATADERO [Tesis]. [Cuenca]: Universidad de Cuenca; 2017.
10. Alvarado A, Gamarra G, Gallegos A, Samillán V. TASA DE RECUPERACIÓN DE OVOCITOS EN VACAS HOLSTEIN EN DESCARTE [Lima]: Universidad Agraria La Molina; 2015.

11. Quispe C, Mercado J, Fernández E, Mixan E, Gamarra S, Mellisho E. EFECTO DE TRATAMIENTOS CON BENZOATO DE ESTRADIOL O GnRH SOBRE DINÁMICA FOLICULAR PARA ASPIRACIÓN DE FOLÍCULOS (Ovum pick up) GUIADA POR ULTRASONIDO EN VACAS LECHERAS [Lima]: Universidad Nacional Agraria La Molina; 2014.
12. Vásquez J. TASA DE RECUPERACIÓN DE OVOCITOS POR OVUM PICK UP EN VACAS HOLSTEIN CON ADMINISTRACIÓN DE PROPILENGLICOL EN SU DIETA EN LA UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA [Tesis]. [Huancayo]: Universidad Nacional del Centro del Perú; 2016.
13. Quispe C, Ancco E, Solano J, Unchupaico I, Mellisho E. CAPACIDAD DE DESARROLLO EMBRIONARIO DE OVOCITOS DE BOVINO RECUPERADOS VÍA ULTRASONOGRAFÍA Y DE OVARIOS DE MATADERO [Huancayo-Lima]: Universidad Nacional Agraria La Molina; 2018.
14. Santi L. ASPIRACIÓN FOLICULAR GUIADA MEDIANTE ULTRASONOGRAFÍA CON EL TRNSDUCTOR ENDOVAGINAL HUMANO, PARA LA COLECCIÓN DE OVOCITOS EN VACAS BROWN SWISS EN ALTURA [Tesis]. [Puno]: Universidad Nacional Del Altiplano; 2018.
15. MINAG. PRODUCCIÓN PECUARIA Y AVÍCOLA. 2018th ed. [Lima-Perú]: Ministerio de Agricultura y Riego; 2017.
16. Hafez B. REPRODUCCIÓN E INSEMINACIÓN ARTIFICIAL EN ANIMALES. 6th ed. [México]: McGraw Hill; 2000.
17. Brito R, Teagle L. FISIOLÓGÍA DE LA REPRODUCCIÓN ANIMAL: CON ELEMENTOS DE BIOTECNOLOGÍA [Cuba]: Félix Varela; 2009.
18. González L. EVALUACIÓN DE LA EXPANSIÓN DE LAS CÉLULAS DEL CÚMULO EN LA MADURACIÓN IN VITRO DE TRES TIPOS MORFOLÓGICOS DE OOCITOS PROCEDENTES DE OVARIOS DE VACAS DE MATADERO DE LA CIUDAD DE LOJA CON DOS MEDIOS DE MADURACIÓN. [Tesis]. [Loja]: Universidad Nacional de Loja; 2012.
19. Galina C, Valencia J. REPRODUCCIÓN DE ANIMALES DOMÉSTICOS. [Online].; 2008. Acceso 20 de Febrero de 2021. Disponible en: https://www.academia.edu/44103306/Reproducci%C3%B3n_de_Los_Animales_Dom%C3%A9sticos_C_galina_y_J_Valencia.
20. Leibfried M, First L. CHARACTERIZATION OF BOVINE FOLICULAR OOCYTES AND THEIR HABILITY TO MATURE IN VITRO.. [Online]. Acceso 26 de Febrero de 2021. Disponible en: <https://academic.oup.com/jas/article-abstract/48/1/76/4697795?redirectedFrom=fulltext>.

21. Gordon I. EMBRYO TRANSFER AND ASSOCIATED TECHNIQUES IN CATTLE AND BUFFALOES [Cambridge]: University Press; 1999.
22. Salisbury G, Vademark L, Lodge J. FISIOLÓGÍA DE LA REPRODUCCIÓN E INSEMINACIÓN ARTIFICIAL EN LOS BOVINOS [Zaragoza-España]: Acribia S.A.; 1987.
23. Skinner M. ENCYCLOPEDIA OF REPRODUCTION. Segunda ed. [USA]: Academic Press; 2018.
24. Motlik J, Crozet N, Fulka J, Flechon J. MEIOTIC COMPETENCE IN VITRO OF PIG OOCYTES ISOLATED FROM EARLY ANTRAL FOLLICLES. Journals of Reproduction & Fertility Ltd. 1984.
25. Moussa M, Shu , Zhang X, Zeng F. MATERNAL CONTROL OF OOCYTE QUALITY IN CATTLE. [Online]; 2015. Acceso 30 de Junio de 2021. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378432015000238>.
26. Rivadeneira V. CICLO ESTRAL BOVINO [Lima]: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2013.
27. Rosales A, Guzmán A. APOPTOSIS EN LA ATRESIA FOLICULAR Y LA REGRESIÓN DEL CUERPO LÚTEO. [Online].; 2008. Acceso 28 de Febrero de 2021. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/613/61346205.pdf>.
28. Pierson R, Kartelic J, Giatherg O. BASIC PRINCIPIES AND TECHNIQUES FOR TRANSRECTAL ULTRASONOGRAPHY IN CATTLE AND HORSES. [Online].; 1988. Acceso 1 de Marzo de 2021. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0093691X88900283>.
29. Pieterse M, Vos P, Kruij T, Wurth Y, VanBaneden T, Willemse A, et al. TRANSVAGINAL ULTRASOUND GUIDED FOLLICULAR ASPIRATION OF BOVINE OOCYTES. [Online].; 1991. Acceso 3 de Marzo de 2021. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0093691X91901443>.
30. García A, Salaheddine M. EFFECTS OF REPEATED ULTRASOUND-GUIDED TRANSVAGINAL FOLLICULAR ASPIRATION ON BOVINE OOCYTE RECOVERY AND SUBSEQUENT FOLLICULAR DEVELOPMENT. [Online].; 1998. Acceso 5 de Marzo de 2021. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10732148/>.
31. Boni R. OVUM PICK-UP IN CATTLE: A 25 YR RETROSPECTIVE ANALYSIS. [Online].; 2012. Acceso 8 de Marzo de 2021. Disponible en: <https://www.animal-reproduction.org/article/5b5a605af7783717068b46f3>.

32. Bols P, Ysebaert M, Van S, Kruif A. EFFECTS OF NEEDLE TIP BEVEL AND ASPIRATION PROCEDURE ON THE MORPHOLOGY AND DEVELOPMENTAL CAPACITY OF BOVINE COMPACT CUMULUS OOCYTE COMPLEXES. [Online].; 1997. Acceso 9 de Marzo de 2021. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16728071/>.
33. Ireland J, Smith G, Scheetz D, Jimenez F, Folger J, Ireland J, et al. DOES SIZE MATER IN FEMALES? AN OVERVIEW OF THE IMPACT OF THE HIGH VARIATION RESERVE ON OVARIAN FUNCTION AND FERTILITY, UTILITY OF ANTI-MÜLLERIAN HORMONE AS A DIAGNOSTIC MARKER FOR FERTILITY AND CAUSES OF VARIATION IN THE OVARIAN RESERVE IN CATTLE. [Online].; 2011. Acceso 10 de Marzo de 2021. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21366975/>.
34. Merton J, De Roos A, Mullart E, De Rught L, Kaal L, Vos P, et al. FACTORS AFFECTING OOCYTE QUALITY AND QUANTITY IN COMMERCIAL APPLICATION OF EMBRYO TECHNOLOGIES IN THE CATTLE BREEDING INDUSTRY. [Online].; 2003. Acceso 14 de Marzo de 2021. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12499010/>.
35. Adams G, Matteri R, Kastelic J, Ko J, Ginther O. ASSOCIATION BETWEEN SURGES OF FSH AND THE EMERGENCE OF FOLLICULAR WAVES IN HEIFERS. [Online].; 1992. Acceso 18 de Marzo de 2021. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1552480/>.
36. Seneda M, Esper C, García J, Oliveira J, Vantini R. RELATIONSHIP BETWEEN FOLLICLE SIZE AND ULTRASOUND-GUIDED TRANSVAGINAL OOCYTE RECOVERY. [Online].; 2001. Acceso 20 de Marzo de 2021. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378432001001130>.
37. Bo G, Adams L, Pierson R, Tribulo H, Caccia M, Mapletoftl R. FOLLICULAR WAVE DYNAMICS AFTER ESTRADIOL-17P TREATMENT OF HEIFERS WITH OR WITHOUT A PROGESTOGEN IMPLANT. [Online].; 1994. Acceso 22 de Marzo de 2021. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0093691X9490821Y>.
38. Hagemann L. INFLUENCE OF THE DOMINANT FOLLICLE ON OOCYTES FROM SUBORDINATE FOLLICLES. [Online].; 1999. Acceso 25 de Marzo de 2021. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10729104/>.
39. Sartori R, Suarez F, Monson R, Guenther J, Rosa G, Wiltbank M. IMPROVEMENT IN RECOVERY OF EMBRYOS/OVA USING A SHALLOW UTERINE HOM FLUSHING TECHNIQUE IN SUPEROVULATED HOLSTEIN HEIFERS. [Online].;

2003. Acceso 30 de Marzo de 2021. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14511785/>.
40. Blondin P, Guilbault L, Sirard M. THE TIME INTERVAL BETWEEN FSH-P ADMINISTRATION AND SLAUGHTER CAN INFLUENCE THE DEVELOPMENTAL COMPETENCE OF BEEF HEIFER OOCYTES. [Online].; 1997. Acceso 1 de Abril de 2021. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16728173/>.
 41. Donaldson L. PORCINE, EQUINE AND OVINE FSH IN THE SUPEROVULATION OF CATTLE. [Online].; 1989. Acceso 10 de Abril de 2021. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5081728/>.
 42. Goodhand K, Watt R, Staines M, Hutchinson J, Broadbent P. IN VIVO OOCYTE RECOVERY AND IN VITRO EMBRYO PRODUCTION FROM BOVINE DONORS ASPIRATED AT DIFFERENT FREQUENCIES OR FOLLOWING FSH TREATMENT. [Online].; 1999. Acceso 12 de Abril de 2021. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10729017/>.
 43. Madison V, Avery BGT. SELECTION OF IMMATURE BOVINE OOCYTES FOR DEVELOPMENTAL POTENTIAL IN VITRO. [Online].; 1992. Acceso 18 de Abril de 2021. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/037843209290065L>.
 44. First N. SPERM MATURATION AND IN VITRO FERTILIZATION. En: Congr. Anim. Reprod.[London]; 1995
 45. Lonergan P, Sharif H, Gordon I. THE EFFECT OF RECOVERY METHOD ON THE TYPES OF TAMALESS OOCYTES OBTAINED FOR IN VITRO MADURATION. [Online].; 1994. Acceso 25 de Abril de 2021. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16727459/>.
 46. Hyttel P. CHRONOLOGICAL CHANGES OF BOVINE FOLLICULAR OOCYTE MATURATION. [Online].; 1989. Acceso 25 de Abril de 2021. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1186/BF03548130>.
 47. Austin C. OBSERVATIONS ON THE PENETRATION OF THE SPERM INTO THE MAMMALIAN EGG. [Online].; 1982. Acceso 28 de Abril de 2021. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14895481/>.
 48. Cox J, Hormazaba I. EFFECT OF THE CUMULUS IN VITRO FERTILIZATION OF BOVINE MATURED OOCYTES. [Online].; 2002. Acceso 29 de Abril de 2021. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12013454/>.
 49. Vieira L, Rodriguez C, Castro N, Guerreiro B, Silveira C, Moreira R, et al. SUPERSTIMULATION PRIOR TO THE OVUM PICK-UP TO IMPROVE IN VITRO

EMBRYO PRODUCTION IN LACTATING AND NON-LACTATING HOLSTEIN COWS. [Online].; 2014. Acceso 30 de Abril de 2021. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24839924/>.

50. Samillan V. TASA DE RECUPERACIÓN DE OVOCITOS EN VACAS HOLSTEIN DE DECARTE [Tesis]. [Lima]: Universidad Nacional Agraria La Molina; 2006.
51. Chaubal S, Molina J, Ohlrichs C, Ferre L, Faber D, Bols P, et al. COMPARISON OF DIFFERENT TRANSVAGINAL OVUM PICK-UP PROTOCOLS TO OPTIMISE OOCYTE RETRIEVAL AND EMBRYO PRODUCTION OVER A 10-WEEK PERIOD IN COWS. [Online].; 2006. Acceso 1 de Mayo de 2021. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16243385/>.
52. Spencer T, Burghardt R, Johnson G, Bazer F. CONCEPTUS SIGNALS FOR ESTABLISHMENT AND MAINTENANCE OF PREGNANCY. [Online].; 2004. Acceso 1 de Mayo de 2021. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15271478/>.
53. Cordero A. UTILIZACIÓN DE DISPOSITIVOS INTRAVAGINALES (CIDR-B) NUEVOS Y USADOS EN VACAS DE DOBLE PROPOSITO Y SU EFECTO EN LA TASA DE PREÑEZ. En. [Tesis]. [Córdoba]: Universidad Nacional de Córdoba; 2011. p. 35.
54. Oseda D, Alvarado H, Cori S, Zevallos S. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN. Tercera ed. [Lima-Perú]: Pirámide; 2011.

ANEXOS

MATRIZ DE CONSISTENCIA

Proyecto de Investigación Pre-experimental

Título: SINCRONIZACIÓN DE ONDA FOLICULAR CON PROGESTERONAS PARA LA RECOLECCIÓN DE OVOCITOS GUIADA POR ULTRASONOGRAFÍA EN VACAS BROWN SWISS, HUANCAYO-2021

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPOTESIS	VARIABLES	MUESTRA	DISEÑO
<p>Problema general ¿Qué efecto tendrá la sincronización de onda folicular con dos fuentes de progesterona para la recolección de ovocitos guiada por ultrasonografía en vacas Brown Swiss, Huancayo-2021?</p>	<p>Objetivo general Evaluar el efecto que tiene la sincronización de onda folicular con dos fuentes de progesterona para la recolección de ovocitos guiada por ultrasonografía en vacas Brown Swiss, Huancayo -2021.</p>	<p>Hipótesis específicas N° 1 HI: Existe diferencias del efecto de la aplicación de progesterona en dispositivo intravaginal (DIB) de 1.2 g y 0.6 g sobre el número de folículos de 2 a 4mm, obtenidos mediante aspiración guiada por ultrasonografía en vacas Brown Swiss.</p> <p>Hipótesis específicas N° 2 HI: Existe diferencias del efecto de la aplicación de progesterona en dispositivo intravaginal (DIB) de 1.2 g y 0.6 g sobre el número de folículos de 4 a 8 mm, obtenidos mediante aspiración guiada por ultrasonografía en vacas Brown Swiss.</p> <p>Hipótesis específicas N° 3 HI: Existen diferencias del efecto de la aplicación de progesterona en dispositivo intravaginal (DIB) de 1.2g y 0.6g sobre el Número de COCs recuperados; obtenidos mediante aspiración guiada por ultrasonografía en vacas Brown Swiss.</p> <p>Hipótesis específicas N° 4 HI: Existe diferencias del efecto de la aplicación de progesterona en dispositivo intravaginal (DIB) de 1.2 g y 0.6 g sobre la calidad de COCs recuperados, obtenidos mediante aspiración guiada por ultrasonografía en vacas Brown Swiss.</p>	<p>INDEPENDIENTES:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Progesterona en DIB de 1.2g. • Progesterona en DIB de 0.6g. <p>DEPENDIENTES:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Número de folículos de 2 a 4mm. • Número de folículos de 4 a 8mm. • Número de COCs recuperados. • Calidad de COCs recuperados. 	<p>Población: la población estuvo conformada por 30 vacunos en seca de la raza Brown Swiss, del establo de la facultad de Zootecnia de la Universidad Nacional del Centro del Perú,</p> <p>Muestra: La muestra será no probabilística por conveniencia, el presente estudio la muestra está conformada por 7 vacas Brown Swiss.</p>	<p>Tipo: Aplicada-Cuantitativa</p> <p>Nivel: Explicativo</p> <p>Diseño: Pre-experimental</p> <p>El diseño tiene el siguiente esquema:</p> <p>G1 → X1 → O1 G2 → X2 → O2</p> <p>Donde: G: Grupo de sujetos o casos. X: Estímulo, tratamiento o condición experimental O: Medición de los sujetos de un grupo posterior al tratamiento.</p>
<p>Problemas específicos</p> <ul style="list-style-type: none"> • ¿Cuál será el efecto de la progesterona en dispositivo Intravaginal (DIB) de 1,2g sobre la sincronización de onda folicular para la recolección de ovocitos guiada por ultrasonografía en vacas Brown Swiss, Huancayo-2021? • ¿Cuál será el efecto de la progesterona en dispositivo Intravaginal (DIB) de 0,6g sobre la sincronización de onda folicular para la recolección de ovocitos guiada por ultrasonografía en vacas Brown Swiss, Huancayo-2021? 	<p>Objetivos específicos</p> <ul style="list-style-type: none"> • Determinar el efecto de la progesterona en dispositivo Intravaginal (DIB) de 1.2g sobre la sincronización de onda folicular para la recolección de ovocitos guiada por ultrasonografía en vacas Brown Swiss, Huancayo -2021. • Determinar el efecto de la progesterona en dispositivo Intravaginal (DIB) de 0.6g sobre la sincronización de onda folicular para la recolección de ovocitos guiada por ultrasonografía en vacas Brown Swiss, Huancayo -2021. 				

Fuente: Elaboración propia.

OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

Proyecto de Investigación Pre-experimental

Título: SINCRONIZACIÓN DE ONDA FOLICULAR CON PROGESTERONAS PARA LA RECOLECCIÓN DE OVOCITOS GUIADA POR ULTRASONOGRAFÍA EN VACAS BROWN SWISS, HUANCAYO-2021

Variables	Tipo de Variable	Definición Conceptual	Dimensión	Indicador	Instrumento	Escala	
Independientes	Progesterona en DIB de 1.2g	Cuantitativa Continua	Dispositivo de depósito intravaginal de 1.2g de Progesterona	Gramos	Cantidad de Progesterona en gramos	Pistola para DIB	Ordinal
	Progesterona en DIB de 0.6g	Cuantitativa Continua	Dispositivo de depósito intravaginal de 0.6g de Progesterona	Gramos	Cantidad de Progesterona en gramos	Pistola para DIB	Ordinal
Dependientes	Número de folículos de 2 a 4mm	Cuantitativa Continua	Folículos de Graaf de menor tamaño que en su interior contiene un ovocito	De 2 a 4 milímetros	Milímetros	Ecógrafo	Ordinal
	Número de folículos de 4 a 8mm	Cuantitativa Continua	Folículos de Graaf de mayor tamaño que en su interior contiene un ovocito	De 4 a 8 milímetros	Milímetros	Ecógrafo	Ordinal
	Número de COCs recuperados	Cuantitativa Continua	El número de ovocitos será determinado por el NFA por sesión.	Numérica	Numérica	Ecógrafo y estereoscopio	Ordinal
	Calidad de COCs recuperados	Cualitativa Ordinal	Es el estado morfológico adecuado de los COCs	Viable: A y B No Viable: C y D	Integridad de la membrana plasmática de los COCs	Estereoscopio	Nominal

Fuente: Elaboración propia.

FICHAS DE RECOLECCIÓN DE DATOS
GRUPO TRATAMIENTO CON DIB DE 0.6G DE P₄

18 Enero 2020

Tratamiento	Animal	Repeticiones	Variables				
			Cantidad de ovocitos	Calidad de ovocitos	Foliculos 2-4 mm	Foliculos 5-8 mm	
DIB PROGESTERONA 0.6g	Vaca 1 1699	1	3	1 A	1 B	4	2
				1 C	- D		
	Vaca 2 1513	1	7	4 A	2 B	7	4
				1 C	- D		
	Vaca 3 1661	1	4	3 A	1 B	4	7
				- C	- D		
	Vaca 4 1697	1	2	- A	- B	2	8
				2 C	- D		
	Vaca 5			A	B		
				C	D		
	Vaca 6			A	B		
				C	D		
	Vaca 7			A	B		
				C	D		

01 febrero 2020

Tratamiento	Animal	Repeticiones	Variables				
			Cantidad de ovocitos	Calidad de ovocitos	Foliculos 2-4 mm	Foliculos 5-8 mm	
DIB PROGESTERONA 0.6g	Vaca 1 1535	1	2	1 A	1 B	7	4
				- C	- D		
	Vaca 2 1627	1	3	2 A	1 B	4	6
				- C	- D		
	Vaca 3 1661	2	5	3 A	2 B	6	5
				- C	- D		
	Vaca 4 1695	1	9	6 A	2 B	11	7
				1 C	- D		
	Vaca 5 1697	2	4	2 A	1 B	6	2
				1 C	- D		
	Vaca 6			A	B		
				C	D		
	Vaca 7			A	B		
				C	D		

24 febrero 2020

Tratamiento	Animal	Repeticiones	Variables				
			Cantidad de ovocitos	Calidad de ovocitos	Folículos 2-4 mm	Folículos 5-8 mm	
DIB PROGESTERONA 0.6g	Vaca 1 1513	2	5	2 A 2 C	1 B - D	8	2
	Vaca 2 1535	2	6	4 A 1 C	1 B - D	5	8
	Vaca 3 1627	2	7	4 A - C	2 B 1 D	10	3
	Vaca 4 1661	3	9	5 A 1 C	3 B - D	11	4
	Vaca 5 1699	2	3	2 A 1 C	- B - D	9	4
	Vaca 6				A B C D		
	Vaca 7				A B C D		

8 MARZO 2020

Tratamiento	Animal	Repeticiones	Variables				
			Cantidad de ovocitos	Calidad de ovocitos	Folículos 2-4 mm	Folículos 5-8 mm	
DIB PROGESTERONA 0.6g	Vaca 1 1627	3	6	2 A 3 C	1 B - D	11	4
	Vaca 2 1513	3	4	1 A 2 C	1 B - D	10	2
	Vaca 3 1535	3	8	4 A 1 C	2 B 1 D	8	1
	Vaca 4 1697	3	3	1 A 2 C	- B - D	9	4
	Vaca 5 1699	3	1	- A - C	1 B - D	10	3
	Vaca 6 1695	2	4	- A 2 C	2 B - D	10	3
	Vaca 7				A B C D		

GRUPO TRATAMIENTO CON DIB DE 1.2G DE P4

29 Setiembre 2020

Tratamiento	Animal	Repeticiones	Variables			
			Cantidad de ovocitos	Calidad de ovocitos	Foliculos 2-4 mm	Foliculos 5-8 mm
DIB PROGESTERONA 1.2g	Vaca 1 2637	1	0	- A - B - C - D	3	7
	Vaca 2 2610	1	1	- A - B 1 C - D	9	5
	Vaca 3 1699	1	4	3 A - B 1 C - D	4	2
	Vaca 4 2634	1	1	- A - B 1 C - D	9	2
	Vaca 5 2621	1	0	- A - B - C - D	1	6
	Vaca 6 2618	1	5	1 A - B 2 C 2 D	5	2
	Vaca 7 2622	1	4	1 A 1 B 2 C - D	10	1

5 Octubre 2020

Tratamiento	Animal	Repeticiones	Variables			
			Cantidad de ovocitos	Calidad de ovocitos	Foliculos 2-4 mm	Foliculos 5-8 mm
DIB PROGESTERONA 1.2g	Vaca 1 2634	2	6	3 A 1 B 1 C 1 D	9	2
	Vaca 2 2610	2	8	3 A 1 B 4 C - D	9	5
	Vaca 3 2622	2	4	1 A 1 B 2 C - D	5	2
	Vaca 4 1699	2	4	- A 2 B 2 C - D	4	2
	Vaca 5 2618	2	3	1 A 1 B 1 C - D	5	2
	Vaca 6 2621	2	3	- A 2 B 1 C - D	1	6
	Vaca 7 2637	2	4	1 A 1 B 2 C - D	3	7

14 Octubre 2020.

Tratamiento	Animal	Repeticiones	Variables			
			Cantidad de ovocitos	Calidad de ovocitos	Folículos 2-4 mm	Folículos 5-8 mm
DIB PROGESTERONA 1.2g	Vaca 1 1699	3	2	1 A - B 1 C - D	3	2
	Vaca 2 2637	3	1	- A - B - C 1 D	0	3
	Vaca 3 2610	3	8	2 A 4 B 1 C 1 D	12	3
	Vaca 4 2618	3	4	1 A 2 B 1 C - D	5	5
	Vaca 5 2634	3	6	3 A 1 B 1 C 1 D	9	2
	Vaca 6 2621	3	3	- A 2 B 1 C - D	5	0
	Vaca 7			A B C D		

TABULACIÓN DE DATOS

tx= 1,2g						
VACA	N° ARETE	N° OVOCITOS	CALIDAD DE OVOCITOS		N° FOLICULOS 2-4mm	N° FOLÍCULOS 4-8mm
			VIABLE	NO VIABLE		
1	2637	0	0	0	3	7
2	2610	1	0	1	9	5
3	1699	4	3	1	4	2
4	2634	1	0	1	9	2
5	2621	0	0	0	1	6
6	2618	5	1	4	5	2
7	2622	4	2	2	10	1
8	2634	6	4	2	9	2
9	2610	8	4	4	9	5
10	2622	4	2	2	5	2
11	1699	4	2	2	4	2
12	2618	3	2	1	5	2
13	2621	3	2	1	1	6
14	2637	4	2	2	3	7
15	1699	2	1	1	3	2
16	2637	1	0	1	0	3
17	2610	8	6	2	12	3
18	2618	4	3	1	5	5
19	2634	6	4	2	9	2
20	2621	3	2	1	5	0

Tx2= 0,6g						
VACA	N° ARETE	N° OVOCITOS	CALIDAD DE OVOCITOS		N° FOLICULOS 2-4mm	N° FOLÍCULOS 4-8mm
			VIABLE	NO VIABLE		
1	1699	3	2	1	4	2
2	1513	7	6	1	7	4
3	1661	4	4	0	4	7
4	1697	2	0	2	2	8
5	1535	2	2	0	7	4
6	1627	3	3	0	4	6
7	1661	5	5	0	6	5
8	1695	9	8	1	11	7
9	1697	4	3	1	6	2
10	1513	5	3	2	8	2
11	1535	6	5	1	5	8
12	1627	7	6	1	10	3
13	1661	9	8	1	11	4
14	1699	3	2	1	9	4
15	1627	6	3	3	11	4
16	1513	4	2	2	10	2
17	1535	8	6	2	8	1
18	1697	3	1	2	9	4
19	1699	1	1	0	10	3
20	1695	4	2	2	10	3

ANEXOS ESTADÍSTICOS

PARA FOLÍCULOS DE 2 A 4mm

Dispersión por Código de Nivel

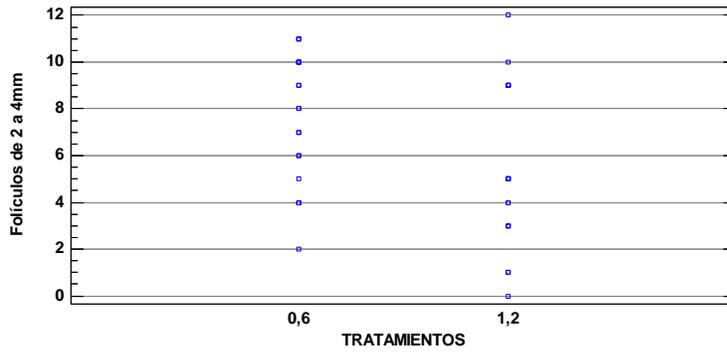
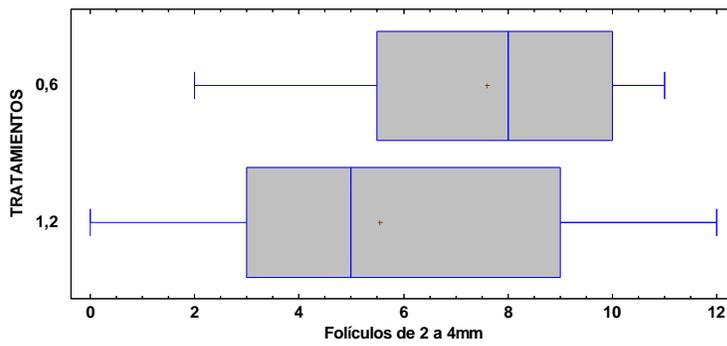


Gráfico Caja y Bigotes



PARA FOLÍCULOS DE 4 A 8mm

Dispersión por Código de Nivel

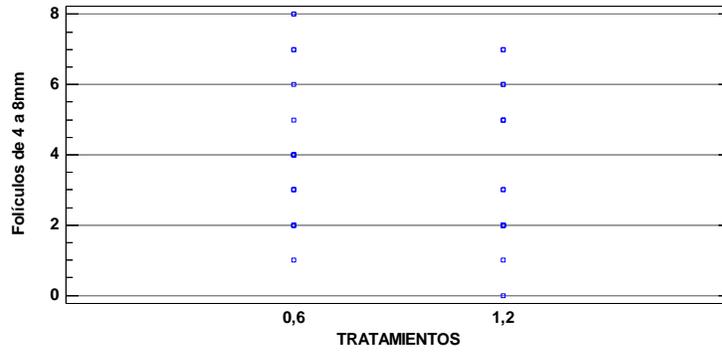
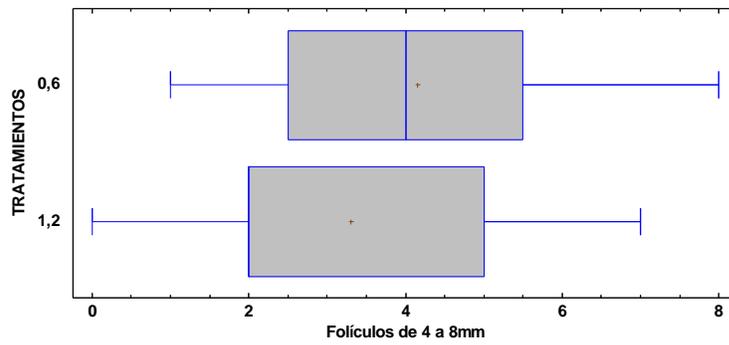


Gráfico Caja y Bigotes



PARA EL NÚMERO TOTAL DE FOLÍCULOS

Dispersión por Código de Nivel

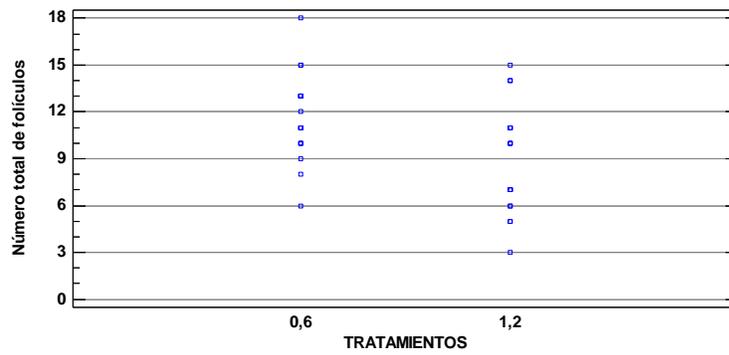
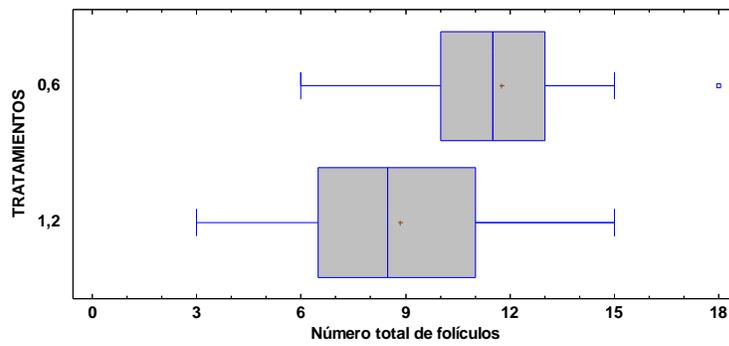


Gráfico Caja y Bigotes



PARA COCs VIABLES

Dispersión por Código de Nivel

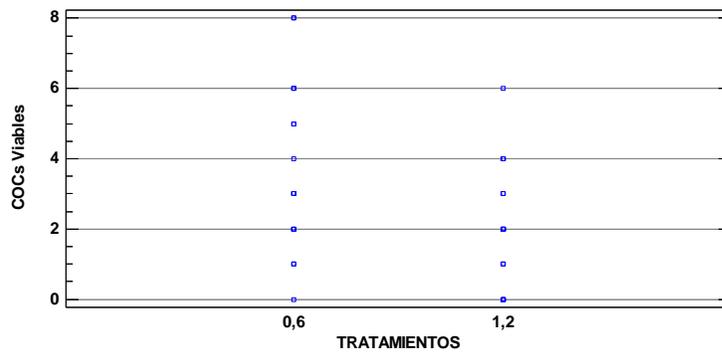
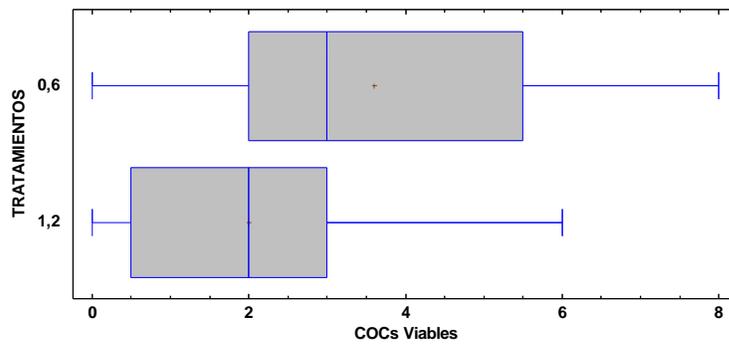


Gráfico Caja y Bigotes



PARA COCs NO VIABLES

Dispersión por Código de Nivel

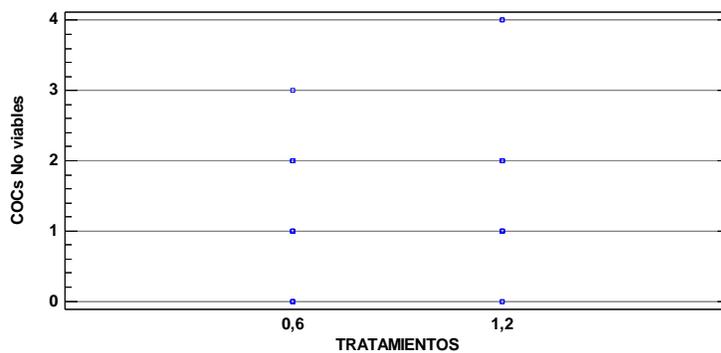
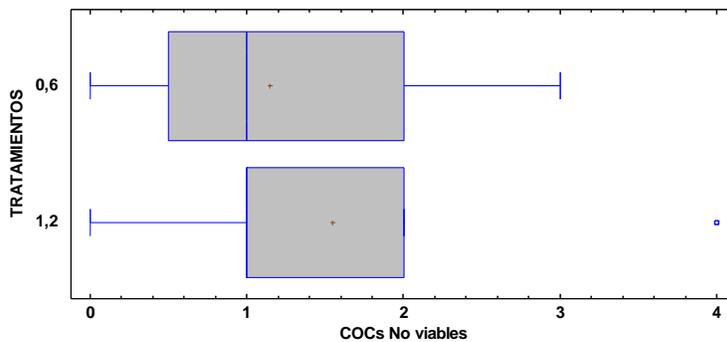


Gráfico Caja y Bigotes



PARA EL NÚMERO TOTAL DE COCs

Dispersión por Código de Nivel

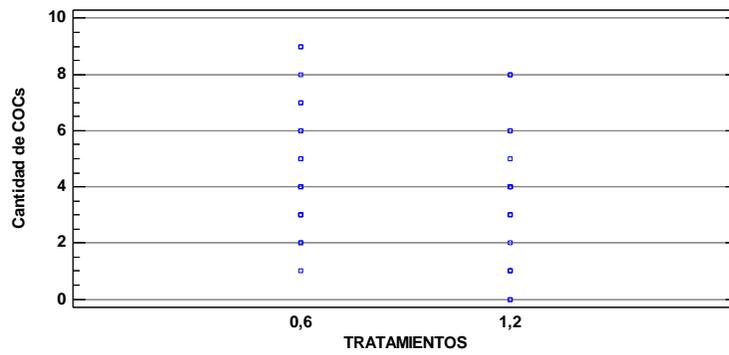
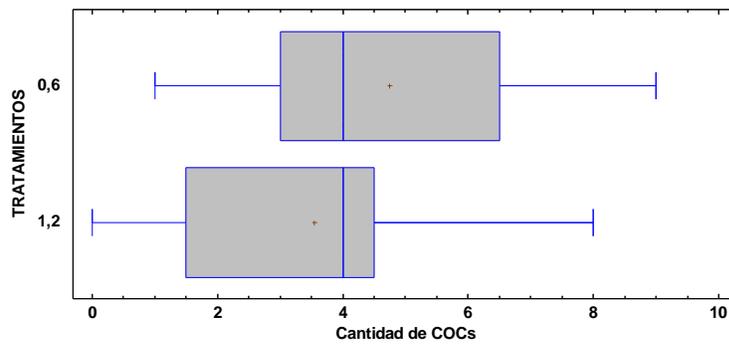


Gráfico Caja y Bigotes



ANEXO DE FIGURAS
SINCRONIZACIÓN CON DIB DE P4 EN VACAS BROWN SWISS



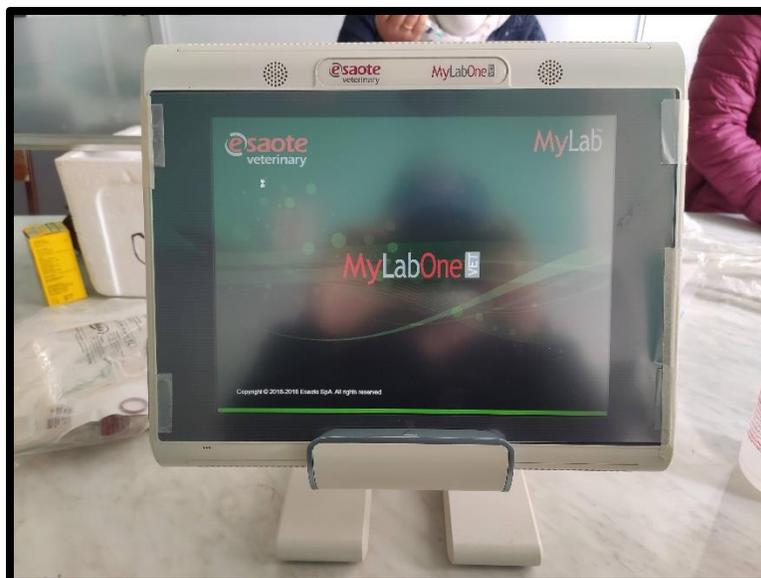
BOMBA DE ASPIRACIÓN PARA REALIZARON OPU



BOMBA DE ASPIRACIÓN CONECTADA A LA GUIA DE ASPIRACIÓN FOLICULAR



ECÓGRAFO ESAOTE® DE MYLABONE, UTILIZADO PARA OPU



TRANSDUCTOR MICRO CONVEX UTILIZADO DENTRO DE LA GUÍA DE ASPIRACIÓN FOLICULAR



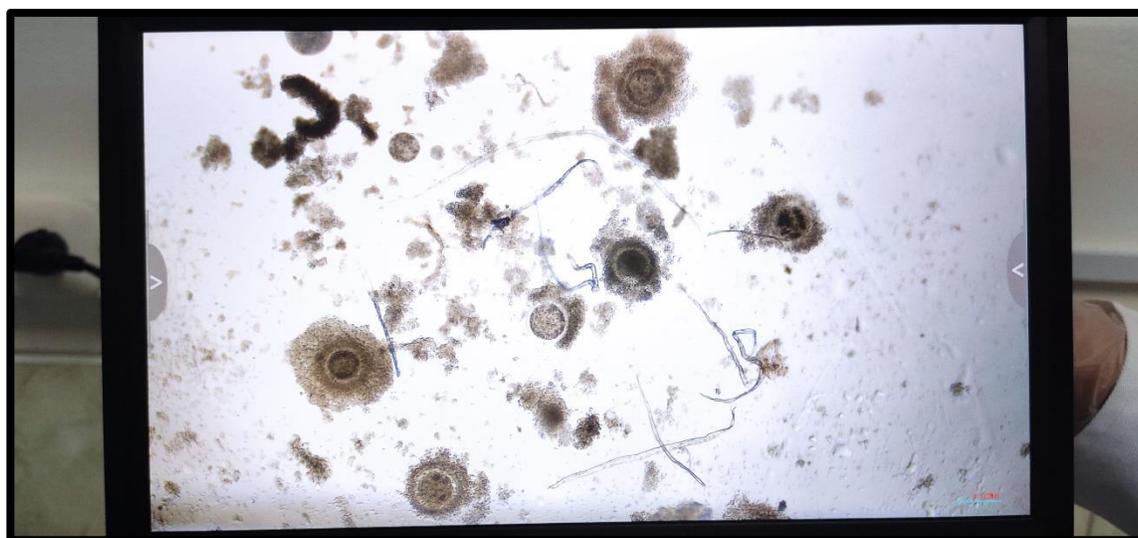
MATERIALES UTILIZADOS PARA EL CONTEO Y CLASIFICACIÓN DE COCs



ESTEREOSCOPIO UTILIZADO PARA EL CONTEO Y CLASIFICACIÓN DE COCs



VISUALIACIÓN DE COCs OBTENIDOS EN LAS DIFERENTES COLECTAS



**EQUIPO DE TRABAJO EN LA RECOLECCIÓN DE OVOCITOS POR MEDIO
ASPIRACIÓN GUIADA POR ULTRASONIDO**



DECLARACIÓN JURADA DE AUTENTICIDAD DE TESIS

Yo, Neale Hilton Santiago Inga, en mi condición de Bachiller de la Escuela Profesional de Medicina Veterinaria y Zootecnia, identificado con DNI N° 72847711 y con Código de Matrícula N° G07049A, dejo constancia de que el tema elaborado como tesis de Pregrado que tiene por título: **“SINCRONIZACIÓN DE ONDA FOLICULAR CON PROGESTERONAS PARA LA RECOLECCIÓN DE OVOCITOS GUIADA POR ULTRASONOGRAFÍA EN VACAS BROWN SWISS, HUANCAYO-2021”** es un tema original.

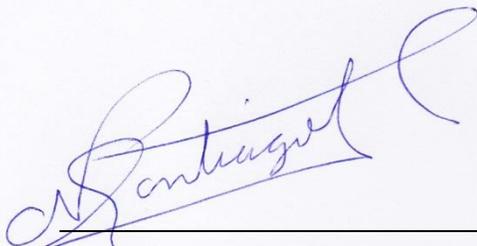
Declaro que el presente trabajo de tesis fue elaborado por mi persona y **no existe plagio/copia** de ninguna naturaleza, en especial de algún otro documento de investigación presentado por persona natural o jurídica alguna ante instituciones académicas, profesionales de investigación o similares en nuestro país o en el extranjero.

Dejo constancia de que las citas a otros autores fueron debidamente identificadas en este trabajo de investigación, por lo que asumiré como tuyas las opiniones vertidas por terceros, ya sea de fuentes encontradas o en medios escritos, digitales o Internet.

Asimismo, ratifico que soy plenamente consciente de todo el contenido de la tesis y asumo responsabilidad de cualquier error u omisión en el documento, así como de las connotaciones éticas y legales que estén involucradas.

En caso de incumplimiento de esta declaración, me someto a lo dispuesto en el reglamento de la Universidad Peruana Los Andes de la ciudad de Huancayo y sus disposiciones legales en vigencia.

Huancayo, 15 de noviembre del 2021.



Bach. Neale Hilton Santiago Inga

DNI: 72847711

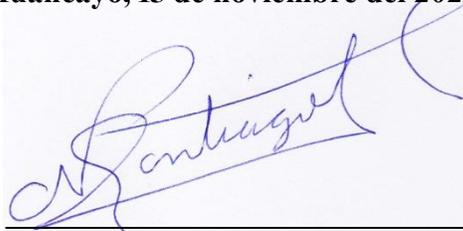
Cod. Mat. G07049A



DECLARACIÓN DE CONFIDENCIALIDAD

Yo, **SANTIAGO INGA, Neale Hilton**. Identificado con DNI N° **72847711**, egresado de la escuela profesional de Medicina Veterinaria y Zootecnia, vengo implementando el proyecto de tesis titulado “**SINCRONIZACIÓN DE ONDA FOLICULAR CON PROGESTERONAS PARA LA RECOLECCIÓN DE OVOCITOS GUIADA POR ULTRASONOGRAFÍA EN VACAS BROWN SWISS, HUANCAYO-2021**”, en ese contexto declaro bajo juramento que los datos que se generen como producto de la investigación, así como la identidad de los participantes serán preservados y serán usados únicamente con fines de investigación de acuerdo a lo especificado en los artículos 27 y 28 del Reglamento General de Investigación y en los artículos 4 y 5 del Código de Ética para la investigación Científica de la Universidad Peruana Los Andes, salvo con autorización expresa y documentada de alguno de ellos.

Huancayo, 15 de noviembre del 2021.



Neale Hilton Santiago Inga
Responsable de investigación

COMPROMISO DE AUTORÍA

En la fecha, yo **Neale Hilton Santiago Inga**, identificado con DNI N° **72847711** Domiciliado en: Avenida Huancavelica N° 2611 El Tambo, egresado de la Escuela Profesional de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Peruana Los Andes, me **COMPROMETO** a asumir las consecuencias administrativas y/o penales que hubiera lugar si en la elaboración de mi investigación titulada **“SINCRONIZACIÓN DE ONDA FOLICULAR CON PROGESTERONAS PARA LA RECOLECCIÓN DE OVOCITOS GUIADA POR ULTRASONOGRAFÍA EN VACAS BROWN SWISS, HUANCAYO-2021”** se haya considerado datos falsos, falsificación, plagio, auto plagio, etc. Y declaro bajo juramento que el trabajo de investigación es de mi autoría y los datos presentados son reales y he respetado las normas internacionales de citas y referencias de las fuentes consultadas.

Huancayo 15 de julio del 2022



Neale Hilton Santiago Inga
DNI N° 72847711