

Respuesta superovulatoria de un protocolo tradicional con reemplazo parcial de pluset (FSH-LH) por una dosis de eCG en bovinos

*Superovulatory response of a traditional protocol with partial
replacement of pluset (FSH-LH) by an eCG dose in cattle*

María Julissa Suárez Ortiz

maria.suarez.01@est.ucacue.edu.ec

Universidad Católica de Cuenca

Cuenca - Ecuador

Andrés Leonardo Moscoso Piedra

amoscoso@ucacue.edu.ec

Universidad Católica de Cuenca

Cuenca - Ecuador

Manuel Esteban Maldonado Cornejo

mmaldonadoc@ucacue.edu.ec

Universidad Católica de Cuenca

Cuenca - Ecuador

Juan Pedro Alvarado Molina

jpedroalvarado@gmail.com

Cuenca - Ecuador

Juan Carlos Alvarado Alvarado

jalvaradoa@ucacue.edu.ec

Universidad Católica de Cuenca

Cuenca – Ecuador

*Artículo recibido: (la fecha la coloca el Equipo editorial) - Aceptado para publicación:
Conflictos de intereses: Ninguno que declarar.*

RESUMEN

La reproducción asistida, especialmente la superovulación (SOV) y la transferencia de embriones (TE) es una herramienta fundamental en la ganadería contribuyendo a la sostenibilidad y rentabilidad de las explotaciones lecheras a nivel mundial. El objetivo de este estudio fue evaluar la respuesta superovulatoria de un protocolo tradicional con remplazo parcial de Pluset (FSH-LH) por una dosis de eCG en bovinos. Se seleccionaron 4 vacas de línea Holstein, las cuales fueron asignadas aleatoriamente a uno de los dos tratamientos de superovulación siguientes: T control (Pluset;n=4): 1000 mg de Pluset (50% FSH, 50% LH) en 8 dosis decrecientes por cuatro días consecutivos; T1 (Pluset+eCG;n=4): 500mg de Pluset en 4 dosis decrecientes y una única dosis de 1000 UI de eCG (Novormon). Los datos se analizaron mediante un análisis de varianza (ADEVA) con un nivel de significancia de 5% ($P<0.005$). La sustitución de las últimas cuatros dosis de Pluset por eCG no mejoró la respuesta superovulatoria y Pluset resultó en un mayor número de folículos anovulatorios. No hubo diferencias significativas en el número de estructuras recuperadas, embriones transferibles, embriones degenerados entre los dos tratamientos. La relación costo-beneficio por cada embrión viable, el tratamiento exclusivo con Pluset presenta una ventaja numérica. No obstante, es importante señalar que no se observaron diferencias significativas desde el punto de vista estadístico entre los dos tratamientos evaluados.

Palabras clave: superovulación; transferencia, embriones, pluset, novormon

ABSTRACT

Assisted reproductive technologies, particularly superovulation (SOV) and embryo transfer (ET), represent a cornerstone of modern animal husbandry, contributing significantly to the sustainability and economic viability of global dairy production. This study aimed to assess the superovulatory response elicited by a conventional protocol involving the partial substitution of Pluset (FSH-LH) with an eCG dose in bovine subjects. Four Holstein crossbreeding cows were selected and randomly allocated to one of the two superovulation regimens: T control (Pluset; n=4): 1000 mg of Pluset (50% FSH, 50% LH) administered in 8 decreasing doses for a four-day period; T1 (Pluset+eCG; n=4): 500mg of Pluset in 4 decreasing doses followed by a single administration of 1000 IU of eCG (Novormon). Data were subjected to analysis of variance (ANOVA) with a significance level of 5% ($P < 0.005$). The substitution of the last four Pluset doses with eCG did not enhance the superovulatory response and Pluset administration resulted in a greater incidence of anovulatory follicles. No significant differences were observed between the two treatment groups with respect to the number of structures recovered, transferable embryos, or atretic embryos. While the Pluset-only regimen exhibited a numerical advantage in terms of cost-effectiveness per viable embryo, this difference did not attain statistical significance.

Keywords: superovulation, transfer, embryos, pluset, novormon

INTRODUCCIÓN

La reproducción, en explotaciones de producción bovina se ha convertido en uno de los pilares fundamentales para poder alcanzar los objetivos que mundialmente son aceptados como óptimos de una lactancia y cría por año, sin embargo, en las ganaderías este estándar es difícil de lograr debido a varios factores genéticos, ambientales y de manejo (Salazar et al., 2012). Para ello, las producciones deben estar dirigidas a mitigar la problemática social; según la (FAO, 2011) para el 2050 se estima que el consumo de carne aumentará en aproximadamente un 73%, mientras que el consumo de productos lácteos se incrementará en un 58% en comparación con los niveles actuales, para lo cual existe un desafío grande para las producciones pecuarias tanto de leche como carne bovina. En este contexto las biotecnologías cobran una relevancia privilegiada por su impacto productivo (Decuadro-Hansen, 2015).

En la actualidad existen muchas biotecnologías disponibles, sin embargo, el progresivo decaimiento de la fertilidad de las vacas en lactancia, el tiempo y esfuerzo que se requiere para realizar la detección de celos, han afectado los parámetros reproductivos de los hatos lecheros (Britos et al., 2020), por lo que ahora se busca herramientas que permitan detectar con precisión el celo y controlar la ovulación (Britos et al., 2020). Una de las biotecnologías con mayor relevancia en cuanto a estándares de calidad y eficiencia la constituye los programas de superovulación (SOV) y transferencia de embriones (TE) (Garzón et al., 2007; Britos et al., 2020). La SOV busca aumentar la tasa de ovulación y obtener mejor rendimiento del número de embriones aptos para ser transferidos de hembras elite adaptadas a la zona (Allcca Luján et al., 2023). Hoy en día hay varios tratamientos de SOV, no obstante, la reacción a estos tratamientos puede ser bastante variable y resulta complicada de predecir (Garzón et al., 2007). Entre los factores que pueden afectar están: la raza, la edad, el número de partos, la dosis y el tipo de hormona empleada, así también, el régimen de administración hormonal utilizado (Fuentes S & De la Fuente J, 2024).

En los protocolos SOV tradicionales se utilizan FSH, entre seis a ocho dosis durante tres o cuatro días, lo que conlleva una manipulación constante de los animales por lo que lo convierte en un programa muy laborioso causando un estrés excesivo e innecesario en los influyendo de forma negativa en los resultados y causando problemas asociados a eficiencia, rentabilidad y bienestar (Mogollón & Burla, 2013), por lo que es necesario implementar programas hormonales de SOV que garanticen el bienestar animal, sean eficaces en términos de costo-beneficio y no comprometan la calidad embrionaria. En este sentido, el uso de gonadotrofinas o afines se consideran hormonas prometedoras como reemplazo de la FSH. La gonadotropina coriónica equina (eCG), es una glicoproteína compleja que actúa de forma semejante a la FSH y LH, lo que podría ayudar a reducir los problemas asociados a la SOV tradicional bovina (Allcca Luján et al., 2023).

Por lo antes expuesto, el objetivo de este estudio fue evaluar la respuesta superovulatoria de un protocolo tradicional con remplazo parcial de pluset (FSH-LH) por una dosis de eCG en bovinos, para determinar su efecto en la respuesta superovulatoria, y en la cantidad y calidad de embriones recuperados; así como también el costo-beneficio por embrión viable de cada tratamiento.

FUNDAMENTO TEÓRICO

La reproducción constituye la base en la renovación biológica en cualquier especie; por lo que el éxito económico de un hato ganadero dependerá en gran medida de su eficiencia; en bovinos, las hembras alcanzan la pubertad entre los 12 y 40 meses, esto suele ser muy variable y dependerá de varios factores, entre ellos se pueden destacar, el genotipo, el peso del animal y su tamaño, la nutrición y el método de crianza también pueden influir (Gómez, 2016).

Control neuroendocrino del ciclo estral en las hembras

Es un proceso cíclico denominado sistema porta-hipofisario-gonadal en donde existe una conexión entre el hipotálamo-hipófisis-gónadas(ovarios) y es caracterizado por una serie de cambios anatómicos endocrinos y conductuales cuyo objetivo es preparar un ambiente uterino óptimo para una posible gestación (Hernández-Coronado et al., 2023). El hipotálamo es una pequeña glándula ubicada en el cerebro en donde se fusiona y analiza la información proveniente tanto del sistema nervioso central, entorno y gónadas dando como resultado la secreción de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) (Andino, 2024), la cual es secretada de forma pulsátil con una frecuencia de 70 a 90 minutos mediante canales para ventriculares y varían durante el ciclo estral aumentando en la fase folicular y disminuyendo en la fase lútea del ciclo, su función es estimular la porción anterior de la hipófisis (adenohipófisis) que es la encargada de producir la hormona folículo estimulante (FSH) la cual permite el reclutamiento de los folículos de todo el stock folicular y la hormona luteinizante (LH), fundamental para que se produzca el crecimiento, maduración, la ovulación del folículo dominante así como también la formación del cuerpo lúteo (CL) (Hernández-Cerón, 2016).

Fases del ciclo estral.

El ciclo estral de la hembra bovina adulta tiene una duración entre 19 a 24 días con un promedio de 21 días y está comprendido por 4 etapas bien definidas: proestro, estro, metaestro y diestro. Es importante destacar que todos los cambios que ocurren durante el ciclo estral son regulados por la síntesis y secreción de hormonas del hipotálamo, como GnRH, de la hipófisis que produce (LH y FSH), del folículo que secreta estrógenos e inhibina, del CL que produce progesterona (P4) y del endometrio que libera prostaglandina (PGF2 α).

Fase de dominancia folicular

Proestro. Dura entre dos y tres días, comienza con la regresión del cuerpo lúteo del ciclo anterior y finaliza con la manifestación de celo. Al producirse la destrucción del cuerpo lúteo se da una caída en los niveles de progesterona (P4) y posteriormente una luteolisis gracias a la PGF2 de origen uterino (Sintex, 2005).

Al disminuir los niveles de P4 disminuye el feed back negativo que ocurría a nivel hipotalámico, y con ello aumentan la liberación pulsátil de las hormonas gonadotrópicas (FSH-LH) para la estimulación del crecimiento, desarrollo y maduración folicular (Hernández-Cerón, 2016).

Estro. Es la etapa más fácilmente identificable del ciclo estral con una duración de 8-18 horas, se distingue por una serie de modificaciones observables en la conducta, como la disposición para la receptividad sexual y la copulación (Sintex, 2005). Las vacas presentan descarga mucosa, edematización vulvar y un aumento del tono miométrial uterino, detectable a la palpación rectal (Sintex, 2005; Hernández-Cerón, 2016).

El estradiol es la hormona dominante estimulando a las neuronas hipotalámicas a producir el pico de GnRH y en consecuencia el pico de LH (Andino, 2014). Con respecto a la FSH, disminuye su secreción, consecuencia del feed back negativo estrogénico y de la inhibina, con excepción del momento en que se produce el pico preovulatorio de LH, en que puede aparecer un pico de FSH (Andino, 2014).

Fase de dominancia luteal

Metaestro. Durante esta etapa se produce la ovulación y formación del cuerpo lúteo, a diferencia de otras especies que ovulan exclusivamente durante el estro; dura entre cuatro y cinco días (Hernández-Cerón., 2016). La ovulación ocurre 28 a 32 hs después de iniciar el celo y es desencadenada por el pico preovulatorio de LH. A la ovulación sigue hemorragia profunda y el folículo se llena de sangre convirtiéndose en cuerpo hemorrágico (Sintex, 2005).

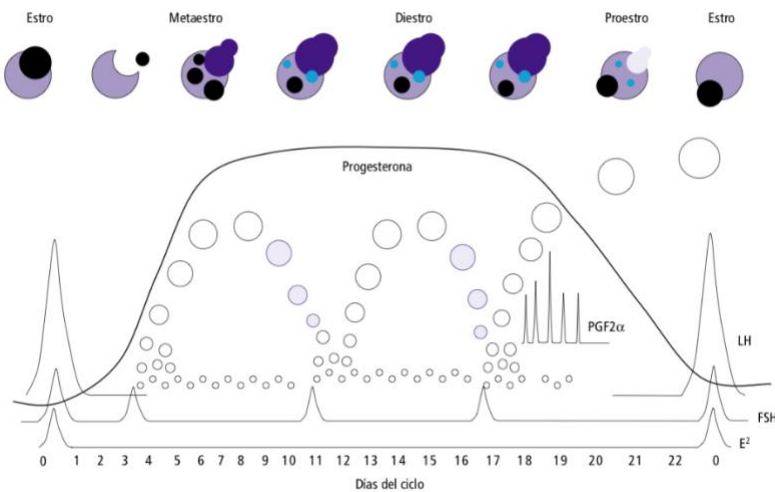
Las células foliculares (células de la teca, granulosa y cúmulus) experimentan cambios estructurales y funcionales, transformándose en células luteales capaces de producir progesterona formando así el cuerpo luteo cuya finalidad será mantener una gestación (Sintex, 2005).

Diestro. Es la etapa de mayor duración del ciclo estral, de 12 a 14 días. La característica principal de esta etapa es un cuerpo lúteo funcional (Hernández-Cerón, 2016). Los niveles plasmáticos de progesterona son superiores a 1 ng/ml (Sintex, 2005).

Dinámica Folicular

Figura 1

Dinámica Folicular



Fuente: (Filipiak et al., 2016).

En el ovario conjuntamente con el ciclo estral tienen lugar los procesos que comprenden la foliculogénesis (Matamoros & Salinas, 2017) que se define como una serie de procesos recurrentes en las cuales incluye una fase de reclutamiento, selección y dominancia, mismas que están dadas por un conjunto de factores que se interrelacionan y permiten que se presente la ovulación como punto final del ciclo estral y punto inicial en la vida reproductiva de la hembra bovina (Motta et al., 2011).

Para que ocurra la ovulación, se dan ciertos eventos que vienen dados por ondas foliculares, siendo descritas generalmente de dos a tres en las hembras bovinas *Bos Taurus* y en cada onda se da un crecimiento de un cierto número de folículos, en donde solo uno se convierte en dominante, los demás pasaran a la atresia (Tubino, 2003).

El reclutamiento es un proceso donde un conjunto de pequeños folículos antrales (4 a 5 mm de diámetro) empiezan a crecer por acción de la FSH y dicha fase tiene una duración de alrededor de 2 días (Andino, 2014; Filipiak et al., 2016). En la selección el folículo metabólicamente mejor preparado para crecer, es seleccionado y experimenta una tasa de crecimiento mayor a los demás (Filipiak et al., 2016). En la dominancia el folículo seleccionado se vuelve dominante teniendo un rápido desarrollo y mediante la liberando de inhibina y estradiol las cuales impiden la síntesis y secreción de FSH suprimiendo el crecimiento de los demás folículos llamados subordinados, los cuales irán a la atresia, mientras el folículo dominante continúa su maduración a una velocidad de 1.6 mm por día (Tubino, 2003; Sanchez, 2021).

Es importante señalar que cuando un folículo dominante inicia su desarrollo en la fase lútea, las elevadas concentraciones de progesterona ejercen una retroalimentación negativa sobre la liberación de LH, previniendo el pico preovulatorio y, consecuentemente, la ovulación (figura 1). En contraste, en ausencia de un cuerpo lúteo funcional, la producción de estradiol por el folículo dominante estimula la secreción de GnRH, lo que desencadena el pico de LH y la ovulación (Andino, 2014).

La ovulación es un proceso espontáneo que ocurre 10 a 11 horas después del final de un período de estro de 18 horas en la vaca (Atuesta & Gonella, 2011).

Cuando el ovocito entra en dominancia se desencadena la ovulación, el cual es el proceso mediante el cual el ovocito es liberado, todo esto ocurre gracias al conocido pico preovulatorio de LH, cuando la LH alcanza su umbral empieza el desprendimiento de las células del cúmulus de la pared folicular lo que ocasiona el adelgazamiento de la pared por acción de enzimas proteolíticas (colagenasa, lisosomales) y de mediadores de la inflamación en la pared folicular, subsecuentemente, la PGF2 α induce contracciones mioides en la teca externa, culminando en la rotura folicular y la ovulación (Hernández-Cerón, 2016).

La superovulación como técnica de mejoramiento genético

Se define como superovulación al aumento del número fisiológico de ovulaciones propias de la especie, desencadenado por la administración de hormonas exógenas (Waltero & Dias, 2013).

Los programas de superovulación y posterior transferencia de embriones, llevan varios procesos que pueden llegar a afectar la respuesta superovulatoria, dentro de los cuales se pueden destacar factores externos (nutrición, manejo, semen, período del año) y factores internos (especie, raza, edad, dinámica folicular, mecanismos de superovulación, tipo de FSH, relación FSH/LH, dosis, frecuencia de administración) (Jimenez, 2009).

Hormonas utilizadas para superovulación.

En la especie bovina, se han empleado tres tipos de gonadotropinas para inducir la superovulación: gonadotrofinas de origen placentario se destaca la gonadotrofina coriónica equina (eCG o pmsg) y gonadotropina menopáusica humana (hMG); y la hormona folículo estimulante (FSH), obteniendo del extracto de pituitaria de porcinos, ovinos y equinos, o incluso la FSH recombinante bovina (Waltero & Dias, 2013).

La FSH es la hormona más utilizada en superovulación de bovinos, obtenidos de extractos de pituitaria principalmente porcina y ovina; las preparaciones comerciales, aunque ricas en FSH, presentan una variabilidad en su contenido de LH, por lo que los extractos más purificados de FSH suelen tener mayores niveles en la respuesta superovulatoria (Forcada et al., 2009).

Debido a su rápido metabolismo, presenta una vida media corta, por lo que se requiere dosis constantes para mantener los niveles hormonales necesarios y provocar una respuesta ovárica óptima. Los protocolos de estimulación ovárica con una sola inyección de FSH han demostrado ser ineficaces, por ello los tratamientos convencionales consisten en la aplicación de 4 a 8 inyecciones cada 12 horas (Forcada et al., 2009).

La eCG presenta actividad FSH y LH, siendo más predominante la primera; su función principal es un mayor desarrollo folicular y la multiplicación de las células de la granulosa; aplicada entre los días 8 a 12 del ciclo estral, permite obtener una mejor respuesta superovulatoria (Forcada et al., 2009). El elevado contenido de ácido siálico en la eCG le confiere una notable estabilidad metabólica, prolongando significativamente su tiempo de acción en el sistema circulatorio, optimizando su administración mediante una dosis única lo cual significa una prolongada estimulación de los folículos, dando lugar a un crecimiento disperso con elevados niveles de estrógenos (Forcada et al., 2009) (Rivera & Galeano, 2019). Si bien la eCG es una herramienta accesible y sencilla de aplicar, su larga vida media puede desincronizar el ciclo reproductivo y estimular el desarrollo quistes foliculares (Forcada et al., 2009).

Evaluación de embriones

Los rasgos morfológicos más importantes para determinar la calidad de un embrión son: número de células, tamaño, forma, número y porcentaje de fragmentación. Esta clasificación consta de cuatro categorías de acuerdo al criterio indicado por la Sociedad Internacional de Tecnología Embrionaria (I.E.T.S, 2011).

Excelente. Masa embrionaria esférica y simétrica, con células uniformes en cuanto a tamaño, color y densidad, las irregularidades deben ser relativamente menores, al menos el 85 por ciento del material celular debería ser una masa celular intacta y viable la zona pelúcida deberá presentar superficies lisas, sin superficies cóncavas, plana o delgadas que pueden causar adhesión de los embriones al material utilizado durante las manipulaciones.

Bueno. Presenta irregularidades moderadas, en cuanto al aspecto forma y tamaño, color y densidad de las células, al menos el 50 por ciento del material celular deberá encontrarse intacto que correspondería a una masa embrionaria viable.

Regular. Presenta irregularidades mayores en forma y tamaño de la masa embrionaria, así como en el tamaño, color y densidad de las células individuales. Al menos el 25 por ciento del material celular deberá encontrarse intacto que correspondería con una masa embrionaria viable.

Malo. Se encuentra muerto o degenerado, embrión, ovocito y embriones de una célula degenerados no viables.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo de investigación se realizó en la Hacienda "El Campo", localizada en Tanbillo-Chocar perteneciente al parroquia de Zhud , Cantón Cañar.

Selección y manejo de vacas donantes. Se seleccionaron cuatro vacas de línea Holstein cíclicas, múltiparas de uno a tres partos, con un periodo abierto no más de 90 a 150 días, con una producción promedio de leche ≥ 15 kg/día. La ciclicidad se determinó por ecografía transrectal mediante la detección de uno o más folículos y cuerpo lúteo en los ovarios. Así mismo, sus condiciones de alimentación, alojamiento (semiestabulación) y sanidad se mantuvieron homogéneas. La dieta de las vacas consistió en pastoreo en potreros de kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) y raigrás (*Lolium perenne*), suplementada con dos kg/día de concentrado y agua ad libitum. Se realizó un plan sanitario a base de la prevención de las principales enfermedades virales así como también se realizó un plan de desparasitación (albendazol 10%).

Las vacas donantes fueron divididas aleatoriamente en dos grupos de estudio a las que se les aplicó los dos tratamientos en dos repeticiones diferentes con un periodo de descanso de 60 días.

Grupos experimentales. T control (Pluset;n=4): aplicación de un protocolo SOV convencional de 1000 mg de Pluset (50% Fsh, 50% Lh) en ocho dosis decrecientes por cuatro días consecutivos. T1 (Pluset+eCG;n=4): aplicación de 500mg de Pluset (50% Fsh, 50% Lh) en cuatro dosis decrecientes y la sustitución de las cuatro últimas dosis por una única dosis de 1000 UI de eCG (Novormon).

Tratamiento superovulatorio. Se aplicó un tratamiento de estimulación ovárica, aplicándoles diferentes hormonas en una secuencia indicada en la Tabla 1.

Tabla 1

Protocolos de sincronización y superovulación convencional con Pluset y con remplazo parcial de Pluset

Día	Hora	Procedimiento	
0	AM	Dispositivo intravaginal (DIV)+ 2mg de benzoato de estradiol (Grafoleón NF;Lab.Life; Quito Ecuador)	
4	AM	200 UI Pluset (Calier;España)	
	PM	200 UI Pluset	
5	AM	150 UI Pluset	
	PM	150 UI Pluset	
		Tratamiento Pluset	Tratamiento Pluset + eCG
6	AM	100 UI Pluset + 500 mcg Cloprostenol (Prostal; Over; Argentina)	1000 UI eCG (Novormón; Zoetis; Argentina)+ 500 mcg Cloprostenol
	PM	100 UI Pluset	
7	AM	50 UI Pluset	
	PM	50 UI Pluset + Retiro del DIV	Retiro del DIV
8	AM	0.25 mg de GnRH (Fertagyl; MSD Salud Animal; Ecuador; 0.1 mg/mL de Gonadorelina).	
9	AM	IATF (12 horas de la GnRH)	
	PM	IATF (24 horas de la GnRH)	
16	AM	COLECTA, TRANSFERENCIA Y/O CONGELACIÓN DE EMBRIONES	

Variables de estudio y análisis estadístico

Se evaluó el efecto del tratamiento (variable independiente) sobre diversas variables dependientes, incluyendo: respuesta ovulatoria (número de cuerpos lúteos), folículos anovulatorios (proporción y número), estructuras recuperadas, embriones transferibles y degenerados, ovocitos no fecundados, mórulas, blastocistos (tempranos y expandidos), proporción de embriones de calidad uno y dos.

Los datos fueron analizados mediante el análisis de varianza (ADEVA) con un nivel de significancia de 5% ($P < 0.005$). Para presentar los resultados se utilizaron la media y el error estándar.

Colecta de embriones

Los embriones se colectaron el día siete luego de la Inseminación Artificial (IA). Para ello las vacas se inmovilizaron y fueron tratadas con una dosis de anestésico epidural (Lidocaina 2%).

Inmediatamente se removieron las heces del recto y se procedió al lavado de la región vulvar y perianal. Se realizó una revisión ginecológica mediante ultrasonido para cuantificar el número de cuerpos lúteos.

Posteriormente se introdujo una sonda tipo Foley a través del cérvix con un balón de aire de 12-30 cc, que se fijó a 3-5 cm por delante de la bifurcación de los cuernos uterinos. El extremo posterior de la sonda Foley estuvo conectada a un catéter flexible de dos vías por donde se infundió la solución Flushing para el lavado uterino por contracorriente, por una vía, y se extrajo el contenido líquido del interior del útero, por la otra (vía de retorno). La vía de retorno estuvo conectada a un filtro donde se encuentran los embriones. Cada filtro se lavó con un medio de mantenimiento (holding) de embriones y el contenido se depositó en una placa Petri cuadrículada de 100 mm. La placa Petri se colocó en un estereoscopio (Nikon C-DS, China) previsto con platina térmica y se realizó la búsqueda, identificación y selección de embriones. Se inyectaron dos ml de prostaglandina a cada vaca para provocar la regresión de los cuerpos lúteos y prevenir preñeces no deseadas.

Finalmente se seleccionaron embriones de grado uno y dos de acuerdo al criterio indicado por la Sociedad Internacional de Tecnología Embrionaria (IETS).

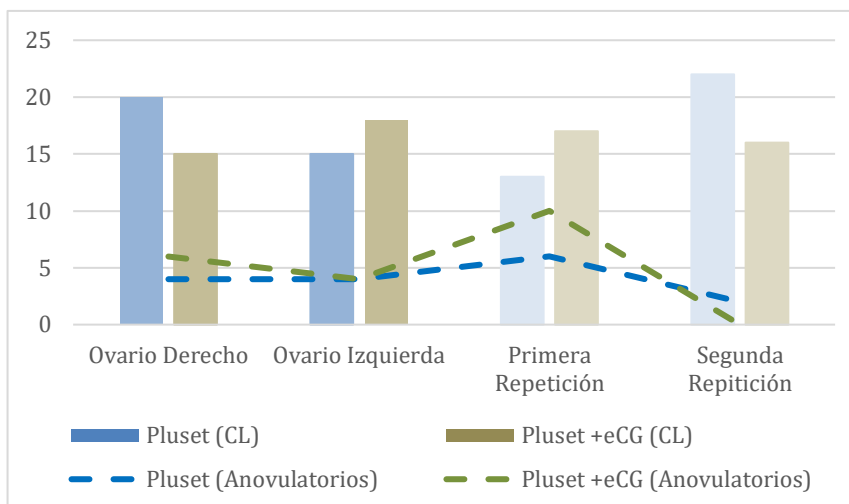
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Resultados

Al analizar los datos se determinó que la respuesta superovulatoria fue similar entre los dos tratamientos. Las pruebas de Pluset determinaron un total de 35 Cuerpos Lúteos y 8 Folículos Anovulatorios (FA), mientras Pluset + eCG tuvieron un total de 33 Cuerpos Lúteos y 10 Folículos Anovulatorios.

Figura 2

Respuesta superovulatoria(cuerpos lúteos)y folículos anovulatorios



Las pruebas de Kruskal y Wallis ($p < 0.05$) no paramétricas determinaron, que no existe un efecto de los bloques (vacas) para los tratamientos tanto para el número de cuerpos lúteos ($p = 0.223$), como folículos anovulatorios ($p = 0.907$), el análisis por el tratamiento también determinó que los dos tratamientos se comportan de forma similar para el número de cuerpos lúteos (0,234) y folículos de anovulatorios ($p = 0.762$);

El total de Cuerpos Lúteos en la primera repetición fue de 30 frente a 38 en la segunda, sin embargo con respecto a las repeticiones el número de cuerpos lúteos no se vio afectado por los tratamientos ($p = 0.457$). En cuanto al total de folículos anovulatorios en relación al tratamiento si hubo diferencias a considerar con respecto a la primera y segunda repetición ($p = 0.034$). Con respecto a la ubicación de los ovarios el derecho es más activo que el izquierdo en relación a la presencia de cuerpos luteos ($p = 0.045$). Donde la figura 2, grafica estas variaciones entre ovarios y repeticiones, con respecto a cada tratamiento.

Con respecto a las estructuras recuperadas (Tabla 2), se observó que con el tratamiento Pluset se obtuvo un total de 13 (62%), mientras que con Pluset + eCG un total de 8 (38%). El número de embriones transferibles fue con Pluset 11 (58%), y con Pluset + eCG de 8 (42%). En cuanto a embriones degenerados únicamente se obtuvo 2 con Pluset.

Tabla 2

Respuesta superovulatoria de los tratamientos evaluada por el número de cuerpos lúteos, estructuras recuperadas, embriones transferibles y degenerados

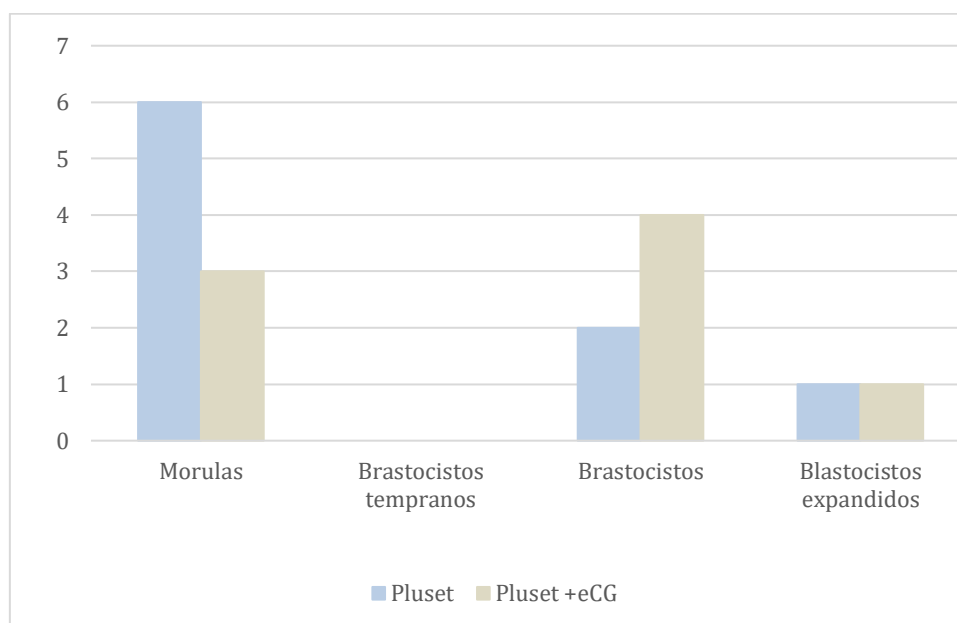
Tratamiento	N	Cuerpos			
		Lúteos totales	Estructuras recuperadas	Embriones Transferibles	Embriones Degenerados
Pluset	4	34	13 (62%)	11 (58%)	2
Pluset +ecG	4	33	8 (38%)	8 (42%)	0

N: número de vacas superovuladas

El número total embriones es similar con Pluset (9) y Pluset+ eCG (8). La comparación de Pluset versus Pluset+ eCG, con respecto a la calidad embrionaria (Figura 3), determinó una mayor existencia de mórulas en el tratamiento de Pluset (6) frente al Pluset+ eCG (3), pero cuándo contabilizamos los Brastositos la tendencia se invierte con menor número en Pluset (2), frente al Pluset+ eCG (4). Ambos tratamientos tienen el mismo número de Blastositos expandidos (1). Finalmente con respecto a la proporción de la calidad de los mismos (Calidad 1:Calidad 2), la proporción de Pluset+ eCG (5:2), fue mayor que la de Pluset (8:4).

Figura 3

Comparación de la proporción de embriones recuperados en diferentes estadios de desarrollo de acuerdo al tratamiento superovulatorio



Los costos por embrión viable (cálculos no mostrados) fueron determinados considerando los gastos incurridos en el proceso, incluyendo los dispositivos intravaginales, las hormonas, la inseminación artificial, los materiales utilizados y dividiendo el total por la cantidad de embriones

viables obtenidos. El costo por embrión utilizando el tratamiento convencional con Pluset fue de 277\$ por embrión, mientras que para el tratamiento Pluset + eCG fue de 310\$.

Discusión

La superovulación en condiciones de campo presenta una alta variabilidad, lo que la convierte en un factor de riesgo significativo. La variabilidad individual a la respuesta hormonal de ovulación múltiple está condicionada por factores extrínsecos tales como: raza, estación sexual, alimentación (Andino, 2024); sin embargo (Allcca Luján et al., 2023) menciona que dicha variabilidad se debe en gran parte al estado de los ovarios al comienzo del tratamiento y aunque la fisiología reproductiva ha avanzado significativamente, aún existen desafíos para comprender completamente los factores que determinan el éxito de la superovulación en las donantes.

Los resultados del presente estudio muestran que no existe diferencia significativa (0,234) en la respuesta superovulatoria determinada por el número de cuerpos lúteos.

Al comparar el número de folículos anovulatorios entre la primera y la segunda repetición, se observó una diferencia significativa ($p < 0.05$), con un total de 16 y 2, respectivamente. Dado que no se detectó un efecto de bloque (vaca) sobre los tratamientos, se sugiere que un factor externo, como el ambiente, podría ser la causa principal de esta diferencia. La primera repetición se llevó a cabo en una temporada marcada por un estiaje prolongado nunca antes visto en nuestro país, con temperaturas mínimas de 22°C (71°F) y máximas de 33°C (91°F), mientras que la segunda repetición se realizó en condiciones de precipitaciones seguidas, con temperaturas mínimas de 8°C (47°F) y máximas de 18°C (64°F). Estos resultados sugieren que el estrés calórico podría ser un factor determinante, lo cual concuerda con lo reportado por Waltero y Dias (2013), quienes afirman que el estrés por altas temperaturas puede afectar negativamente la dinámica ovárica, produciendo largos periodos de aciclicidad (niveles de progesterona < 1 ng/ml), ciclos irregulares o ciclos de corta duración.

El tratamiento con Pluset solo resultó en un mayor número de estructuras recuperadas (embriones), lo que podría indicar una mayor eficiencia en la producción de embriones. Sin embargo, el tratamiento con Pluset + eCG mostró una tasa de transferibilidad del 100% y ningún embrión degenerado, lo que sugiere que la calidad de los embriones podría ser superior en este grupo. La eCG es una hormona que se utiliza para mejorar la maduración de los folículos y la calidad de los óvulos. Esto podría explicar por qué el grupo de Pluset + eCG tuvo una mayor tasa de transferibilidad y ningún embrión degenerado lo que concuerda con el estudio realizado por (Sanchez, 2021) en donde se comparó dos tratamientos: FSH, 8 dosis decreciente de FSH por 4 días; FSH+eCG, con una sustitución de las cuatro últimas dosis de FSH en el protocolo

convencional en donde se obtuvo de igual manera un 100% de tranfereibilidad en el grupo tratado con eCG.

Algunos estudios han evaluado diferentes protocolos de superovulación y han encontrado que la adición de eCG puede mejorar la calidad de los embriones, lo que concuerda con nuestro estudio observando una mayor tasa de estructuras (embriones) transferibles en el grupo Pluset + eCG.

Otro de los factores determinantes en el éxito de los tratamientos MOET, es la condición corporal de las vacas tal como lo menciona (Ortega, 2022) “La leptina, la cual es secretada por el tejido adiposo refleja la condición corporal y el estado energético, indispensable en la modulación de la reproducción en bovinos al influir en la secreción de GnRH y la producción de esteroides ováricos. Ortega menciona también que bajos niveles de leptina, asociados a la disminución de grasa corporal (por debajo del 12.1%) y al balance energético negativo, pueden suprimir la actividad reproductiva al disminuir la secreción de GnRH y la producción de estrógenos y progesterona en los ovarios. La pérdida de condición corporal, más pronunciada en vacas primíparas, se acompaña de una reducción en los niveles de leptina, por lo que dicha hormona jugaría un papel fundamental en el manejo reproductivo.

Jiménez, C. (2009), manifiesta que se debe considerar el tipo de FSH y la presentación comercial. Dentro de los productos varía la potencia, dada en muchos casos por la relación FSH/LH. Los resultados también pueden variar según la dosis total, si se usan dosis decrecientes o constantes, los intervalos y por cuántos días se realiza el tratamiento.

Por otro lado (Hernández Cerón, 2016) señala que las vacas que presentan dos oleadas foliculares el periodo de dominancia folicular es mayor que en las de tres oleadas por lo que el tiempo de dominancia influye también en el potencial de los ovocitos para desarrollar un embrión viable; así, el porcentaje de concepción es menor cuando ovulan folículos que tuvieron más días de dominancia que cuando ovulan folículos con menor tiempo de dominancia.

Gibbons, A. y Cueto, M. (2010), reportan que el factor intrínseco de cada animal juega un rol primario en la respuesta al tratamiento de ovulación múltiple. Estudios realizados en vacunos demostraron que solamente el 68% de las hembras respondió con embriones transferibles. El 32% restante incluía a las hembras sin respuesta a la estimulación ovárica, sin recuperación de embriones u ovocitos, o con recuperación de embriones no transferibles. Por consiguiente siempre se debe tener presente que un porcentaje de hembras puede no responder al tratamiento hormonal de ovulación múltiple.

CONCLUSIONES

La sustitución de las últimas cuatro dosis de un protocolo tradicional con Pluset por eCG no mejoró la respuesta superovulatoria en términos del número de cuerpos lúteos. Además, se observó que el número de folículos anovulatorios fue significativamente mayor en las vacas tratadas con Pluset en comparación con las que recibieron Pluset+eCG.

El número de estructuras recuperadas, embriones transferibles, embriones degenerados fueron similares entre tratamientos.

Con respecto al costo-beneficio por embrión viable resulta numericamente más beneficioso el tratamiento únicamente con Pluset, sin embargo no existe diferencia estadística entre tratamientos.

REFERENCIAS

- Allcca Luján, Y., Rodríguez Zamora, A., Pozo Curo, A., Herrera Conde, A., & Sulca Ñaupas, L. (2023). Respuesta ovárica y embrionaria de dos protocolos de superovulación en bovinos altoandinos Pardo Suizo. *Revista de Investigaciones Altoandinas - Journal of High Andean Research*, 25(1), 49–55.
<http://dx.doi.org/10.18271/ria.2023.490>
- Andino, P. (2024). *Evaluación de dos programas de superovulación en vacas lecheras*. [tesis de maestría, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo]. Repositorio Institucional. <http://dspace.espoch.edu.ec/bitstream/123456789/4284/1/20T00559.pdf>
- Atuesta, J., & Gonella, A. (2011). Hormonal control of the estrous cycle in cattle and sheep. *Spei Domus*, 7(14), 15–25. <https://revistas.ucc.edu.co/index.php/sp/article/view/598>
- Britos Cano Aristides, Tomas Javier Acosta, Rodrigo Daniel Roman, Fernando Daniel Gimenez, & Ramon Alfredo Dominguez. (2020). *Manual de transferencia de embriones*. Conacyt. https://www.conacyt.gov.py/sites/default/files/upload_editores/u454/Manual_de_transferencia_de_embryones.pdf
- Decuadro-Hansen, D. V. M. (2015). *Consideración de diferentes aspectos de la Inseminación artificial (IA) en bovinos*. *Revista Científica Maskana*, 6 (Supl.), 21-30. <https://publicaciones.ucuenca.edu.ec/ojs/index.php/maskana/article/view/648>
- Ortega Tamayo, E. (2022). *Análisis de la leptina en vacas lecheras en periodo de transición y su efecto sobre la fertilidad*. [tesis de pregrado, Universidad Técnica de Babahoyo]. Repositorio Institucional <http://dspace.utb.edu.ec/handle/49000/11409>
- Filipiak, Y., Viqueira, M., & Bielli, A. (2016). Desarrollo y dinámica de los folículos ováricos desde la etapa fetal hasta la prepuberal en bovinos. *Veterinaria (Montevideo)*, 52(202), 2–2. http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1688-48092016000200002&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Forcada, F., Casao, A., & Abecia, J. (2009). *Producción In Vivo de Embriones Ovinos*. 2(6)14–19. https://produccion-animal.com.ar/produccion_ovina/inseminacion_ovinos/24-embriones.pdf
- Fuentes S, & De la Fuente J. (2024). *Superovulación con difentes dosis de Pluset en función del número de partos efectuados por vacas holstein de alta producción*.
- Garzón, N., Urrego, R., & Andrés Giraldo, C. (2007). *Some factors affecting Superovulation treatments in cattle embryo transference*. [tesis de pregrado, Universidad CES] Repositorio Institucional <http://hdl.handle.net/10946/1950>
- Hernández Cerón, J. (2016). *Fisiología Clínica de la Reproducción de Bovinos lecheros*. <https://doi.org/10.22201/fmvz.9786070286902e.2016>
- Hernandez-Coronado, C., Rosales-Torres, A., Vazquez-Lopez, S., & Guzman-Sanchez, A. (2023). Sincronización del estro y ovulación en hembras bovinas de razas cárnicas. Bases endocrinas y protocolos usados. *Abanico veterinario*, e206. Epub 27 de octubre de 2023. <https://doi.org/10.21929/abavet2023.16>.
- I.E.T.S. (2011). *Manual de la sociedad internacional de transferencia de embriones. Una guía de procedimientos e información genral sobre el uso de tecnología para la transferencia de embriones que enfatiza sobre los procedimientos sanitarios*. Cuarta Edición.

- Jimenez, C. (2009). Superovulación: Estrategias, Factores asociados y Predicción de la Respuesta Superovulatoria en Bovinos. *Revista de La Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*, 56(3), 195–214.
- Matamoros, R., & Salinas, P. (2017). *Fundamentos de la Fisiología y Endocrinología en animales domésticos* (Universidad Santo Tomas, Ed.; Primera Edición).
- Mogollón-Waltero, M & Burla-Dias, J. (2023). *Superovulación de hembras bovinas: alternativas para reducir el número de inyecciones de fsh*. *Spei Domus*, 9 (18). <https://doi.org/10.16925/sp.v9i18.545>
- Salazar, F., Agr, I., Acuña, I., Agr, I. ;, Bovinos, E. N., Leche, D. E., De, R., Barra, L. A., & Uribe, H. (2012). *Permitida la reproducción total o parcial de esta publicación citando la fuente y el autor. Comité Editor: Introducción Objetivo y Características a Mejorar*.
- Sanchez Sanchez, L. (2021). *Reemplazo parcial de la hormona folículo estimulante porcina (FSH-p) por gonadotrofina coriónica equina (ecg) en la superovulación de vacas en producción*. [tesis de pregrado, Universidad Católica de Cuenca]. Repositorio Institucional. <https://dspace.ucacue.edu.ec/handle/ucacue/17633>
- Sintex. (2005). Fisiología Reproductiva del Bovino. https://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/inseminacion_artificial/71-fisiologia_reproductiva_del_bovino.pdf