

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE BABAHOYO

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

TRABAJO DE TITULACIÓN

COMPONENTE PRÁCTICO PRESENTADO A LA UNIDAD DE
TITULACIÓN COMO REQUISITO PARA OPTAR EL TÍTULO DE:

MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

TEMA:

DETERMINACIÓN DE LA RELACIÓN DE CÉLULAS EPITELIALES
VAGINALES ANTE-MORTEM Y CALIDAD DE OVOCITOS POST-
MORTEM EN BOVINOS INTRODUCIDOS EN EL CAMAL MUNICIPAL
DE BABAHOYO.

AUTORA

MARLYS FERNANDA ANCHUNDIA HUACON

BABAHOYO-LOS RÍOS – ECUADOR

2016

Autoría

La responsabilidad del contenido de esta tesis de grado
corresponde exclusivamente a su autor

MARLYS FERNANDA ANCHUNDIA HUACON

DEDICATORIA

Esta tesis se la dedico a Dios quien me dio fortaleza para cumplir con mis metas.

A mis queridos padres Marlys y Humberto, a mis hermanos Nelson y Douglas quienes me brindaron su apoyo incondicional, su amor y siendo este también su logro por su sacrificio y comprensión.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a mis padres Humberto Anchundia y Marlys Huacon quienes son mi eje principal y por creer en mí por brindarme su confianza, y que gracias a su esfuerzo y sacrificio he podido alcanzar esta meta.

A mis hermanos Nelson Anchundia Huacon y Douglas Anchundia Huacon quienes siempre manifestaron su confianza y apoyo.

Agradezco al Dr. Johns Rodríguez Álava por su manifestación de apoyo y transmitir sus conocimientos durante la realización de mi titulación y así alcanzar esta meta en mi vida.

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO N°		PÁGINAS #
1	Porcentaje de hembras bovinos gestantes y no gestantes sacrificadas con fines de investigación en el Camal Municipal Del Cantón Babahoyo.	9
2	Identificación de los porcentajes de células epiteliales vaginales en hembras bovinos no gestantes que se sacrificaron en el Camal Municipal de Babahoyo.	9
3	Identificación de los porcentajes de células epiteliales vaginales en hembras bovinos gestantes que se sacrificaron en el Camal Municipal de Babahoyo.	10
4	Determinación del Porcentaje de ovocitos viables en hembras bovinos gestantes y no gestantes que ingresaron al Camal Municipal De Babahoyo.	10
5	Determinación de porcentajes de ovocitos no viables de hembras bovinos gestantes y no gestantes que ingresaron al Camal Municipal De Babahoyo.	11

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA N°		PÁGINAS #
1	Evaluación de condición física de la hembra.	19
2	Limpieza de la zona vulvar de la hembra.	19
3	Introduccion del hisopo en la cavidad de la vagina de la hembra bovino.	19
4	Fijación de muestra en ácido acético y metanol.	19

ÍNDICE DE CONTENIDO

PÁGINAS

PÁGINA DE AUTORÍA.....	I
PÁGINA DE APROBACIÓN.....	ii
DEDICATORIA.....	iii
AGRADECIMIENTO.....	iv
ÍNDICE DE CUADROS.....	v
ÍNDICE DE FIGURAS.....	vi
ÍNDICE DE CONTENIDO.....	vii
I INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Objetivos.....	2
II REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
III MATERIALES Y MÉTODOS.....	6
3.1 Ubicación y descripción del área experimental.....	6
3.2 Materiales y equipos.....	6
3.3 Factores estudiados.....	7
3.4 Diseño experimental.....	7
3.5 Datos evaluados.....	7
3.6 Metodología.....	7
3.6.1 Proceso de toma de muestras de citología vaginal exfoliativa	8
3.6.2 Recolección de ovarios.....	8
3.6.3 Proceso de análisis en laboratorio.....	8
IV RESULTADOS	9
4.1 Hembras gestantes y no gestantes.....	9
4.2 Células epiteliales vaginales en hembras no gestantes.....	9
4.3 Células epiteliales vaginales en hembras gestantes.....	10
4.4 Ovocitos viables en hembras gestantes y no gestantes.....	10
4.5 Ovocitos no viables en hembras gestantes y no gestantes.....	11
V DISCUSIÓN.....	12
VI CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	14
VII RESUMEN.....	15
VIII SUMMARY.....	16
IX LITERATURA CITADA.....	17
ANEXOS.....	19

I. INTRODUCCIÓN

Una de las biotecnologías de mayor impacto en las explotaciones pecuarias es la producción de embriones de alta calidad, la maduración ovocitaria *in vitro* (MIV), la fecundación *in-vitro* (FIV) y el cultivo embrionario *in vitro* (CEIV). Esto ha llevado a desarrollar tecnología de recolección de ovocitos inmaduros y estudiar las condiciones adecuadas para la maduración.

Entre las técnicas para un mejor aprovechamiento de las hembras bovinas de alta genética de los hatos ganaderos está el *Ovum Pick Up* (OPU). En Ecuador cuando se utiliza conjuntamente con técnicas de FIV, el intervalo generacional disminuye y aumenta la mejora genética materna produciendo más prole que con métodos convencionales al realizar esta técnica se requiere ayuda de ecografía y palpación. Es así que si la citología vaginal puede otorgar una referencia del estado morfológico de los ovocitos inmaduros ya que en las células epiteliales vaginales se refleja el estado hormonal de las hembras bovinas.

Para lograr el completo desarrollo y obtener los resultados que se desean en la práctica se debe considerar las condiciones morfológicas de los ovocitos (Moor 1983). Ya que se ha demostrado que existe una influencia directa sobre la capacidad de maduración de los ovocitos con la calidad de las capas de células del cumulus oophorus (Blondin, 1995).

El desarrollo *in vitro* de los ovocitos está íntimamente relacionados con la aptitud que se adquieren durante su etapa folicular previa. Para una mejor comprensión de los eventos que ocurren *in vitro* y de los factores que los afectan se considera simultáneamente el desarrollo folicular y ovocitario. Un ovocito morfológicamente normal y de buena calidad aquel que presenta una zona pelúcida bien definida y regular, un espacio perivitelino virtual en el que cabe el corpúsculo polar, ligeramente aplanado con forma esférica, un oolema regular y un ooplasma homogéneo.

Los ovocitos obtenidos deben responder a una serie de características para considerarse válidos en un tratamiento de reproducción asistida, para ello se realiza una valoración previa que los clasifica. La valoración de la calidad ovocitaria está basada en la morfología del ovocito, apariencia de su zona pelúcida, espacio perivitelino corpúsculo polar, membrana plasmática (oolema) y citoplasma (ooplasma) (Leibfried). Los resultados que han obtenido varias investigaciones indican que los ovocitos que presentan cumulus completo y compacto poseen la capacidad de complementar la maduración *in vitro*. Para la maduración *in vitro* de ovocitos y posteriormente el cultivo *in vitro* de embriones útiles para la transferencia es importante la selección correcta de ovocitos siendo así de gran importancia las características morfológicas del ovocito para lograr un buen desarrollo embrionario.

1.1. OBJETIVOS

1.1.1. Objetivo General

- Determinar la relación de células epiteliales vaginales y la viabilidad reproductiva de ovocitos inmaduros en hembras bovinas faenadas en el Camal Municipal de Babahoyo.

1.1.2. Objetivos Específicos

- Identificar células epiteliales vaginales ante-mortem que predominan en las hembras bovinas que ingresan al Camal Municipal de Babahoyo.
- Determinar la viabilidad reproductiva de ovocitos inmaduros post-mortem de las hembras bovinas en el Camal Municipal de Babahoyo.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

Según Vatti (1962) y Roberts (1971), el ciclo estral está constituido por cuatro etapas o fases: diestro, proestro, estro y metaestro; el diestro es la etapa en la cual hay el reposo sexual, en el cual se da la lisis del cuerpo lúteo; el proestro, es donde por acción de las gonadotropinas, se da inicio al crecimiento y desarrollo de los folículos en los ovarios los cuales están destinados a madurar, en la actividad de los órganos reproductivos se da un mayor incremento; el estro es la etapa en donde la hembra acepta al macho y se han madurado los folículos; y el metaestro fase en la cual se realiza la descendencia del folículo y la formación del cuerpo lúteo.

Según Arthur (1975), la fase del proestro se manifiesta antes de el estro, donde ocurre un aumento significativo de la actividad de los organos reproductivos de la hembra, existe la luteolisis, crecen rapidamente los foliculos, se amplia el utero, la mucosa se vuelve congestionada y edematosa y las glandulas activas, las celulas epitililes se cornifican, aumenta su secrecion y la mucosa vaginal se vuelve hipertérmica. Según el mismo autor el estro es la fase donde la hembra acepta al macho, existe mucha secreción en las; glándulas uterinas, cervicales y vaginales, el cérvix esta relajado, la vagina y la vulva se agrandan.

Según Roberts (1971) para los procesos reproductivos y las fases del ciclo estral son fundamentales los folículos que se encuentran en los ovarios. En estos procesos a partir de la liberación de hormonas al torrente sanguíneo ocurre la compleja interacción del hipotálamo-hipófisis-ovarios. En el ciclo estral tiene una gran importancia la influencia de las hormonas sexuales ya que es uno de los factores más importantes para la reproducción, las cuales se encuentran reguladas por el sistema neuroendocrino del hipotálamo hipófisis-ovarios-útero.

Meikle, Tasende, & Sosa, (2004) publicaron que sobre las células epiteliales actúan varias hormonas sexuales las cuales tienen influencia sobre el tracto reproductor de la hembra. En el ciclo estral de varias especies de animales mediante la citología vaginal exfoliativa se observa proliferación y muerte celular, esto eventos son provocado por las hormonas sexuales, (Ghannam y Bosc, 1972).

En la pared vaginal se encuentran las células epiteliales estas se desprenden y mediante los trabajos de la citología vaginal se las pueden clasificar de forma general en : células parabasales, intermedias y superficiales (Hayashi et..al,1988). En esta clasificación se influye fundamentalmente un criterio morfológico y de afinidad de tintorial (Moxon y Copley, 2010) que al no ser preciso, puede presentar la desventaja de tener variaciones relacionadas con el ejecutor de la técnica.

El ovario es un organo que cumple varias funciones como la produccion de sustancias como hormonas, facilitar un medio ambiente adecuado para el crecimiento y liberacion de gametos viables, los cuales son alojados por los foliculos desde el periodo fetal (Johnson, 2003).

La LH afecta a la maduración del ovocito, altera la concentración de calcio dentro del ovocito, aumenta la glucólisis y la oxidación mitocondrial de la glucosa dentro del ovocito. La FSH estimula la actividad aromática de las células de la granulosa, haciendo que el ambiente folicular androgénico a estrogénico. Además, la FSH incrementa la expansión de las células del cúmulus (Hazeleger, 1995).

Las diferencias de la recolección ante-mortem y post-mortem de los ovocitos en los ovarios de la hembras bovinos no son significativas la recuperación de los ovocitos in vivo tiene un poco mas de dificultad ya que se requiere de ecografía para lograr la observación de folículos, es así que menciona (Kruip, 1993 ; Hashimoto, 1999) que dentro de las principales ventajas de la obtención de donantes de ovocitos es que se tiene acceso a los animales de alta genética y se puede colectar varios ovocitos repetidamente ayudando así a incrementar la reproducción en el hato ganadero.

Lien, (2001) indica que la etapa más crítica de la fertilización *in vitro* es la elección de ovocitos de una buena calidad ya que de esto depende un óptimo desarrollo embrionario, evaluar los ovocitos y elegir el mejor ya que de esto depende el éxito en la reproducción *in vitro*.

Para un buen desarrollo de embriones *in vitro* hay que tener presente que es igual de importante la calidad del ovocito asi como lo es el medio de cultivo.(Rizos, 2003); se obtiene un promedio de 15 y 18 ovocitos por animal de los cuales el 57% y 70 % dependen de su morfología para una maduración *in vitro* adecuada (PALMA, 1993).

Los primeros aspectos para diferenciar entre ovocitos viables y no viables depende de la morfología del citoplasma y las células del cúmulus la calidad de las células que rodean el ovocito y la apariencia homogénea del citoplasma son los mejores indicadores para definir si el ovocito es competente para la maduración y fecundación *in vitro*. (Leibfried-Rutledge, 1986).

Según (DeLoos, 1989 y Blondin, 1995) las hembras bovinas que tienen foliculos de un tamaño superior tienen la capacidad de poseer ovocitos con las 5 capas de celulas compactas del cúmulus oophorus. Los ovocitos con signos de degeneracion en la estructura

del cumulus en su mayoría provienen de folículos atresicos, ha demostrado que existe una influencia directa sobre la capacidad de maduración del ovocitos con la calidad de las capas de células del cúmulus oophorus.

Los resultados que se han obtenido por varias investigaciones indican que los ovocitos que presentan cúmulus completo y compacto poseen la capacidad de complementar la maduración *in vitro*. Para la maduración *in vitro* de ovocitos y posteriormente el cultivo *in vitro* de embriones útiles para la transferencia es importante la selección correcta de ovocitos siendo así de gran importancia las características morfológicas del ovocito para lograr un buen desarrollo embrionario. Para lograr el completo desarrollo y obtener los resultados que se desean en la práctica se debe considerar las condiciones morfológicas de los ovocitos (Leibfried, 1979 y Moor, 1983).

Younis (1998) indica que los ovocitos se pueden clasificar según los siguientes criterios: las capas de células del cumulus la apariencia y homogeneidad del citoplasma, aunque las categorías para la clasificación varían según los autores con importancia científica, así Nagano (2006) publica que las categorías que se le asigna a los ovocitos según su morfología son 2, 3 y 4 pero las que son más relevantes son del tipo A estos son ovocitos con células del cumulus con número de capas múltiples y compactas mayor a 4 el ovocito tipo B tiene capas múltiples del cúmulus entre 1 a 3 capas y un citoplasma homogéneo con zonas periféricas oscuras; el tipo C se lo reconoce por tener un cúmulus descubierto y un citoplasma irregular y con zonas oscuras, aunque también la característica del ooplasm o citoplasma oscuro puede indicar de que el ovocito está envejeciendo y no es un buen ovocito para el desarrollo de un nuevo embrión.

Estudios de la calidad del ovocito y su clasificación por sus características morfológicas son a nivel estructural y por su desarrollo en un sistema de maduración *in vitro* en la categoría 1 y 2 los orgánulos son distribuidos de manera uniforme, mientras que en las 3 y 4 los orgánulos son irregulares. La selección de los ovocitos que se utilizan para la maduración *in vitro* en bovinos fue iniciada por Leibfried y First (1979), quienes demostraron que las características morfológicas son las que influyen en la maduración *in vitro* de los ovocitos y no el tamaño folicular ni el momento del ciclo estral de la hembra.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación y descripción del área experimental.

3.1.1. Localización

El presente trabajo se realizó en el camal municipal de la ciudad de Babahoyo cuyas características son:

Ubicación del área experimental.

País	Ecuador
Provincia	Los Ríos
Cantón	Babahoyo
Latitud sur	1°49'00"
Longitud oeste	79°31'00"
Altitud	8 msnm

La ciudad de Babahoyo presentó un clima cálido – lluvioso con una temperatura variable en el año de 24 °C y máxima de 30 °C.

3.2. Materiales y Equipos

Materiales de campo.

- 200 Hembras Bovinas
- Hisopos
- Guantes
- Portaobjetos
- Mandil
- Cámara
- Recipientes
- Hojas de registros
- Tubos
- Alcohol
- Ácido acético
- Metanol
- **Materiales de laboratorio.**
- Microscopios
- Guantes
- Mandil
- Equipo de disección
- Tinción de Giemsa
- Agua Destilada
- Papel
- Lunas de reloj
- Jeringas con agujas numero 18
- Pipetas de Pasteur

- Suero Fisiológico.
- Alcohol.

Materiales de oficina.

- Plumas
- Registros
- Libreta de apuntes
- Carpetas
- Cartuchos de tintas
- Resma de hojas A4

3.3. Factores estudiados.

- Presencia células epiteliales vaginales en hembras bovinas.
- Identificación de ovocitos en aparato reproductivo de bovinos.

3.4. Diseño experimental

- Se utilizó Estadística Descriptiva.

3.5. Datos evaluados.

- Cuantificación de ovocitos inmaduros.
- Exfoliación de células epiteliales vaginales.
- Relación células epiteliales – viabilidad de ovocitos inmaduros.

3.6. METODOLOGÍA

La investigación se realizó en el Camal Municipal de Babahoyo en el cual se tomaron 200 muestras de citología vaginal exfoliativa. Las muestras se recolectaron de las hembras bovinas que ingresaron para ser faenadas y posteriormente se recolectaron los ovarios y se colocaron en recipientes con su respectiva identificación para ser evaluados en el laboratorio. La determinación de las células y la clasificación de los ovocitos se llevaron a cabo en el laboratorio de la Facultad de Ciencias Agropecuarias (FACIAG) para determinar la relación de las células epiteliales y la viabilidad de los ovocitos inmaduros mediante el método de aspiración.

3.6.1. Procesos de toma de muestras de citología vaginal exfoliativa.

Se ingresó un hisopo esterilizado en la vagina de la hembra bovina.

Se giró tres veces el hisopo en el porta objeto.

Se introdujo el porta objeto en un recipiente con metanol durante 5 segundos y en otro recipiente combinando metanol 10 % y ácido acético 90 % durante 10 segundos. Se colocó las muestras en una caja debidamente asegurada.

3.6.2. Recolección de ovarios

Se recolectaron los ovarios de las hembras faenadas con el adecuado cuidado para no ocasionar daño a los folículos, una vez extraídos se realizó dos lavados con solución salina al 10 % y se los colocó en cajas de vidrio con solución salina al 10%.

3.6.3. Proceso de análisis en laboratorio

- **Paso 1**

Se procedió a lavar los ovarios con solución salina al 10%, se utilizó toallas de papel para manipular los ovarios y mediante método de aspiración con jeringas de 10 ml con aguja número 18 se realizó la extracción de los ovocitos.

- **Paso 2**

Se observaron los ovocitos en el estereoscopio colocándolos en una caja Petri separándolos en burbujas de solución salina, se realizó el conteo y clasificación.

- **Paso 3**

La tinción de células epiteliales vaginales se realizó mediante la tinción de Giemsa, después de que transcurrieron de 3 a 4 minutos se procedió a lavar la placa con agua destilada y posteriormente a su secado.

- **Paso 4**

Se realizó el conteo de células epiteliales vaginales mediante el microscopio electrónico.

Después de la clasificación de los ovocitos y el conteo de células se procedió a recolectar los datos en las hojas de registros.

IV. RESULTADOS

El estudio se realizó en el camal municipal de Babahoyo se muestrearon 200 hembras bovinas de las cuales fueron 126 hembras no gestantes y 74 hembras en estado de gestación presentaron condición corporal entre 2,5 - 4,5.

4.1. Hembras gestantes y no gestantes.

En el Cuadro 1 se presenta que de un total de 200 hembras bovinas muestreadas, el 63 % corresponde a hembras no gestantes y el 37 % a hembras gestantes de los 200 animales estudiados.

Cuadro 1. Porcentaje de hembras gestantes y no gestantes.

Animales en estudio	Hembras no gestantes	Hembras gestantes
200	63 %	37 %

4.2. Células epiteliales vaginales en hembras no gestantes.

En el Cuadro 2 se muestra el 34 % del tipo cornificadas, 25 % mediana 22 % temprana 16 % tardía y las parabasales con 3 % correspondientes a las hembras no gestantes que ingresaron al camal municipal de Babahoyo.

Cuadro 2. Identificación de porcentajes de células epiteliales vaginales en hembras no gestantes post-mortem.

Hembras no gestantes	Células epiteliales vaginales (%)				
	Parabasal	Temprana	Mediana	Tardía	Cornificada
126 - (63 %)	3	22	25	16	s34

4.3. Células epiteliales vaginales de hembras gestantes

Se muestra en el Cuadro 3 las hembras gestantes sacrificadas en el camal municipal de Babahoyo; se encontró que el 34 % correspondieron a las células cornificadas, 24 % mediana, 24 % temprana, 13 % tardía y 5 % de células parabasales, presentando un porcentaje similar a las hembras no gestantes también sacrificadas en el camal determinando que el estado de preñez en las hembras no influye mediante los valores porcentuales de células epiteliales vaginales.

Cuadro 3. Identificación de porcentajes de células epiteliales vaginales en hembras gestantes que se sacrificaron en el Camal Municipal de Babahoyo.

Hembras gestantes	Células Epiteliales Vaginales (%)				
	Parabasal	Temprana	Mediana	Tardia	Cornificada
74 – (37%)	5	24	24	13	34

4.4. Ovocitos viables en hembras gestantes y no gestantes.

Se muestra en el Cuadro 4 que el 67 % correspondió a ovocitos viables en las hembras no gestantes y un resultado menor del 58 % en las hembras gestantes encontrados en las hembras faenadas en el camal municipal de Babahoyo.

Cuadro 4. Determinación de porcentajes de ovocitos viables en hembras gestantes y no gestantes que ingresaron al Camal Municipal De Babahoyo.

Hembras	%	N° de ovocitos recuperados	Ovocitos viables (%)
no gestantes	63	872	67
gestantes	37	512	58

4.5. Ovocitos no viables en hembras gestantes y no gestantes.

En las hembras no gestantes se encontró un 33 % de ovocitos no viables este resultado fue menor al de hembra gestantes en los cuales se obtuvieron el 42 % ovocitos no viables (Cuadro 5).

Cuadro 5. Determinación de porcentajes de ovocitos no viables de hembras gestantes y no gestantes que ingresaron al Camal Municipal De Babahoyo.

Hembras	%	N° de ovocitos recuperados	Ovocitos no viables (%)
no gestantes	63	572	33
gestantes	37	375	42

V.DISCUSIÓN

El porcentajes de hembras sacrificadas en el camal municipal de la ciudad de Babahoyo fueron de 37 % y 63 % gestante y no gestante respectivamente valores que fueron superiores García (2014) quien presento en el Camal Municipal De Ventanas un mayor porcentaje de hembras gestantes que fue del 55,5 % y 44,5 % de hembras no gestantes. Estos valores nos indican que las hembras que ingresan al camal municipal de Babahoyo para el sacrificio tienen más dificultad para manifestar estro durante su vida reproductiva; esto se refleja en los porcentajes que se observaron de hembras no gestantes el cual fue superior al de hembras gestantes los cuales tenían procedencia de diferentes hatos ganaderos.

Se muestra que el 34% de células cornificadas, mediana 25 % y temprana 22 %, tardía con 16 % y las parabasales con 3 % presentes en hembras no gestantes que ingresaron al camal municipal de Babahoyo. En las hembras gestantes se encontró el 34 % de células cornificadas, 24 % mediana, 24% temprana, 13 % tardía y 5 % de células parabasales, presentando un porcentaje similar a las hembras no gestantes también sacrificadas en el camal determinando que el estado del ciclo estral de las hembras no influye mediante los valores porcentuales de células epiteliales vaginales.

Indica Younis (1998) que los ovocitos se pueden clasificar según los siguientes criterios: las capas de células del cumulus la apariencia y homogeneidad del citoplasma, aunque las categorías para la clasificación varían según los autores con importancia científica, así Nagano (2006) menciona que las categorías que se le asigna a los ovocitos según su morfología son 2,3 y 4 pero las que son más relevante son del tipo A, estos son ovocitos con células del cumulus con número de capas múltiples y compactas mayor a 4; el ovocito tipo B tiene capas múltiples del cumulus entre 1 a 3 capas y un citoplasma homogéneo con zonas periféricas oscuras ;el tipo C se lo reconoce por tener un cumulus descubierto y un citoplasma irregular y con zonas oscuras, aunque también la característica del ooplasma o citoplasma oscuro puede indicar de que el ovocito está envejeciendo y no es un buen ovocito para el desarrollo de un nuevo embrión.

Los ovocitos se clasificaron según su calidad reproductiva agrupando a los de calidad A y B en ovocitos viables y los de calidad C, D y E en ovocitos no viables. Los resultados de la de ovocitos viables y no viables se obtuvieron a través de la clasificación morfológica de las que se consideró las capas del cumulus la integridad del citoplasma y su homogeneidad.Existe el 67 % de ovocitos viables en las hembras no gestantes y un resultado menor del 58 % en las hembras gestantes encontrados en las hembras faenadas en el camal municipal de Babahoyo resultados que fueron superiores que los obtenidos por Collantes (2011) que fueron del 55% quien menciona que los ovocitos fueron extraídos 1 hora post mortem en hembras bovinas faenadas en el camal de Santa Cruz – Galápagos, tiempo aproximadamente similar a los ovocitos extraídos en la presente investigación.

En las hembras no gestantes se encontró un 33 % de ovocitos no viables este resultado fue menor al de hembra gestantes en los cuales se obtuvieron el 42 % ovocitos no viables; resultados que se muestran inferiores a los obtenidos por Collantes J. quien identifico que el 45 % de ovocitos extraídos 1 hora después del sacrificio del animal fueron ovocitos no viables en las hembras bovinas faenadas en el camal de Santa Cruz – Galápagos.

El porcentaje de ovocitos viables fue mayor que el de ovocitos no viables esto determina que aunque el porcentaje de células epiteliales fue inferior al de las hembras del hato ganadero de la Universidad Técnica De Babahoyo la citología vaginal no tuvo relación a la calidad reproductiva de los ovocitos ya que los encontrados según su morfología están óptimos para la producción *in vitro* de embriones.

Los porcentajes de células epiteliales y la viabilidad de los ovocitos varían de acuerdo a cada hembra bovino ya que influyen diferentes factores como la condición corporal, estado de gestación, condición racial y ciclo estral.

VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones:

- ❖ Se determinó el 34% de células cornificadas y 67 % de ovocitos viables en las hembras no gestantes y 58 % de ovocitos viables en las hembras gestantes de animales sacrificadas en el camal municipal de Babahoyo, sin embargo el alto porcentaje de ovocitos viables no garantiza que se produzca preñez en las hembras de hatos ganaderos.
- ❖ Se identificó el 42 % de ovocitos no viables en las hembras gestantes siendo este porcentaje mayor al de las hembras no gestantes que fue el 33% indicando que la viabilidad y calidad de ovocitos son afectados por el estado de gestación.

Recomendaciones.

- ❖ Transferir el uso de biotecnologías reproductivas para el sector ganadero en la provincia.
- ❖ Realizar estudios socio económico del ingreso de hembras bovinas gestantes a los camales.
- ❖ Recomendar futuras investigaciones de biotecnología reproductiva en los diferentes camales municipales del país.

VII. RESUMEN

La presente investigación se llevó a cabo en la ciudad de Babahoyo provincia de los Ríos con la finalidad de determinar la relación de células epiteliales vaginales y la viabilidad de ovocitos inmaduros en hembras bovinas faenadas en el Camal Municipal de Babahoyo

Se recolectó 200 muestras de citología vaginal y 400 ovarios de 200 hembras. La determinación de las células y la clasificación de los ovocitos se llevaron a cabo en el laboratorio de la FACIAG para determinar la relación de las células epiteliales y la calidad de los ovocitos inmaduros.

Se comprobó que de 126 hembras no gestantes (63 %) y de 74 hembras gestantes (37 %) se encontró un total 2331 ovocitos. De las hembras no gestantes se determinó que existe el 67 % de ovocitos viables y el 33 % de ovocitos no viables determinando el porcentaje superior del 34 % de células cornificadas quienes se encuentran cuando el animal manifiesta en su ciclo estral el celo. En las hembras gestantes de los animales muestreados se identificó el 58 % de ovocitos viables y el 42 % ovocitos no viables con un 34 % de células epiteliales cornificadas.

Determinando que existe una relación entre los porcentajes de células cornificadas y los ovocitos viables en las hembras bovinas ya que se encontró porcentajes superiores de células cornificadas que las demás células epiteliales y los porcentajes de ovocitos viables fueron aceptables y superiores que a los de ovocitos no viables en hembras no gestantes.

Palabras claves:

Células epiteliales, ovocito, hembras bovinas, ovarios, células cornificadas.

VIII. SUMMARY

The research was carried out in the city of Babahoyo in the province of the Rios the purpose of determining the relationship of vaginal epithelial cells and the quality intrinsic of immature oocytes bovine females in the municipal slaughterhouse of Babahoyo.

Was collected 200 samples of vaginal cytology and 400 ovaries of 200 female cattle. The determination of cells and top charts of oocytes were carried out in the laboratory of the Faculty of Sciences Agricultural of the University Technique of Babahoyo.

Commit that 126 non-pregnant females (64 %) and of 74 pregnant (37 %) animals in which it was found that a total of 2331 oocytes. Of non-pregnant females It was determined that there is a of viable oocytes and 33 % of non-viable oocytes by determining the upper percentages 74 % of cells cornified who are whit the animal manifested in its estrous cycle the zeal. In the pregnant animals (37%) of animals sampled was identified 58 % of oocytes viable and 42 % of no - viable oocytes with a 34 % of cells epithelial cornfield, cells were higher than the other vaginal epithelial cells found. Determining that there is a relation between the percentages of cells cornified and the viable oocytes in females bovines as found higher percentages of cells cornified that the other epithelial cells and the percentages of viable oocytes were acceptable and higher than those of non-viable oocytes in non-pregnant females.

Keywords:

Epithelial cells, oocyte, bovine females, ovaries, cells cornfield.

IX. LITERATURA CITADA

- Arthur, G. (1975). *Veterinary reproduction and obstetrics*. . London, Inglaterra.
- Blondin, P. M. (1995). *Blondin, P. Oocyte follicular and follicular morphology as determining characteristics for developmental competence in bovine oocyte*. Mol Reprod Dev.
- Collantes, I. (2011). “*VIABILIDAD DE LOS OVOCITOS BOVINOS OBTENIDOS POST MORTEM, PARA LA PRODUCCIÓN DE EMBRIONES IN-VITRO.*”. Galapagos-Ecuador
- Deloos, F. V. (1989). *Morphology of immature bovine oocytes*. Gam Res.
- Garcia, M. (2014). “*Determinación del porcentaje de hembras bovinas gestantes que se faenan en el camal municipal de la ciudad de ventanas*”. Tesis de pregrado Universidad Tecnica de Babahoyo. Ventanas - Ecuador
- Ghannam, S. A., & Bosc, M. J. (1972). *Ghannam, S. A.; Bosc, MExamination of vaginal epithelium of the sheep and its use in pregnancy diagnosis*. AM.J.Vt.
- Graham, J. D. (1997). *Physiological action of progesterone in target tissues*. Endocr.Rev.
- Hashimoto, S. (1999). *Hashimoto, S.,Takaruna, R.,Kishi,M., Su Ultrasound-guided follicle aspiration: the collection of bovine cumulus-oocyte complexes from ovaries of slaughtered or live cows*. Hashimoto, S.,Takaruna, R.,Kishi,M., Sudo,T.,Minami,N.,Yamada,M. 1999. Ultrasound-guided follicle aspiration: the colTheriogenology 51:,757-765.
- Hayashi, K.; Hayashi, M.; Boutin, E.; (1998) Cunha, G.R.; Bernfield, M. & Trelstad, R. L. Hormonal modification of epithelial differentiation and expression of cell surface heparan sulfate proteoglycanin the mouse vaginal epithelium.*immunohistochemical and electron microscopi* , 68-76.
- Hazeleger, N. D. (1995). *Hazeleger, N.L., D. J. Hill, R.B. StuRelationship of morphology and follicular fluid environment of oocytes to their developmental potential in vitro*. Hazeleger, N.L., D. J. Hill, R.B. Stubbings y J.S. Walton. 1995. Relationship of morTheriogenology, 43:502-509.
- Johnson, A. (2003). *Intracellular mechanisms regulating*. An im Rprod Sci.

Kruip ThAM, B. R. (1994). *Pontential use of ovum pick-up for embryo production and breedingin cattle*. Theriogenology.17

Kruip, T. B. (1993). *Application of OPU forembryoproduction and breeding in castle*. Theriogenology,39: 251 .

Leibfried, L. (1979). *Characterization of bovine follicular oocytes and their ability to mature in vitro*. J. Anim. Sci.

Leibfried-Rutledge, M. L. (1986). *Leibfried-Rutledge, M. L Effects of fetal calf serum and bovine serum albumin on in vitro maturation and fertilization of bovine and hamster cumulus-oocyte complexes*. Biol.Reprod.

Lien, Y. (2001). *Vitrification of mouse oocytes using closed pulled straws achieves a high survival and preserves good patterns of meiotic spindles, compared with conventional straws, open pulled straws and grids*. Human reproduction. Human reproduction.

Meikle, A., Tasende, C., & Sosa, C. (2004). *The role of sex steroid receptors in sheep female reproductive physiology*. Reprod. Fer. Dev.

Mendoza, I. C. (2011). *“Viabilidad de los ovocitos bovinos obtenidos post mortem, para la producción de embriones in-vitro.”*. Galapagos-Ecuador.

Moor, R. (1983). *Contact, signalling and cooperation between follicle cells and dictyate oocytes in mammals*. En: *Current Problems in Germ Cell Differentiation*.

Moxon, R., & Copley, D. &. (2010). *Quality assurance of canine vaginal cytology: A preliminary study*. Theriogenology.

Nagano, M. K. (2006). *Relationship between bovine oocyte morphology and in vitro developmental potential*. Japon: Zygote 14: 53–61.

Palma, G. A.-S. (1993). *In vitro production of cattle embryos*.

Rizos D, G. A. (2003). *Bovine embryo cultere in the precen or absence of serumimplications for blastocyst development, cryotolerance,and messenger RNA expression*. Biol Reprod .

Younis, A. I.-H. (1998). *Influence of serum and hormones on bovine oocyte maturation and fertilization in vitro*.Gamete Res. 23:189–20

ANEXOS



Figura 1. Evaluación de condición física de la hembra



Figura 2. Limpieza de la zona vulvar de la hembra

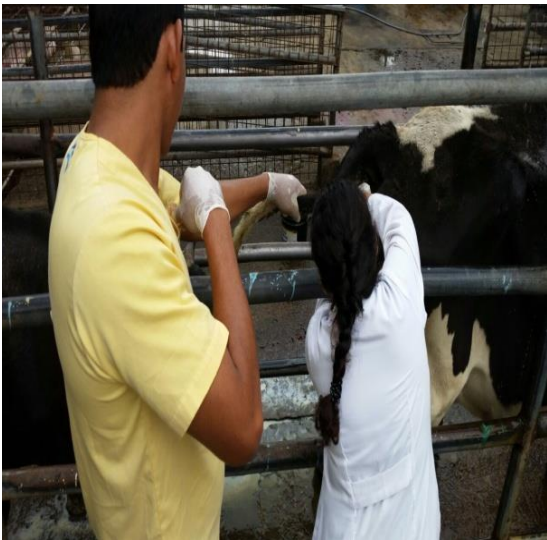


Figura 3. Introducción del hisopo en la cavidad de la vagina de la hembra bovina



Figura 4. Fijación de muestra en ácido acético y metanol