



11

# RESPUESTA SUPEROVULATORIA Y VIABILIDAD EMBRIONARIA CON LA APLICACIÓN EPIDURAL DE FSH-p EN OVEJAS

Medicina Veterinaria

## Autores

- Juan Carlos Alvarado
- Daniel Argudo Garzón
- Edy Castillo Hidalgo
- Pablo Rubio Arias



25 OCT 2019

RECIBIDO  
HORA: 16:06 FIRMA: H. Calle

Cuenca, octubre de 2019

N° Proyecto



## 1 TABLA DE CONTENIDOS

---

<b>1</b>	<b>TABLA DE CONTENIDOS.....</b>	<b>2</b>
<b>2</b>	<b>DATOS GENERALES DEL PROYECTO .....</b>	<b>3</b>
<b>3</b>	<b>INSTITUCIONES INVOLUCRADAS Y PARTICIPANTES Y BENEFICIARIOS.....</b>	<b>4</b>
3.1	INSTITUCIONES INVOLUCRADAS EN EL PROYECTO .....	4
3.2	INVESTIGADORES PARTICIPANTES EN EL PROYECTO .....	5
3.3	ESTUDIANTES PARTICIPANTES EN EL PROYECTO.....	13
3.4	BENEFICIARIOS DEL PROYECTO .....	14
<b>4</b>	<b>DESCRIPCIÓN DE LA PROPUESTA .....</b>	<b>14</b>
4.1	RESUMEN DEL PROYECTO .....	14
4.2	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	14
4.3	MARCO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE .....	15
4.4	PALABRAS CLAVE.....	16
4.5	HIPÓTESIS O PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN .....	19
4.6	DESCRIPCIÓN METODOLÓGICA.....	19
4.7	OBJETIVOS.....	19
4.7.1	GENERAL .....	21
4.7.2	ESPECÍFICOS .....	21
4.8	JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN .....	21
4.9	RESULTADOS ESPERADOS .....	21
4.10	ASPECTOS BIOÉTICOS Y SOCIALES .....	22
<b>5</b>	<b>IMPACTO DEL PROYECTO .....</b>	<b>23</b>
5.1	IMPACTO LEGAL, SOCIAL, TÉCNICO Y/O ECONÓMICO .....	23
5.2	IMPACTO AMBIENTAL.....	23
5.3	RIESGOS DEL PROYECTO.....	23
5.4	PLAN DE SOSTENIBILIDAD .....	23
<b>6</b>	<b>DIFUSIÓN DE RESULTADOS.....</b>	<b>24</b>
6.1	EFFECTOS MULTIPLICADORES.....	24
6.2	TRANSFERENCIA DE RESULTADOS.....	24
<b>7</b>	<b>PLANIFICACIÓN Y FINANCIAMIENTO .....</b>	<b>25</b>
7.1	FACILIDADES DE TRABAJO .....	25
7.2	CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES (ANEXO I).....	26
7.3	PRESUPUESTO Y PROGRAMACIÓN FINANCIERA (ANEXO II).....	30
<b>8</b>	<b>BIBLIOGRAFÍA Y REFERENCIAS CIENTÍFICAS CITADAS .....</b>	<b>36</b>
<b>9</b>	<b>DECLARACIÓN FINAL .....</b>	<b>38</b>



## 2 DATOS GENERALES DEL PROYECTO

<b>TÍTULO</b>					
<b>RESPUESTA SUPEROVULATORIA Y CALIDAD EMBRIONARIA CON LA APLICACIÓN EPIDURAL DE FSH-p EN OVEJAS</b>					
<b>TIPO DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN</b>					
Investigación Básica <input checked="" type="checkbox"/>		Investigación (I+D+I) <input type="checkbox"/>		Investigación (I+V) <input type="checkbox"/>	
<b>DIRECTOR DEL PROYECTO</b>					
<i>Ing. Juan Carlos Alvarado. M.Sc</i>					
<b>CENTRO Y GRUPO DE INVESTIGACIÓN</b>					
<i>Biotecnologías de la Reproducción</i>					
<b>LÍNEA Y ÁMBITO DE INVESTIGACIÓN INSTITUCIONAL</b>					
<i>Para información sobre las líneas de investigación dirigirse al enlace <a href="#">Lineas y Ambitos de Investigación Institucionales</a>,</i>					
<i>Ciencias Agropecuarias</i>					
<i>Sanidad y Producción</i>					
<b>CAMPO, DISCIPLINA Y SUBDISCIPLINA UNESCO</b>					
<i>Consultar el código del campo y de la disciplina según UNESCO en el enlace <a href="#">SKOS</a></i>					
Campo	<b>31 Ciencias Agrarias</b>	Disciplina	<b>3104 Producción Animal</b>	Subdisciplina	<b>3104.11 Reproducción</b>
<b>MODALIDAD DEL PROYECTO</b>					
Proyecto Menor <input type="checkbox"/>		Proyecto Intermedio <input checked="" type="checkbox"/>		Proyecto Interinstitucional <input type="checkbox"/>	
<b>Programa:</b> En caso de que el proyecto sea parte de un programa.					
<b>TIEMPO DE EJECUCIÓN DEL PROYECTO</b>					
Duración del proyecto en meses			<i>12 meses</i>		
<b>TIPO FINANCIAMIENTO DEL PROYECTO</b>					
Monto financiamiento UCACUE			<i>\$ 19994,00</i>		



Monto otras fuentes de financiamiento	<i>De ser el caso, ingrese el monto del financiamiento del proyecto por alguna contraparte</i>
Monto total del financiamiento proyecto	\$ 19994,00

### 3 INSTITUCIONES INVOLUCRADAS Y PARTICIPANTES Y BENEFICIARIOS

#### 3.1. INSTITUCIONES INVOLUCRADAS EN EL PROYECTO

Incluir una tabla por cada institución con las cuales se compartirá la investigación, agregue tantas instituciones como sean necesarias.

En el caso de que la investigación será colaborada o co-ejecutada con una o más instituciones, involucrando aporte monetario, personal científico e infraestructura, se deberá completar los datos de dichas instituciones en la tabla a continuación. Además, deberá incluir una carta de entendimiento entre la Institución Postulante y cada institución co-ejecutora, en la cual se establezca claramente cuál será la naturaleza de la participación y el grado de responsabilidad de cada institución durante la ejecución del proyecto.

<b>Institución Ejecutora Principal:</b>		Universidad Católica de Cuenca		
Dirección:	Ciudad:	Correo electrónico:	Dirección Web:	Teléfonos / Fax:
Av. de las Américas y Humbolt	Cuenca	info@ucacue.edu.ec	<a href="https://www.ucacue.edu.ec/">https://www.ucacue.edu.ec/</a>	593 (07) 2-830-751 / 2-830-877 / 2-824-365

<b>Institución Co Ejecutora 1:</b>		(Nombre o siglas de la institución)		
Dirección:	Ciudad:	Correo electrónico:	Dirección Web:	Teléfonos / Fax:

<b>Institución Co Ejecutora 1:</b>		(Nombre o siglas de la institución)		
Dirección:	Ciudad:	Correo electrónico:	Dirección Web:	Teléfonos / Fax:



### 3.2. INVESTIGADORES PARTICIPANTES EN EL PROYECTO

*Nota: Debe incluirse al personal tanto de la UCACUE, como de la(s) institución(es) que compartan la investigación. Si es necesario añade una tabla por cada colaborador del equipo científico-técnico del proyecto. No se deben insertar Curriculum Vitae detallados, solamente los campos requeridos.*

PERSONAL DEL PROYECTO			
Función en el proyecto	<b>Director del Proyecto</b>		
Nombres y apellidos:	<b>Juan Carlos Alvarado</b>		
Cédula de Identidad o Pasaporte:	<b>0103352811</b>	Categoría en el Registro Nacional de Investigadores de la SENESCYT (opcional)	
Institución a la que pertenece:	<b>Universidad Católica de Cuenca</b>		
Unidad Académica / Facultad	<b>Ciencias Agropecuarias</b>	Carrera:	<b>Medicina Veterinaria</b>
Grado académico más alto y/o especialización	Magister	Cargo actual:	Subdecano
Teléfonos:	<b>0999023022</b>	Correo Electrónico:	<b>jalvaradoa@ucacue.edu.ec</b>
<b>3 proyectos de Investigación desarrolladas en los últimos cinco años de mayor relevancia:</b>			
<b>Nombre proyecto1:</b>			
Institución:	Monto financiado	Fecha inicio:	Fecha finalización:
<b>Nombre proyecto2:</b>			
Institución:	Monto financiado	Fecha inicio:	Fecha finalización:
<b>Nombre proyecto 3:</b>			
Institución:	Monto financiado	Fecha inicio:	Fecha finalización:



**3 publicaciones con ISSN en los últimos 5 años de más alto nivel y cuartil de la revista:**

<b>Artículo 1:</b>			
Efecto del sexo, tamaño de camada y número de parto sobre los pesos al nacimiento y al destete de cobayos ( <i>cavia porcellus</i> ) del genotipo cieneguilla			
Revista:	Vol, Nro, fecha pub.	DOI:	Cuartil:
Revista Científica Facultad de Ciencias Veterinarias Universidad del Zulia	Vol. XXIX (1) Enero - febrero, 2019		Q4
<b>Artículo 2:</b>			
Revista:	Vol, Nro, fecha pub.	DOI:	Cuartil:
<b>Artículo 3:</b>			
Revista:	Vol, Nro, fecha pub.	DOI:	Cuartil:

**Libros y capítulos de libro en los últimos 5 años. 3 de más alto impacto y relevancia:**

<b>Título libro 1:</b>			
Editorial:	ISBN:	Fecha publicación:	Revisión de pares:
<b>Título libro 2:</b>			
Editorial:	ISBN:	Fecha publicación:	Revisión de pares:
<b>Título libro 3:</b>			
Editorial:	ISBN:	Fecha publicación:	Revisión de pares:



Función en el proyecto	<b>Colaborador 1</b>		
Nombres y apellidos:	Daniel Ernesto Argudo Garzón		
Cédula de Identidad o Pasaporte:	0104461165	Categoría en el Registro Nacional de Investigadores de la SENESCYT (opcional)	
Institución a la que pertenece:	<b>Universidad Católica de Cuenca</b>		
Unidad Académica / Facultad	Ciencias Agropecuarias	Carrera:	Medicina Veterinaria
Grado académico más alto y/o especialización	Magister en Reproducción Animal	Cargo actual:	Docente
Teléfonos:	0984537986	Correo Electrónico:	daniel.argudo@ucacue.edu.ec
<b>3 proyectos de Investigación desarrolladas en los últimos cinco años de mayor relevancia:</b>			
<b>Nombre proyecto1:</b>	Caracterización de biotécnicas reproductivas para conservación de gametos y embriones de bovino criollo, para establecer un banco de germoplasma		
Institución:	Monto financiado	Fecha inicio:	Fecha finalización:
Universidad de Cuenca	\$ 50 000	1 -Marzo - 2015	31 - Agosto - 2018
<b>Nombre proyecto2:</b>	Producción de embriones in vitro (PIV), con ovocitos obtenidos mediante OPU de vaquillas estimuladas con protocolos alternativos		
Institución:	Monto financiado	Fecha inicio:	Fecha finalización:
Universidad de Cuenca	-	1 - Marzo - 2018	28 - Febrero - 2019
<b>Nombre proyecto 3:</b>	Rol de la hormona antimülleriana para predecir la disponibilidad de folículos en vacas, que respondan a la superovulación y generen ovocitos o embriones competentes in vivo e in vitro		
Institución:	Monto financiado	Fecha inicio:	Fecha finalización:



Universidad de Cuenca	\$ 50 000	3 - Septiembre - 2019	2 - Septiembre - 2020
<b>3 publicaciones con ISSN en los últimos 5 años de más alto nivel y cuartil de la revista:</b>			
<b>Artículo 1:</b>			
Methods of collection, extender type, and freezability of semen collected from creole bulls raised in the tropical highlands of Ecuador			
Revista:	Vol, Nro, fecha pub.	DOI:	Cuartil:
Tropical Animal Health and Production	Septiembre 2019, Vol. 51 (7):1839-1845	<a href="https://doi.org/10.1007/s11250-019-01877-3">https://doi.org/10.1007/s11250-019-01877-3</a>	Q2
<b>Artículo 2:</b>			
Effect of storage temperatures of bull's epididymis on frozen-thawed sperm quality			
Revista:	Vol, Nro, fecha	DOI:	Cuartil:
Revista Científica de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad del Zulia	Diciembre 2018, Vol. 28(6):454-460	-	Q4
<b>Artículo 3:</b>			
Competence of the bovine oocyte obtained by ovum pick-up as evaluated by the bright cresyl blue test			
Revista:	Vol, Nro, fecha	DOI:	Cuartil:
Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú	Mayo 2018, Vol. 29(2):552-558	<a href="https://doi.org/10.15381/rivep.v29i2.13816">https://doi.org/10.15381/rivep.v29i2.13816</a>	Q4
<b>Libros y capítulos de libro en los últimos 5 años. 3 de más alto impacto y relevancia:</b>			
<b>Título libro 1:</b>			
Editorial:	ISBN:	Fecha publicación:	Revisión de pares:



<b>Título libro 2:</b>			
Editorial:	ISBN:	Fecha publicación:	Revisión de pares:
<b>Título libro 3:</b>			
Editorial:	ISBN:	Fecha publicación:	Revisión de pares:

Función en el proyecto	<b>Colaborador 2</b>		
Nombres y apellidos:	<b>Edy Paul Castillo Hidalgo</b>		
Cédula de Identidad o Pasaporte:	<b>1103208474</b>	Categoría en el Registro Nacional de Investigadores de la SENESCYT (opcional)	
Institución a la que pertenece:	<b>Universidad Católica de Cuenca</b>		
Unidad Académica / Facultad	<b>Ciencias Agropecuarias</b>	Carrera:	<b>Medicina Veterinaria</b>
Grado académico más alto y/o especialización	Magister en Clínica y Cirugía Canina	Cargo actual:	Director de Carrera
Teléfonos:	<b>0983242193</b>	Correo Electrónico:	<b>ecastilloh@ucacue.edu.ec</b>
<b>3 proyectos de Investigación desarrolladas en los últimos cinco años de mayor relevancia:</b>			
<b>Nombre proyecto1:</b>			
Institución:	Monto financiado	Fecha inicio:	Fecha finalización:



<b>Nombre proyecto2:</b>			
Institución:	Monto financiado	Fecha inicio:	Fecha finalización:
<b>Nombre proyecto 3:</b>			
Institución:	Monto financiado	Fecha inicio:	Fecha finalización:
<b>3 publicaciones con ISSN en los últimos 5 años de más alto nivel y cuartil de la revista:</b>			
<b>Artículo 1:</b>	Efecto del sexo, tamaño de camada y número de parto sobre los pesos al nacimiento y al destete de cobayos ( <i>cavia porcellus</i> ) del genotipo cieneguilla		
Revista:	Vol, Nro, fecha pub.	DOI:	Cuartil:
Revista Científica Facultad de Ciencias Veterinarias Universidad del Zulia	Vol. XXIX (1) Enero - febrero, 2019		Q4
<b>Artículo 2:</b>			
Revista:	Vol, Nro, fecha	DOI:	Cuartil:
<b>Artículo 3:</b>			
Revista:	Vol, Nro, fecha	DOI:	Cuartil:
<b>Libros y capítulos de libro en los últimos 5 años. 3 de más alto impacto y relevancia:</b>			
<b>Título libro 1:</b>			
Editorial:	ISBN:	Fecha publicación:	Revisión de pares:



<b>Título libro 2:</b>			
Editorial:	ISBN:	Fecha publicación:	Revisión de pares:
<b>Título libro 3:</b>			
Editorial:	ISBN:	Fecha publicación:	Revisión de pares:

Función en el proyecto	<b>Colaborador 3</b>		
Nombres y apellidos:	<b>Pablo Giovanni Rubio Arias</b>		
Cédula de Identidad o Pasaporte:	0102938107	Categoría en el Registro Nacional de Investigadores de la SENESCYT (opcional)	6041143039
Institución a la que pertenece:	Universidad Católica de Cuenca		
Unidad Académica / Facultad	Ciencias Agropecuarias	Carrera:	Medicina Veterinaria
Grado académico más alto y/o especialización	PhD en Ciencia Animal	Cargo actual:	Docente
Teléfonos:	0992512887	Correo Electrónico:	prubioa@ucacue.edu.ec

**3 proyectos de Investigación desarrolladas en los últimos cinco años de mayor relevancia:**

<b>Nombre proyecto1:</b>			
Institución:	Monto financiado	Fecha inicio:	Fecha finalización:



<b>Nombre proyecto2:</b>			
Institución:	Monto financiado	Fecha inicio:	Fecha finalización:
<b>Nombre proyecto 3:</b>			
Institución:	Monto financiado	Fecha inicio:	Fecha finalización:
<b>3 publicaciones con ISSN en los últimos 5 años de más alto nivel y cuartil de la revista:</b>			
<b>Artículo 1:</b>	Predicción de peso de carcasa a la edad de beneficio en cuyes del genotipo Cieneguilla con base a una síntesis de medidas corporales		
Revista:	Vol, Nro, fecha pub.	DOI:	Cuartil:
RIVEP	Vol.29; N°2; abril-junio 2018	<a href="http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v29i2.14476">http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v29i2.14476</a>	Q4
<b>Artículo 2:</b>	Efecto del sexo, tamaño de camada y número de parto sobre los pesos al nacimiento y al destete de cobayos ( <i>cavia porcellus</i> ) del genotipo cieneguilla		
Revista:	Vol, Nro, fecha	DOI:	Cuartil:
Revista Científica Facultad de Ciencias Veterinarias Universidad del Zulia	Vol. XXIX (1) Enero - febrero, 2019		Q4
<b>Artículo 3:</b>			
Revista:	Vol, Nro, fecha	DOI:	Cuartil:



Libros y capítulos de libro en los últimos 5 años. 3 de más alto impacto y relevancia:			
<b>Título libro 1:</b>			
Editorial:	ISBN:	Fecha publicación:	Revisión de pares:
<b>Título libro 2:</b>			
Editorial:	ISBN:	Fecha publicación:	Revisión de pares:
<b>Título libro 3:</b>			
Editorial:	ISBN:	Fecha publicación:	Revisión de pares:

### 3.3. ESTUDIANTES PARTICIPANTES EN EL PROYECTO

Determinar el detalle de estudiantes (cuáles y cuántas) que participarán directamente en las actividades del proyecto. (Añada tantas filas como sea necesario)

Nombres completos	Cédula de Identidad	Correo Electrónico	Función	Unidad Académica / Carrera
Idrovo Calle Dorian Fernando	0104608104	dfidrovoc04@est.ucacue.edu.ec	Tesista Estudiante 1	Ciencias Agropecuarias / Medicina Veterinaria
Narváez Lucero Karol Belén	0106354103	kbnarvaezl03@est.ucacue.edu.ec	Estudiante 2	Ciencias Agropecuarias / Medicina Veterinaria
Honores Raymond Víctor Hugo	0707080545	vhonoresr45@est.ucacue.edu.ec	Estudiante 3	Ciencias Agropecuarias / Medicina Veterinaria
Duran Romero Antonella Estefanía	0704937184	aeduranr84@est.ucacue.edu.ec	Estudiante 4	Ciencias Agropecuarias / Medicina Veterinaria



### 3.4. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO

Descripción Beneficiarios Directos	Cantidad Estimada
Docentes, investigadores de las carreras de Medicina Veterinaria y Medicina Veterinaria y Zootecnia	15
Estudiantes de las carreras de Medicina Veterinaria y Medicina Veterinaria y Zootecnia	350
Descripción Beneficiarios Directos	Cantidad Estimada

#### Estimar. Beneficiarios directos

La presente investigación tiene como beneficiarios directos docentes investigadores y estudiantes de la Unidad Académica de Ciencias Agropecuarias los cuales, podrán interactuar con los componentes teóricos y prácticos en el manejo de esta biotecnología reproductiva

#### Estimar. Beneficiarios indirectos

El presente trabajo tiene como beneficiarios indirectos a todos los profesores y estudiantes de las carreras de Medicina Veterinaria y Medicina Veterinaria y Zootecnia, de la Universidad Católica de Cuenca, ya que en base a los resultados obtenidos se van a abrir nuevas ventanas que permitirán seguir planteando investigaciones tendientes a mejorar los índices de producción animal.

De igual forma, otro de los beneficiarios indirectos será los productores ovinos de la región 6, con sus diferentes parroquias y comunidades, en las cuales se muestre interés en mejorar o implementar la producción ovina y caprina, mediante la realización de proyectos de Vinculación con la Comunidad, a través de los cuales se puede transferir este tipo de tecnología que permitirá mejorar la calidad de vida del productor y su familia.

## 4 DESCRIPCIÓN DE LA PROPUESTA

### 4.1. RESUMEN DEL PROYECTO

El objetivo de la investigación es evaluar la respuesta superovulatoria y viabilidad de embriones en ovejas sometidas a un tratamiento superovulatorio con una sola aplicación de FSH-p por vía epidural.

Se trabajará con ovinos de la raza Pelibuey, bajo los criterios de inclusión: Edad entre de 1 a 2 años. Condición corporal  $\geq 2.5$  y  $\leq 3.5$  en la escala de 1 a 5. Criterios de exclusión: No presentar trastorno metabólico y reproductivo.

Las ovejas serán sometidas a un protocolo de superovulación y divididas en dos grupos: 1.- Ovinos con protocolo de superovulación con 200mg de FSH-p por vía Epidural en una sola aplicación. 2.- Ovinos con protocolo de superovulación con 200 mg de FSH-p por vía intramuscular por 4 días consecutivos en dosis decrecientes.



Seis días post monta natural se verificará por medio de laparoscopia si las ovejas respondieron al tratamiento superovulatorio, se realizará la colecta por medio de laparotomía exploratoria procediendo a evaluar los embriones en el estereomicroscopio. Todos las mórulas y blastocitos de Grado 1,2 serán sometidos al proceso de Vitricificación para su almacenamiento en nitrógeno líquido. Para evaluar la criotolerancia se medirá la reexpansión y protrusión de embriones luego de calentados, serán colocados en medio de cultivo en una incubadora de CO<sub>2</sub> y se evaluara a las 2,24,48 horas. Para determinar su viabilidad posterior a la vitricificación se calentarán los embriones y serán sometidos a una tinción de fluorescencia diferencial y medir el número de células afectadas. De la misma manera se utilizará una tinción para evaluar la incidencia de apoptosis celular en embriones mediante la técnica de TUNEL.

#### 4.2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La ganadería ovina en el Ecuador viene de la época de la colonia, con la llegada de los españoles se criaban ovejas de la raza merino español, constituyéndose en la materia prima para la elaboración de textiles, con la conquista de la independencia, se produce una gran decreciente de la industria textil y los animales pasan a propietarios particulares e indígenas y son destinados a terrenos inhóspitos y páramos. Con la disminución del comercio de lana, los propietarios se descuidaron en mantener la raza del animal y poco a poco el merino español se convirtió en una raza criolla que aportaba mala calidad de lana y nula producción de carne. (Agronegocios, 2017).

En la provincia del Azuay en el año 2004 existía una población ovina de 155.057 animales y en 2013 que es el último censo agropecuario esta cifra desciende a 79.518 animales, lo que hace notar que en la provincia ha existido un descenso en el consumo de carne ovina. (SENPLADES, 2013).

Se puede indicar que existe un acelerado decrecimiento de la población ovina en nuestro sector, la falta de recursos económicos, el desconocimiento de biotecnologías y la inexistencia de protocolos estatales para la importación de semen y embriones ovinos y caprinos que originan una baja productividad en las explotaciones

Uno de los mayores problemas en una explotación de ovinos son los bajos porcentajes de fertilidad, un exceso de días abiertos, dificultad en la detección de celos lo que ha provocado ineficiencia reproductiva y pérdidas económicas importantes en la empresa ganadera.

En la actualidad las biotecnologías de la reproducción animal han tomado importancia en el campo de la producción de varias especies de animales de interés zootécnico, ya que se han constituido como una herramienta poderosa para la comercialización y reproducción de animales de alta genética. Una de las biotécnicas que mayor impacto ha tenido es la superovulación y transferencia de embriones ya que permite la reproducción de forma acelerada y con ello se ha logrado el mejoramiento genético de una manera vertiginosa.

La superovulación y transferencias de embriones en ovinos es una técnica que tiene más de 30 años de uso (Gibbons & Cueto, 2011), sin embargo, al igual que en los bovinos, la técnica sigue siendo compleja ya que para superovular una oveja es necesaria la aplicación diaria de hormona folículo estimulante (FSHp) con un régimen de 2 veces al día por al menos 3 o 4 días (Bo, Adams, Pierson, & Mapletoft, 1996). Esto provoca en los animales estrés y además consumo de mucho de tiempo del personal que aplica los tratamientos.

La razón por la que la hormona se debe aplicar dos veces al día por varios días es que la vida media biológica de la FSHp es muy corta, se ha reportado 5 horas o menos (Bo et al. 1994). Para lograr una respuesta superovulatoria efectiva (más de dos ovulaciones por animal, Palma, 2008) se deben mantener los niveles de FSH altos durante varios días y esto se logra aplicando el tratamiento con el esquema mencionado antes.

Por otra parte, varios trabajos han sido realizados con el objetivo de simplificar la superovulación; Dattena et al., (1994) usaron una sola inyección de FSHp diluida con polyvinylpyrrolidona como vehículo de



liberación lenta; Wu et al. (2011) disminuyeron el número de inyecciones; asimismo, se probó la combinación de FSH y eCG en una sola inyección (Simonetti et al. 2008). Controversialmente, aunque algunos de estos trabajos mostraron resultados efectivos, los mismos no han trascendido; el método superovulatorio tradicional (dos inyecciones diarias por cuatro días) sigue siendo el predilecto a pesar de sus complicaciones.

La falta de cultura de consumo de carne ovina en nuestro medio ha originado una baja oferta en los mercados locales y por consiguiente la producción va disminuyendo dejando a un lado las excelentes propiedades que posee el producto.

Sin embargo, cabe resaltar que la carne ovina y los subproductos (lana, cuero) son muy bien cotizados en otros países (entre ellos las islas del caribe), lo podría convertirse en una fuente de proteína para exportar.

#### **4.3. MARCO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE**

Uno de los mayores problemas en una explotación de ovinos son los bajos porcentajes de fertilidad y un exceso de días abiertos provocando ineficiencia reproductiva y pérdidas económicas importantes en la empresa ganadera.

La muerte embrionaria en ovinos es una de las causas relevantes en las fallas productivas de los hatos ganaderos, la gestación dura 150 días más o menos 2 días y está dividida en dos fases, Embrionaria y Fetal, la muerte embrionaria que suele ser superior va desde el día de la concepción hasta el día 35, se encuentran en una proporción del 15 al 30%, la muerte fetal entre los días 36 hasta el nacimiento, alcanzan porcentajes de un 5 al 7%. En algunos estudios se vio que la tasa de fertilidad en ovinos Pelibuey alcanzó un 80% en comparación con otras razas estacionales que alcanzan de un 50 a 66%. (González, Torres, & Arece, 2010).

La superovulación se asocia a la transferencia de embriones y fue denominado con el término MOET (múltiple ovulation and embryo transfer), el procedimiento consiste en realizar la aplicación de tratamientos hormonales para obtener una alta tasa ovulatoria de hembras donadoras para luego recuperar y transferir los embriones directamente o después de su conservación, y luego implantar los embriones a las receptoras que pueden ser de la misma especie, mediante este método se logra inducir una mayor tasa ovulatoria, con la administración de tratamientos hormonales (Simonetti, 2008).

En los ovinos el objetivo primordial al utilizar este protocolo, es obtener un número máximo de embriones transferibles con un alto porcentaje de preñez (Conde e Hinojosa, 2015).

En respuesta a estos tratamientos se encuentran involucrados algunos factores, entre ellos (Jiménez, 2009), señala los siguientes:

- Factores externos: estación, nutrición, manejo y calidad del semen,
- Factores fisiológicos: raza, especie, fertilidad, edad, dinámica y ondas foliculares.
- Factores farmacológicos: tipos de hormonas FSH, relación FSH/LH, dosis, frecuencia de administración y protocolo.

##### **4.3.1. Hormonas utilizadas en la Superovulación**

La superovulación es un método que se basa en la aplicación de FSH. El procedimiento debe realizarse al inicio de la fase folicular, en el periodo de regresión de la actividad del cuerpo lúteo. se ha justificado que los óvulos emitidos después de la inyección PMSG, en presencia de un cuerpo lúteo activo, cruzan el oviducto demasiado rápido ya que es posible encontrarlos en el útero solamente unas horas después de la ovulación (Alcázar y Porras, 2006).



#### 4.3.1.1. Hormona Folículo estimulante (FSH)

Son glicoproteínas producidas y liberadas en la hipófisis anterior, regulando la función ovárica (Conde e Hinojosa, 2015), esto favorece en el desarrollo y maduración de folículos y ovocitos, estimulando en el folículo la aparición de receptores de LH y a su vez estimula la síntesis y secreción de estrógenos (Chesne, Baril y Brebion, 1995).

La FSH tiene una vida media corta de 110 minutos (Pliego, 2015), por esta razón se requiere de varias aplicaciones para lograr su efecto y poder conservar un nivel continuo en la sangre que garantice la acción de esta sobre los folículos ováricos (Córdova, 2011).

El tratamiento con FSH es una opción para la ovulación múltiple, la presentación comercial es a partir de extractos de hipófisis de las especies ovina o porcina, por tanto, su relación FSH/LH puede variar (Forcada, 2010).

Es necesario administrar la hormona de 4 a 8 veces en un lapso de 12 horas, y la última aplicación tiene que coincidir 12 horas después de retirar la esponja. Se obtendrá mejores resultados si se aplica la hormona en dosis decreciente que, a dosis constantes, este protocolo también puede ir acompañado de una sola dosis de eCG (Gibbons y Cueto, 2013).

Entre las estrategias usadas para tratar de simplificar los protocolos de superovulación y disminuir el número de inyecciones están, la aplicación de la hormona por vía subcutánea (Alberio et al. 2002), el uso de vehículos de liberación lenta (Dattena et al. 1994) y en bovinos se ha estudiado aplicación de la hormona en una sola inyección por vía epidural (Tasdemir et al. 2012; Ochea et al. 2015; Sakaguchi et al. 2018) con resultados positivos en cuanto a respuesta superovulatoria y a número de embriones viables obtenidos, esta última modalidad no a sido probado en ovinos.

#### 4.3.2. Método de colecta de embriones en ovinos

##### 4.3.2.1. Por laparotomía

La técnica que más se utiliza para la colecta de embriones es la quirúrgica la cual consiste en realizar una laparotomía media, para comprobar la respuesta ovulatoria mediante el conteo de cuerpos lúteos (Arroyo, 2011) (Gibbons y Cueto, 2013).

Este método consiste en exponer los cuernos uterinos y mediante una sonda Folley generar una corriente de arrastre conocida como lavado o flushing con un medio adecuado, posterior a esto se procede a colectar los embriones en una caja petri previamente esterilizada, se puede utilizar un medio comercial en base a PBS (Solución Buffer Fosfato), adicionando un 10% de suero adulto bovino, ovino o caprino inactivado, de forma aséptica y con materiales esterilizados se recolecta la sangre un animal para obtener el suero (Bari, Khalidb y Haresign, 2003).

El proceso consiste en centrifugar el suero a 2000g por 15 minutos, después se toma el sobrenadante de la muestra para realizar una segunda centrifugación, se filtra por una membrana de 0.22  $\mu$ m, la inactivación de la proteína inactivada se realiza en un baño María a una temperatura de 56 °C por 30 minutos (Caraty, 2002).

##### 4.3.2.2. Por laparoscopia

Son procedimientos poco experimentados por lo que se requieren de un profesional que maneje bien esta técnica (Gibbons y Cueto, 2013). Para un buen manejo de los embriones es necesario utilizar medios e insumos no tóxicos y estériles (Phillips y Jahnke, 2016).

La técnica por laparoscópica fue desarrollada por Mc Kelvey en 1986 en ovinos, y consiste en realizar tres perforaciones en la cavidad abdominal utilizando trocares; la primera perforación permite ingresar el laparoscopio, la segunda sirve para entrada y salida del PBS e insuflación del balón, utilizando una sonda de tres vías, y en la tercera permite manipular el tracto reproductivo con una pinza no traumática, con el objeto de fijar la unión útero ovárica durante el flujo del PBS (Caraty y Skinner, 1999).

Se debe aclarar que durante el proceso es necesario poseer excelente entrenamiento, su costo es elevado; sin embargo, esta técnica tiene baja eficiencia durante la recuperación embrionaria (60%) debido a que los coágulos o mucus obstruyen la sonda (Buxadé, 1996).

#### 4.3.3. Clasificación de embriones

La clasificación embrionaria es de acuerdo a sus características morfológicas, mismas que pueden ser observadas al estereoscopio con lente de 10 a 40 aumentos; se debe utilizar pipetas de vidrio que permitan manipularlos y agruparlos con el afán de ser observados, visualizando en ellos que la membrana pelúcida se encuentre íntegra y esférica; así mismo se debe verificar que el desarrollo del embrión esté acorde al día de la colecta, tolerando como máximo 24 horas de retraso.; las células deben tener el contorno regular y ser claras, ya que la opacidad es un signo de degeneración (Gibbons y Cueto, 2013).

Uno de los sistemas de clasificación de embriones más utilizado consiste en cuatro grados. Grado 1: embrión casi perfecto con más del 98% de la masa celular activa y saludable. Grado 2: el 70 a 98% de la masa celular es activa y saludable; pueden observarse algunos blastómeros extruidos. Grado 3: embriones de baja calidad, muestran menos del 70% de la masa celular activa y saludable; varios blastómeros se presentan extruidos. Grado 4: embriones degenerados, la mayoría de las membranas presentan ruptura (Flores, 1992). (Salder, 2012), finalmente refiere que la edad del embrión se establece a partir del mismo día del estro.

#### 4.3.4. Congelación de embriones

La aplicación de la Transferencia de embriones requiere de una técnica que es la conservación de los mismos, esto puede ser por congelación lenta o rápida con la finalidad de mantener el material genético por lapsos indefinidos de tiempo, para esto se necesitan de agentes crioprotectores para evitar el daño en la célula por congelación, por lo general estas sustancias suelen ser tóxicas, lo que hace imprescindible retirar este agente luego de su descongelación, hace muchos años se ha utilizado sacarosa, esta macromolécula impide que por una fuerza osmótica pase agua a través de la membrana celular, imposibilitando que el embrión aumente de volumen tras el paso del crioprotector por la membrana y así evitando que el embrión se reviente (García y col, 2003).

Dentro de las técnicas de congelación rápida, la vitrificación es una biotecnología que se debe como principio físico a la solidificación de una solución a bajas temperaturas sin que llegue a cristalizar debido a un elevado aumento de viscosidad, manteniendo la distribución molecular e iónica que existe antes de la congelación. Se eleva el porcentaje de crioprotectores hasta un 50% para que el momento que pase de estado líquido a sólido se forme una trama vítrea que impida la formación de cristales de hielo (Abecia y Col, 2010).

#### 4.3.5. Evaluación de embriones criopreservados

Con el fin de establecer el éxito de la vitrificación de los embriones es necesario que sean sometidos a distintas pruebas en las que se utilizan coloraciones para determinar el número total de células, así como aquellas que han sufrido daño en su membrana plasmática y la detección de células embrionarias apoptóticas.

##### 4.3.5.1. Evaluación de cultivo in vitro de embriones

Una manera efectiva de valorar la criotolerancia de los embriones una vez realizado el calentamiento (proceso inverso a la vitrificación), es ponerlos en cultivo in vitro y hacer evaluaciones de cada cierto tiempo (2, 24 y 48 horas). Estas valoraciones consisten en determinar su reexpansión, es decir, su capacidad de tomar su forma original, ya que el proceso de vitrificación los contrae por deshidratación. El otro parámetro que se evalúa es la progresión de su desarrollo; la capacidad de estos para avanzar del estado en el que fueron vitrificados al siguiente hasta su protrusión (Vajta et al., 1999).



#### 4.3.5.2. Tinción diferencial fluorescente

Esta prueba consiste en exponer a los embriones a dos fluorocromos como son el Ioduro de Propidio (IP) y la Bis Bienzimida (Hoechst). En el caso de IP penetra solo las células que tienen daño en la membrana plasmática marcando en color rojo; el Hoechst tiñe toda las células embrionarias en color azul independientemente si tienen daño o no. De esta manera se puede contabilizar el número total de células que tiene el embrión y cuantas de ellas se dañaron por el proceso de criopreservación (Kaidi et al., 1999).

#### 4.3.5.3. TUNEL

La apoptosis celular o muerte programa de células en los embriones se determina por la técnica de TUNEL que sus siglas en inglés se traducen en método de etiquetado de extremo de muesca dUTP mediado por desoxinucleotidil transferasa (TdT) terminal. Ésta determina la incidencia de células que mueren de forma normal, cuya base es la detección de células embrionarias con ADN fragmentado o roto (Brisson & Schultz, 1997).

#### 4.4. PALABRAS CLAVE

Superovulación, cuerpo lúteo, calidad embrionaria, protocolo, tratamiento.

#### 4.5. HIPÓTESIS O PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

La aplicación de una sola dosis 200mg FSH-p vía epidural mejora la tasa de superovulación y calidad de embriones frente a la aplicación de 200mg de FSH-p vía intramuscular en dosis decrecientes.

#### 4.6. DESCRIPCIÓN METODOLÓGICA

##### 4.6.1. Variables e indicadores

##### 4.6.1.1. Variable Dependiente

- Superovulación
- Grado y calidad Embrionaria
- Criotolerancia de embriones
- Viabilidad de embriones Vitificados/calentados

##### 4.6.2.2. Variable Independiente

- FSH-p epidural

##### 4.6.2.3. Operacionalidad de las variables

VARIABLE	INDICADOR
Superovulación	Número de Cuerpos lúteos
Grado y calidad Embrionaria	Tipología de embriones
Criotolerancia de embriones	Reexpansion y protrusión de embriones
Viabilidad Embrionaria	Tinción de fluorescencia diferencial. Tinción de kit de detección de apoptosis celular



#### 4.6.2. Criterios de inclusión

Se utilizarán ovinos, bajo los siguientes criterios de inclusión:

- Edad entre de 1 a 2 años.
- Condición corporal  $\geq 2.5$  y  $\leq 3.5$  en la escala de 1 a 5.

#### 4.6.3. Criterios de exclusión

- Ovinos con trastorno metabólico y reproductivo.

#### 4.6.4. Ubicación del experimento

El estudio se realizará en la Granja de la Unidad Académica de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Católica de Cuenca, ubicada en la parroquia Machángara, cantón Cuenca, provincia del Azuay, con una temperatura promedio anual de 11.8°C, precipitación de 512 mm al año y una altitud de 2560 msnm. Coordenadas: 2°52'55" S 78°57'31"W

#### 4.6.5. Características de las ovejas para la investigación

Previo al inicio de la investigación se procederá a monitorear ecográficamente a todas las ovejas, tanto donadoras como receptoras, a fin de constatar la existencia o no de patologías reproductivas, así como una rigurosa exploración clínica que nos permita descartar la presencia de trastornos metabólicos; de la misma manera se evaluarán los cuernos uterinos con el fin de diagnosticar posibles patologías preexistentes (metritis, piómetra) en estos órganos al igual que el cérvix, para descartar traumatismos producidos en el parto.

#### 4.6.6. Manejo de la dieta de los animales

El manejo y alimentación será similar para todos los animales, el cual consiste en pastoreo libre en potreros de Raygrass, Kikuyo, adicionando un alimento balanceado.

#### 4.6.7. Tratamientos

Las ovejas serán sometidas a un protocolo de superovulación y divididas en dos grupos:  
1.- Ovinos con protocolo de superovulación con 200mg de FSH-p por vía Epidural en una sola dosis  
2.- Ovinos con protocolo de superovulación con 200 mg de FSH porcina por vía intramuscular por 4 días en dosis decrecientes.

#### 4.6.8. Diseño Experimental.

En la presente investigación tendremos dos tratamientos. Ovejas sometidas a superovulación con una sola dosis de FSH-p vía Epidural. (T1). Será comparado con ovejas sometidas a superovulación con dosis decrecientes de FSH-p vía intramuscular (T0 testigo). Una vez realizado el tratamiento superovulatorio a los 21 días por laparoscopia se determinará la respuesta superovulatoria de cada tratamiento de acuerdo al número de cuerpos lúteos existentes. Utilizando la técnica quirúrgica de laparotomía exploratoria se expone los cuernos uterinos, se procederá al lavado uterino por arrastre con un medio Flush mas PBS y una sonda Folley. Una vez colectado los embriones se realiza su clasificación bajo las normas IETS para su manipulación, clasificación con ayuda de un estereoscopio. Todos las mórulas y blastocitos de Grado 1,2 serán sometidos al proceso de Vitricación para su almacenamiento en nitrógeno líquido. Para medir la criotolerancia se medirá la reexpansión y protrusión de embriones luego de calentados, serán colocados en medio de cultivo en una incubadora



de CO<sub>2</sub> y se evaluará a las 2,24,48. Para medir su viabilidad posterior a la vitrificación se calentarán los embriones y serán sometidos a una tinción de fluorescencia diferencial (Biz Benzimida / Yoduro de Propidio) para medir el número de células afectadas. De la misma manera se utilizará una tinción para evaluar la incidencia de apoptosis celular en embriones mediante la técnica de TUNEL (cell death detección Kit).

El tipo estudio a aplicarse corresponde a la Investigación de tipo explicativo, utilizando el método experimental. Para la distribución de las unidades experimentales se empleará el Diseño Completamente al Azar (DCA) con dos tratamientos, 10 repeticiones por tratamiento. Se evaluará el intervalo de confianza de los datos para descartar cualquier observación no fiable. El análisis estadístico de la respuesta superovulatoria y viabilidad de embriones se realizará mediante un análisis de varianza (ADEVA) de las distintas variables en estudio. De acuerdo a los resultados se utilizará estadística descriptiva para detallar los mismos. El grado de relación entre las variables de estudio se realizará mediante una correlación de Pearson.

**4.6.9. Unidad Experimental.** Para la superovulación se va a trabajar con 20 animales a los cuales se los va a dividir en dos tratamientos y se tomará a cada embrión como una Unidad Experimental.

#### 4.7. OBJETIVOS

##### 4.7.1. GENERAL

- Evaluar el efecto de FSH-p por vía epidural e intramuscular sobre el porcentaje de superovulación y viabilidad de embriones en ovejas.

##### 4.7.2. ESPECÍFICOS

- Medir la respuesta superovulatoria y porcentaje de recuperación embrionaria en ovejas donadoras.
- Determinar el grado de desarrollo y calidad embrionaria de acuerdo a su clasificación morfológica.
- Evaluar la criotolerancia de embriones luego de la vitrificación
- Valorar la viabilidad y la apoptosis en embriones vitrificados.

#### 4.8. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

La ganadería ovina en nuestro país ha establecido un medio de vida e ingresos para diferentes familias e instituciones, dentro de las especies animales de interés zootécnico, la explotación de estos animales es una actividad que está distribuida por todo el mundo, debemos destacar que en el Ecuador la crianza ovina desde años atrás ha permitido beneficios a la sociedad a través de sus diferentes productos, tales como: carne y lana de excelente calidad (Galora, 2006).

Debido a su relativa facilidad de manejo, el ovino ha sido utilizado como modelo para estudio y desarrollo de una serie de tecnologías reproductivas en el área de rumiantes, muchas de estas tecnologías, sin embargo, aun cuando inicialmente fueron desarrolladas en estos animales, no han sido utilizadas comercialmente en las ovejas con la misma intensidad en que se han aplicado en especies mayores, principalmente en el bovino (Gonzales, 2017).

En la actualidad la tecnología en el campo de esta especie progresa, a tal grado que se permite la sincronización de celo e inseminación artificial en ovejas destinadas para reproductoras, dejando de lado la presencia del macho celador en el rebaño, también la aplicación de tratamientos hormonales para realizar protocolos de superovulación en ovejas donadoras y protocolos de transferencia de embriones en ovejas receptoras, esto con el fin de conservar animales de alto valor genético (Córdova y Salinas, 2011).



#### 4.9. RESULTADOS ESPERADOS

Al realizar esta investigación se contará con un banco Zoo genético a disposición de la: comunidad científica, ganaderos e instituciones de apoyo al desarrolla pecuario.

Otro factor preponderante para la elaboración de esta investigación es la falta de conocimiento sobre las principales biotecnologías en la reproducción de ovinos en el sector sur del país, por lo cual se pretende promover esta práctica pecuaria e incentivar a los pequeños y medianos productores a establecer estas explotaciones ya que la carne ovina aporta excelente fuente de nutrientes.

El gran impacto que generara sin lugar a duda es que la Unidad Académica de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Católica de Cuenca, aborde temas que ayude a dar solución a problemas de la sociedad y particularmente de los pequeños productores que son los que más requieren de estas alternativas para mejorar su producción animal y a su vez su calidad de vida.

Se pretende al término de la investigación, realizar la publicación en alguna revista científica a nivel Nacional o Internacional, con la finalidad de que los resultados sirvan como base para crear nuevas investigaciones.

#### 4.10. ASPECTOS BIOÉTICOS Y SOCIALES

El incremento de la población humana en el mundo requiere mayor consumo de alimentos lo que ha llevado a una intensificación de la producción, restringiendo algunas libertades de los animales que impiden que vivan de acuerdo a su naturalidad. Sumado esto a que en la actualidad los consumidores exigen un buen trato a los animales ya que de esto depende que los productos que se obtienen sean de buena calidad.

En los animales de granja el estudio de su comportamiento nos permite identificar qué procesos de manejo pueden resultar más ventajosos desde el punto de vista productivo y hasta qué punto puede ser beneficioso tanto para el animal como para el hombre un cambio en dichos procesos. Para manejar correcta y productivamente los animales son necesarios los conocimientos sobre el comportamiento de los mismos; esta información permite también capacitar al personal, ya que se aprende más fácil cuando se puede fundamentar el porqué de las cosas de una u otra forma. La misma información del comportamiento animal ha sido relevante para fundamentar el diseño más apropiado de las estructuras en las que se alojan y se manejan los animales.

A los indicadores de bienestar animal ya mencionados, se suman otros indicadores directamente medibles en los animales, como los de tipo productivo (número de crías año, kg de ganancia de peso, de carne, leche u otros producidos). Cuando el bienestar animal es muy pobre, se pueden incluso encontrar alteraciones en la calidad del producto. En los animales productores de carne, por ejemplo, el maltrato en el manejo previo a su sacrificio se refleja en lesiones corporales y cambios bioquímicos que afectan negativamente la calidad de la carne.

En consecuencia, en la presente investigación, se procederá a generar una estrategia de biotecnología reproductiva, con el fin de conservar las cualidades genéticamente superiores de hembras ovinas, las mismas que se pueden perennizar en los hatos con miras productivas y de transferencia de tecnología, sin embargo cabe mencionar que todos las técnicas utilizadas en estos protocolos son confiables, dado que las mismas se vienen ejecutando de manera continua en el campo pecuario sin producir ningún tipo de daño ni físico, ni fisiológico, permitiendo que el animal en un periodo determinado de tiempo recupere su estado reproductivo natural.



## **5. IMPACTO DEL PROYECTO**

---

### **5.1. IMPACTO LEGAL, SOCIAL, TÉCNICO Y/O ECONÓMICO**

El gran impacto que generara sin lugar a duda es que la Unidad Académica de Ciencias Agropecuarias, aborde temas que ayude a dar solución a problemas de la sociedad y particularmente de los pequeños productores que son los que más requieren de estas alternativas para mejorar su producción animal y a su vez su calidad de vida.

Otro impacto de relevancia de la presente investigación constituye la disponibilidad de equipamiento que contribuirá en el proceso de enseñanza aprendizaje de nuestros estudiantes y comunidades interesadas en incorporar este tipo biotecnología en sus hatos ganaderos

Con la creación de un banco zoo-genético podremos almacenar embriones por un periodo de tiempo indeterminado, constituyéndonos en la Primera Institución Educativa en contar con este recurso en el austro ecuatoriano, para el desarrollo de la producción ovina.

### **5.2. IMPACTO AMBIENTAL**

Este proyecto no generara Impacto Ambiental Negativo ya que los animales son manejados en un sistema semiestabulado, el mismo que nos permite hacer recolección de deyecciones y excretas las cuales serán tratadas bajo técnicas de descomposición sin generación de olores, sin que en ningún momento tengan contacto con fuentes hídricas, convirtiéndolas en un abono de excelente calidad para luego ser incluidas en las pasturas.

### **5.3. RIESGOS DEL PROYECTO**

La Unidad Académica de Ciencias Agropecuarias cuenta con instalaciones adecuadas para el manejo y control de las ovejas que estarán implicadas en el estudio, no obstante, un riesgo difícil de controlar serían los factores ambientales e incluso desastres naturales que podrían afectar parcial o totalmente las instalaciones y la vida y salud de los animales en estudio.

Otro de los riesgos es la presencia de patologías reproductivas en las ovejas a ser superovuladas, sin embargo, al a realizar el monitoreo ecográfico, este riesgo se disminuye, ya que esto nos permite determinar su incidencia y descartar a los animales que presenten este tipo de anomalía.

Uno de los factores de riesgo más preponderantes seria la falta de recursos económicos en el transcurso de la investigación que impidan dar una efectiva continuidad al proyecto, con lo cual se verían seriamente comprometidos los objetivos planteados.

### **5.4. PLAN DE SOSTENIBILIDAD**

La presente investigación lo que trata es de generar biotecnologías al alcance del productor tanto en su costo como en el manejo, teniendo en cuenta que esta práctica nos permite conservar embriones por un lapso indeterminado de tiempo y al obtener resultados positivos y al divulgar los mismos generaremos sostenibilidad del proyecto



## 6. DIFUSIÓN DE RESULTADOS

### 6.1. EFECTOS MULTIPLICADORES

- Generación de nuevas investigaciones en temas relacionados ya directamente con el manejo de la reproducción animal.
- Desarrollar nuevas Biotecnologías de bajo costo y con mayor rentabilidad.
- Servirá para la formación Académica de alumnos de pre y posgrado de la Unidad Académica.
- El equipamiento adquirido servirá en lo posterior para realizar cursos de inseminación y superovulación y transferencia de embriones ovinos y caprinos.

### 6.2. TRANSFERENCIA DE RESULTADOS

Al término de la investigación, los resultados obtenidos serán puestos a consideración de las Autoridades de la Universidad para que sean analizados previamente con el fin de salvaguardar los derechos de propiedad intelectual, y los resultados serán publicados en una revista científica indexada.

El presente proyecto también contribuye con un avance tecnológico, el mismo que culminado va a ser socializado con estudiantes, profesionales y productores locales mediante cursos o seminarios en inseminación artificial, superovulación y transferencia de embriones en rumiantes menores.

Se pondrá a disposición de entidades gubernamentales locales con los cuales existen convenios para mediante ellos crear programas de Vinculación con la Sociedad y así poner a disposición de los pequeños ganaderos el uso de esta biotecnología reproductiva.

Publicaciones con ISSN planificadas en la propuesta				
Cantidad	Nombre de la revista	Base de datos*	País	Cuartil

*\*La base de datos debe ser reconocida por el ente evaluador CACES*

Publicaciones Libro o Capítulo de Libro planificadas		
Cantidad	Libro / capítulo de libro	Editorial



## 7. PLANIFICACIÓN Y FINANCIAMIENTO

---

### 7.1. FACILIDADES DE TRABAJO

La Unidad Académica de Ciencias Agropecuarias, brindará las facilidades logísticas, administrativas y económicas al personal docente que participará del proyecto.

La Unidad Académica para la realización del proyecto cuenta con las instalaciones respectivas para el manejo de estos animales con el confort y sanidad necesarias para no alterar sus condiciones de desempeño a los tratamientos hormonales requeridos en su momento.

Mediante el Departamento de Investigación como uno de los ejes fundamentales de la Universidad Católica de Cuenca, nos facilitaran de los recursos económicos para el desarrollo del presente proyecto

El personal considerado como director y codirector del proyecto deben contar con días disponibles para realizar los trabajos de campo en el sitio del proyecto, a los cuales se debe anexar en calidad de colaboradores a cuatro estudiantes de las carreras de Veterinaria que tendrán el espacio de participar en el proyecto.

El proyecto se tiene previsto ejecutarlo en un lapso de tiempo de 12 meses, contados a partir de la aprobación y entrega de requerimientos del mismo por parte del Comité de Evaluación y Selección.

El personal asignado al proyecto debe disponer del tiempo necesario para realizar el trabajo de campo, el mismo que se lo desarrollará incluso algunos fines de semana (viernes, sábado y domingo) con el fin de no entorpecer las actividades académicas tanto docentes como estudiantiles.



**7.2. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES (Anexo I)**

Anexo I: CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES Y RESPONSABILIDADES.

<b>ANEXO I</b>	<b>CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES Y RESPONSABILIDADES</b>
----------------	--

No.	ACTIVIDADES	MESES												INVESTIGADOR / EQUIPO DE INVESTIGACIÓN	DESCRIPCIÓN PRECISA DEL APORTE		
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12				
	Objetivo Específico 1 • Medir la respuesta superovulatoria y porcentaje de recuperación embrionaria en ovejas donadoras.																
1	Actividad 1.1 Elaboración de esponjas intravaginales de progesterona	X	X													Ing. Juan Carlos Alvarado /Estudiante 1,2,3,4	Elaboración de esponjas intravaginales impregnadas con medroxiprogesterona
2	Actividad 1.2 Establecer dos protocolos de superovulación para ovejas donantes			X	X	X	X	X	X							Ing. Juan Carlos Alvarado / Dr. Daniel Argudo / Estudiante 1,2,3,4	Elaborar dos protocolos de superovulación para cada tratamiento con la utilización de FSH-p en dosis decreciente y en una sola dosis para la aplicación epidural
3	Actividad 1.3 Establecer técnica de aplicación de hormonas por vía epidural			X	X	X	X	X	X							Dr. Edy Castillo / Dr. Pablo Rubio /Estudiante 1	Establecer una técnica no quirúrgica para la aplicación de FSH-p por vía epidural







Objetivo Específico 4 • Valorar la viabilidad y la apoptosis en embriones vitrificados.																
1	Actividad 4.1. Viabilidad de embriones vitrificados/calentados											X	X	Ing. Juan Carlos Alvarado / Dr Daniel Argudo	Cuantificar el número de células afectadas por la criopreservación a través de la tinción de fluorescencia diferenciada	
2	Actividad 4.2. Medir apoptosis de embriones vitrificados/ calentados											X	X	Ing. Juan Carlos Alvarado / Dr Daniel Argudo	Evaluar la incidencia de apoptosis celular en embriones mediante la técnica TUNEL	
3	Actividad 4.3. Difusión de resultados											X	X	X	Ing. Juan Carlos Alvarado / Dr Daniel Argudo Dr. Edy Castillo / Dr Pablo Rubio /Estudiantes 1,2,3,4	Difusión de resultados al Departamento de investigación para su posterior publicación



**PRESUPUESTO Y PROGRAMACIÓN FINANCIERA (Anexo II)**

**Anexo II 1: DETALLE DE PRESUPUESTO.**

**ANEXO II**

**1. DETALLE DE PRESUPUESTO**

**1. TALENTO HUMANO**

*Gastos en personal Técnico a contratar, los cuales prestarán sus servicios profesionales para el cumplimiento de actividades específicas en el Proyecto (No incluir al Director, colaboradores ni estudiantes participantes indicados en la propuesta de investigación). Añadir las filas que sean necesarias.*

No.	NOMBRE	FUNCIÓN	HORAS / SEMANA	COSTO MENSUAL	COSTO ANUAL
1	Nombre: Grado Académico: Especialización técnica:				
2	Nombre: Grado Académico: Especialización técnica:				
<b>SUBTOTAL</b>			<b>0</b>	<b>\$ -</b>	<b>\$ -</b>

**2. VIAJES**

*Gastos para cubrir la movilización y traslado (Viáticos, Subsistencias, pasajes al interior del País) del personal técnico asignado y determinado para el proyecto, de conformidad con las disposiciones legales vigentes.*

No.	ACTIVIDAD	NOMBRE DE LAS PERSONAS	DURACIÓN(DÍAS)	LUGAR	COSTO (USD)
1					
2					
<b>SUBTOTAL</b>					<b>\$ -</b>

**3. CAPACITACIONES**

*Gastos necesarios para la capacitación en el campo de la investigación vinculada al proyecto. En esta parte debe indicarse la clase de capacitación como los cursos, seminarios, talleres, pasantías que son parte del proyecto. Añadir las filas que sean necesarias.*

No.	CAPACITACIÓN	NOMBRES DE LOS ASISTENTES	DURACIÓN	LUGAR	COSTO (USD)
1	Nombre: Tipo:				
2	Nombre: Tipo:				
<b>SUBTOTAL</b>					<b>\$ -</b>



#### 4. EQUIPOS Y SOFTWARE

Gastos necesarios en la adquisición de Equipos (Equipos: de Laboratorio; para construcción de prototipos de equipos y maquinarias; componentes para construcción de planta piloto; de desarrollo experimental; Maquinaria o componentes para mejoras en tecnología de procesos) indispensables y esenciales para el desarrollo y consecución de los objetivos del proyecto. Describir las características técnicas fundamentales de los equipos estrictamente necesarios para ejecutar las actividades del proyecto y su precio. No debe existir duplicación de equipos existentes. Añadir las filas que sean necesarias.

No .	EQUIPOS - SOFTWARE	DESCRIPCION	CANTIDA D	PRECIO (USD)
1	Estereomicroscopio	Estereomicroscopio Binocular modelo SMZ800 con zoom de 80 aumentos, base de contraste oblicuo ( luz diascopica)	1	4700,00
2	Filtro de fluorecencia	Cubo de fluorecencia para HOECHST BX51	1	1860,00
3	Filtro de fluorecencia	Cubo de fluorecencia para Texas Red para BX51	1	2200,00
4	Sonda transrectal	Sonda transrectal para ecografo CHISON	1	1570,00
5	Pipeta automatica	Pipeta automatica de 0,2 a 10 microlitros	1	150,00
6	Pipeta automatica	Pipeta automatica de 20 a 200 microlitros	1	150,00
7	Pipeta automatica	Pipeta automatica de 100 a 1000 microlitros	1	150,00
8	Pistola para inseminación laparoscopica	Pistola o trancapacidad ovina para sostener las pajuelas para una aplicación precisa de la dosis seminal durante la inseminación y transferencia de embriones por laparoscopia	1	800,00
9	Termo de nitrogeno liquido	Termo de nitrógeno líquido para crioconservar embriones	1	700,00
<b>SUBTOTAL</b>				<b>12280,00</b>

#### 5. RECURSOS BIBLIOGRÁFICOS

Gastos necesarios en la adquisición de Bibliografía especializada, software y licencias de uso considerados como indispensables y esencial para el desarrollo y consecución de los objetivos del proyecto. Señalar los Libros especializados, Publicaciones periódicas y software necesarios para la ejecución del proyecto, indique sus respectivos precios Añadir las filas que sean necesarias.

No .	LIBROS / REVISTAS / BASES DE DATOS	DESCRIPCIÓN	CANTIDA D	PRECIO (USD)
1				
2				
<b>SUBTOTAL</b>				<b>\$</b>



## 6. MATERIALES Y SUMINISTROS

*Gastos necesarios en la adquisición de Bienes de Uso y Consumo (Materiales de vidrio para laboratorio, Reactivos Químicos e insumos, Suministros para actividades acordes al objeto del proyecto) considerados como indispensables para el desarrollo y consecución de los objetivos del proyecto. Añadir las filas que sean necesarias.*

No.	MATERIAL / SUMINISTRO	CANTIDAD	PRECIO (USD)
1	Folltropin	15	3750,00
2	Novormon (EcG)	2	180,00
3	Aspics para inseminación y transferencia de embriones ovinos y caprinos	2	120,00
4	Medroxiprogesterona	8	144,00
5	Hilo de sutura Vicril 2-0	40	80,00
6	Tubos falcon de 15ml	100	20,00
7	Puntas de pipeta azul	1000	20,00
8	Puntas de pipeta blanca	1000	20,00
9	Puntas de pipetas amarillas	1000	20,00
10	Cell death detection kit (Tunel)	1	1200,00
11	Etilenglicol	1	120,00
12	Sucrosa	1	90,00
13	Pajuelas Ovino	20	400,00
14	Semovientes (ovejas hembra Pelibuey)	10	1300,00
<b>SUBTOTAL</b>			<b>\$ 7.464,00</b>



### 7. TRANSFERENCIA Y DIFUSIÓN DE RESULTADOS

Gastos necesarios para la adquisición de Bienes de Uso y Servicios (difusión de resultados por medio de publicaciones de alto impacto de los resultados alcanzados en el proyecto). Añadir las filas que sean necesarias.

No.	NOMBRE DE LA REVISTA	BASE DE DATOS	CUARTIL	PRECIO (USD)
1				
2				
<b>SUBTOTAL</b>				\$

### 8. SUBCONTRATOS Y SERVICIOS

Gastos necesarios para cubrir servicios de Investigación y Exámenes Profesionales (Análisis clínicos, químicos, físicos, biológicos), Pruebas Especializadas, Asesoría Especializada (Consultorías), estudio y diseño especializado, Servicios especializados para la capacitación y adiestramiento al personal participante en el proyecto, servicios de Apoyo no especializado Temporal (Jornaleros), considerados como indispensables y esencial para el desarrollo y consecución de los objetivos del proyecto. Añadir las filas que sean necesarias.

No.	ACTIVIDAD	DESCRIPCIÓN	TIPO	PRECIO (USD)
1	Mantenimiento de Microscopio de fluorescencia			250
2				
<b>SUBTOTAL</b>				\$ 250

### 9. OTRO TIPO DE GASTOS

Añadir las filas que sean necesarias.

No.	ACTIVIDAD	DESCRIPCIÓN	PRECIO (USD)
1			
2			
<b>SUBTOTAL</b>			\$



Anexo II 2: PRESUPUESTO CONDENSADO.

<b>ANEXO II</b>	<b>2. PRESUPUESTO CONDENSADO</b>
-----------------	----------------------------------

N o	ACTIVIDADES	PROGRAMACION DE INVERSIÓN PRESUPUESTARIA											TOTAL CALCULAD O	TOTAL DETALLE			
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	1 0	1 1			1 2		
1	Remuneración talento humano																
2	Viajes Técnicos																
3	Capacitaciones																
4	Equipos y Software		12.280													12.280,00	12.280,00
5	Recursos Bibliográficos																
6	Materiales y Suministros	7.464														7.464,00	7.464,00
7	Transferencia de resultados																
8	Subcontratos y servicios			250												250,00	250,00
9	Otro tipo de gastos																
<b>TOTALES</b>		<b>\$ 7.464</b>	<b>\$ 12.280</b>	<b>\$ 250</b>												<b>19.994,00</b>	<b>19.994,00</b>



Anexo II 3: PRESUPUESTO POR FUENTES DE FINANCIAMIENTO.

<b>ANEXO II</b>	<b>3. PRESUPUESTO POR FUENTE DE FINANCIAMIENTO</b>
-----------------	--

No	RUBROS	APORTE UCACUE	APORTE EXTERNO	TOTAL PRESUPUESTO
		PRESUPUESTO (\$)	PRESUPUESTO (\$)	
1	Remuneración talento humano			
2	Viajes Técnicos			
3	Capacitaciones			
4	Equipos y Software	\$ 12.280,00		\$ 12.280,00
5	Recursos Bibliográficos			
6	Materiales y Suministros	\$ 7.464,00		\$ 7.464,00
7	Transferencia de resultados			
8	Subcontratos y servicios	\$ 250,00		\$ 250,00
9	Otro tipo de gastos			
<b>Total</b>		\$ 19.994,00		\$ 19.994,00
<b>Porcentajes</b>				



## 8. BIBLIOGRAFÍA Y REFERENCIAS CIENTÍFICAS CITADAS

---

Alberio, R., Olivera, J., Roche, A., Alabart, J., & Folch, J. (2002). Performance of a modified ovum pick-up system using three different FSH stimulation protocols in ewes. *Small Ruminant Research*, 46(2-3), 81-87.

Arroyo, J. (2011). Estacionalidad reproductiva de la oveja en México. *Scielo*, 14(3). Obtenido de [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1870-04622011000300001&lng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-04622011000300001&lng=es).

Bo, G. A., Hockley, D. K., Nasser, L. F., & Mapletoft, R. J. (1994). Superovulatory response to a single subcutaneous injection of Follitropin-V in beef cattle. *Theriogenology*, 42(6), 963-975.

Bo, G. A., Adams, G. P., Pierson, R. A., & Mapletoft, R. J. (1996). Effect of progestogen plus estradiol-17 $\beta$  treatment on superovulatory response in beef cattle. *Theriogenology*, 45(5), 897-910. [http://doi.org/10.1016/0093-691X\(96\)00020-9](http://doi.org/10.1016/0093-691X(96)00020-9)

Dattena, M., Vespignani, S., Branca, A., Gallus, M., Ledda, S., Naitana, S., & Cappai, P. (1994). Superovulatory response and quality of embryos recovered from anestrous ewes after a single injection of porcine FSH dissolved in polyvinylpyrrolidone. *Theriogenology*, 42(2), 235-239.

Galora, A. (2006). *Sincronización de celo con el método OV-SYNCH(GnRH mas Prostaglandinas) e inseminación artificial con semen diluido en ovejas criollas en la unidad ovino-caprina FCP*. Obtenido de <http://dspace.espace.edu.ec/bitstream/123456789/1780/1/17T0763.pdf>

Gonzales, K. (2017). *Biología y mejoramiento genético en ovinos y caprinos*. Obtenido de <https://zoovetespasion.com/ovinos/biologia-y-mejoramiento-genetico-en-ovinos-y-caprinos/>

Jiménez, C. (2009). Superovulación: estrategias, factores asociados y predicción de la respuesta superovulatoria en ovinos. Cretaro: CATENUAR S.A.

Ochea, M., Pascal, M., Şonea, A., & Bîrţoiu, A. I. (2015). The effect of epidural administration of FSH in bovine superovulation protocol. *Sci Pap Ser D*, 217-220.

Salder, T. (2012). *Embriología Médica* (Vol. 12). Philadelphia: Wolters kluwer Health, SA.

Sakaguchi, K., Ideta, A., Yanagawa, Y., Nagano, M., Katagiri, S., & Konishi, M. (2018). Effect of a single epidural administration of follicle-stimulating hormone via caudal vertebrae on superstimulation for in vivo and in vitro embryo production in Japanese black cows. *Journal of Reproduction and Development*.

Simonetti, L. (15 de marzo de 2008). *Simplificación de los métodos de superovulación en ovejas*. Obtenido de <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/26018/1/TESIS%20pdf.pdf> (26/02/2019)

Simonetti, L., Forcada, F., Rivera, O. E., Carou, N., Alberio, R. H., Abecia, J. A., & Palacin, I. (2008). Simplified superovulatory treatments in Corriedale ewes. *Animal Reproduction Science*, 104(2-4), 227-237.



Taşdemir, U., Satılmış, M., Kardeşahin, T., Kizil, S. H., Kaymaz, M., & Kei, I. M. A. I. (2012). The effect of single epidural plus intramuscular injection of FSH on superovulatory response in Anatolian Black cow.

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 59(3), 211-216. Wu, W., Yang, M., Gong, P., Wang, F., Tian, Y., Xu, X., ... & Guo, Z. (2011). Effect of two follicle stimulating hormone (FSH) preparations and simplified superovulatory treatments on superovulatory response in Xinji fine-wool sheep. African Journal of Biotechnology, 10(70), 15834-15837.

Brison, D. R., & Schultz, R. M. (1997). Apoptosis during mouse blastocyst formation: evidence for a role for survival factors including transforming growth factor  $\alpha$ . Biology of reproduction, 56(5), 1088-1096.

Kaidi, S., Van Langendonck, A., Massip, A., Dessy, F., & Donnay, I. (1999). Cellular alteration after dilution of cryoprotective solutions used for the vitrification of in vitro-produced bovine embryos. Theriogenology, 52(3), 515-525.

Vajta, G., Rindom, N., Peura, T. T., Holm, P., Greve, T., & Callesen, H. (1999). The effect of media, serum and temperature on in vitro survival of bovine blastocysts after open pulled straw (OPS) vitrification. Theriogenology, 52(5), 939-948.



## 9. DECLARACIÓN FINAL

*El equipo de investigadores, representado por el Director del Proyecto, y la Entidad Postulante Principal, a través de su Representante, de forma libre y voluntaria declaran lo siguiente:*

- *Que el proyecto descrito en este documento es una obra original, cuyos autores forman parte del equipo de investigadores y por lo tanto asumimos la completa responsabilidad legal en el caso de que un tercero alegue la titularidad de los derechos intelectuales del proyecto, exonerando a la UCACUE de cualquier acción legal que se derive por este causal.*
- *Que el presente proyecto no causa perjuicio alguno al ambiente y no transgrede norma ética alguna, y que en el caso de que la investigación requiera de permisos previo a su ejecución, el Director del Proyecto remitirá una copia certificada de los mismos a las autoridades competentes en la UCACUE.*
- *Que este proyecto no se ha presentado en ninguna otra institución pública o privada, para el financiamiento del presupuesto solicitado a la UCACUE. El incumplimiento de este acuerdo será causal para que el proyecto no sea financiado o para la terminación anticipada unilateral del convenio a firmar con la UCACUE.*
- *De otorgarse financiamiento por la UCACUE para la ejecución del proyecto, aceptamos que los bienes adquiridos con estos fondos permanecerán bajo la responsabilidad de la entidad postulante durante la ejecución del proyecto, pero la UCACUE se reserva el derecho de determinar el destino final de los mismos, una vez finalizado el proyecto.*
- *Aceptamos que, si el proyecto se accede a financiamiento de la UCACUE y como parte de los resultados del mismo se genera algún producto o procedimiento susceptible de obtener derechos de propiedad intelectual, de los cuales se deriven beneficios, éstos serán de la UCACUE o compartidos con la entidad postulante, la(s) instituciones que compartieron la investigación y el equipo de investigadores, según los términos definidos en el respectivo convenio específico.*

**Fecha:** Cuenca, 25 de Octubre del 2019

Nombre: Juan Carlos Alvarado

CI: 0103352811

**DIRECTOR DEL PROYECTO**

Nombre:

CI:

**INSTITUCIÓN CO-EJECUTORA**

Nombre: Daniel Ernesto Argudo Garzón

CI: 0104461165

**CODIRECTOR DEL PROYECTO**

Nombre: Dr. Pablo Rubio

CI: 0102938107

**DIRECTOR DEL CENTRO DE INVESTIGACIÓN**





**ANEXO I CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES Y RESPONSABILIDADES**

No.	ACTIVIDADES	MESES												INVESTIGADOR / EQUIPO DE INVESTIGACIÓN	DESCRIPCIÓN PRECISA DEL APOORTE	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12			
	Objetivo Específico 1 • Medir la respuesta superovulatoria y porcentaje de recuperación embrionaria en ovejas donadoras.															
1	Actividad 1.1 Elaboracion de esponjas intravaginales de progesterona	X	X												Ing. Juan Carlos Alvarado /Estudiante 1,2,3,4	Elaboracion de esponjas intravaginales impregnadas con medroxiprogesterona
2	Actividad 1.2 Establecer dos protocolos de superovulacion para ovejas donantes			X	X	X	X	X	X						Ing. Juan Carlos Alvarado / Dr Daniel Argudo / Estudiante 1,2,3,4	Elaborar dos protocolos de superovulación para cada tratamiento con la utilizacion de FSH-p en dosis decreciente y en una sola dosis para la aplicación epidural
3	Actividad 1.3 Establecer tecnica de aplicación de hormonas por via epidural			X	X	X	X	X	X						Dr. Edy Castillo / Dr Pablo Rubio /Estudiante 1	Establecer una tecnica no quirurgica para la aplicación de FSH-p por via epidural
4	Actividad 1.4. Obsevación laparoscopica para medir el porcentaje de superovulación			X	X	X	X	X	X						Ing. Juan Carlos Alvarado	Mediante el uso de laparoscopio hacer dos incisiones en la parte abdominal con los trocares de 5mm, atravez de la lupa laparoscopica observar si las estructuras ovaricas, para comprobar si el tratamientop superovulatorio ha sido aceptado por el animal.
5	Actividad 1.5. Laparotomia para esponer cuernos uterinos			X	X	X	X	X	X						Dr. Edy Castillo / Dr Pablo Rubio	Una vez comprobado que la donante de embriones superovulo, establecer una tecnica quirurgica para extraer los cuernos uterinos al exterior

No.	ACTIVIDADES	MESES												INVESTIGADOR / EQUIPO DE INVESTIGACIÓN	DESCRIPCIÓN PRECISA DEL APOORTE			
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12					
6	Actividad 1.6. Lavado de cuernos uterinos por arrastre para recuperación de embriones			X	X	X	X	X	X								Ing. Juan Carlos Alvarado /Estudiante 1	Teniendo los cuernos uterinos en el exterior se procede hacer un lavado contracorriente con una solución Flush para extraer los embriones de los cuernos uterinos
Objetivo Específico 2 • Determinar el grado de desarrollo y calidad embrionaria de acuerdo a su clasificación morfológica.																		
1	Actividad 2.1. Búsqueda y clasificación de embriones			X	X	X	X	X	X								Ing. Juan Carlos Alvarado / Dr Daniel Argudo	Clasificación de embriones en el estereomicroscopio de acuerdo a su grado de desarrollo y morfología bajo normas internacionales establecidas (IETS)
2	Actividad 2.2. Vitrificación de embriones			X	X	X	X	X	X								Dr. Daniel Argudo	Congelación de embriones por Vitrificación para almacenarlos en un tanque de nitrógeno líquido para su conservación
Objetivo Específico 3 • Evaluar la criotolerancia de embriones luego de la vitrificación																		
1	Actividad 3.1. Calentamiento de embriones												X	X			Dr. Daniel Argudo	Calentamiento de embriones vitrificados para su evaluación
2	Actividad 3.2. Evaluación de sobrevivencia de embriones												X	X			Ing. Juan Carlos Alvarado / Dr Daniel Argudo	Evaluación de la reexpansión y protrusión de embriones a las 2, 24 y 48 horas del calentamiento
Objetivo Específico 4 • Valorar la viabilidad y la apoptosis en embriones vitrificados.																		
1	Actividad 4.1. Viabilidad de embriones vitrificados/calentados													X	X		Ing. Juan Carlos Alvarado / Dr Daniel Argudo	Cuantificar el número de células afectadas por la criopreservación a través de la tinción de fluorescencia diferenciada
2	Actividad 4.2. Medir apoptosis de embriones vitrificados/calentados													X	X		Ing. Juan Carlos Alvarado / Dr Daniel Argudo	Evaluar la incidencia de apoptosis celular en embriones mediante la técnica TUNEL

No.	ACTIVIDADES	MESES												INVESTIGADOR / EQUIPO DE INVESTIGACIÓN	DESCRIPCIÓN PRECISA DEL APORTE		
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12				
3	Actividad 4.3. Difusion de resultados												X	X	X	Ing. Juan Carlos Alvarado / Dr Daniel Argudo Dr. Edy Castillo / Dr Pablo Rubio /Estudiantes 1,2,3,4	Difusion de resultados al Departamento de investigación para su posterior publicación



ANEXO II	1. DETALLE DE PRESUPUESTO
----------	---------------------------

1. TALENTO HUMANO					
<i>Gastos en personal Técnico a contratar, los cuales prestarán sus servicios profesionales para el cumplimiento de actividades específicas en el Proyecto (No incluir al Director, colaboradores ni estudiantes participantes indicados en la propuesta de investigación). Añadir las filas que sean necesarias.</i>					
No.	NOMBRE	FUNCIÓN	HORAS / SEMANA	COSTO MENSUAL	COSTO ANUAL
1	Nombre: Grado Académico: Especialización técnica:				
2	Nombre: Grado Académico: Especialización técnica:				
<b>SUBTOTAL</b>			0	\$ -	\$ -

2. VIAJES					
<i>Gastos para cubrir la movilización y traslado (Viáticos, Subsistencias, pasajes al interior del País) del personal técnico asignado y determinado para el proyecto, de conformidad con las disposiciones legales vigentes.</i>					
No.	ACTIVIDAD	NOMBRE DE LAS PERSONAS	DURACIÓN(DÍAS)	LUGAR	COSTO (USD)
1					
2					
<b>SUBTOTAL</b>					\$ -

3. CAPACITACIONES					
<i>Gastos necesarios para la capacitación en el campo de la investigación vinculada al proyecto. En esta parte debe indicarse la clase de capacitación como los cursos, seminarios, talleres, pasantías que son parte del proyecto. Añadir las filas que sean necesarias.</i>					
No.	CAPACITACIÓN	NOMBRES DE LOS ASISTENTES	DURACIÓN	LUGAR	COSTO (USD)

ANEXO II		1. DETALLE DE PRESUPUESTO			
1	Nombre: Tipo:				
2	Nombre: Tipo:				
<b>SUBTOTAL</b>					\$ -

#### 4. EQUIPOS Y SOFTWARE

*Gastos necesarios en la adquisición de Equipos (Equipos: de Laboratorio; para construcción de prototipos de equipos y maquinarias; componentes para construcción de planta piloto; de desarrollo experimental; Maquinaria o componentes para mejoras en tecnología de procesos) indispensables y esenciales para el desarrollo y consecución de los objetivos del proyecto. Describir las características técnicas fundamentales de los equipos estrictamente necesarios para ejecutar las actividades del proyecto y su precio. No debe existir duplicación de equipos existentes. Añadir las filas que sean necesarias.*

No.	EQUIPOS - SOFTWARE	DESCRIPCION	CANTIDAD	PRECIO (USD)
1	Estereomicroscopio	Estereomicroscopio Binocular modelo SMZ800 con zoom de 80 aumentos, base de contraste oblicuo ( luz diascopica)	1	4700,00
2	Filtro de fluorecencia	Cubo de fluorecencia para HOECHST BX51	1	1860,00
3	Filtro de fluorecencia	Cubo de fluorecencia para Texas Red para BX51	1	2200,00
4	Sonda transrectal	Sonda transrectal para ecografo CHISON	1	1570,00
5	Pipeta automatica	Pipeta automatica de 0,2 a 10 microlitros	1	150,00
6	Pipeta automatica	Pipeta automatica de 20 a 200 microlitros	1	150,00
7	Pipeta automatica	Pipeta automatica de 100 a 1000 microlitros	1	150,00
8	Pistola para inseminación laparoscopica	Pistola o trancapacidad ovina para sostener las pajuelas para una aplicación precisa de la dosis seminal durante la inseminación y transferencia de embriones por	1	800,00
9	Termo de nitrogeno liquido	Termo de nitrogeno liquido para crioconservar embriones	1	700,00
<b>SUBTOTAL</b>				12280,00

ANEXO II		1. DETALLE DE PRESUPUESTO		
<b>5. RECURSOS BIBLIOGRÁFICOS</b>				
<i>Gastos necesarios en la adquisición de Bibliografía especializada, software y licencias de uso considerados como indispensables y esencial para el desarrollo y consecución de los objetivos del proyecto. Señalar los Libros especializados, Publicaciones periódicas y software necesarios para la ejecución del proyecto, indique sus respectivos precios Añadir las filas que sean necesarias.</i>				
No.	LIBROS / REVISTAS / BASES DE DATOS	DESCRIPCIÓN	CANTIDAD	PRECIO (USD)
1				
2				
<b>SUBTOTAL</b>				\$

<b>6. MATERIALES Y SUMINISTROS</b>			
<i>Gastos necesarios en la adquisición de Bienes de Uso y Consumo (Materiales de vidrio para laboratorio, Reactivos Químicos e insumos, Suministros para actividades acordes al objeto del proyecto) considerados como indispensables para el desarrollo y consecución de los objetivos del proyecto. Añadir las filas que sean necesarias.</i>			
No.	MATERIAL / SUMINISTRO	CANTIDAD	PRECIO (USD)
1	Folltropin	\$ 15,00	3750,00
2	Novormon (EcG)	\$ 2,00	180,00
3	Aspics para inseminación y transferencia de embriones ovinos y caprinos	\$ 20,00	120,00
4	Medroxiprogesterona	8	144,00
5	Hilo de sutura Vicril 2-0	40	80,00
6	Tubos falcon de 15ml	100	20,00
7	Puntas de pipeta azul	1000	20,00
8	Puntas de pipeta blanca	1000	20,00
9	Puntas de pipetas amarillas	1000	20,00

ANEXO II		1. DETALLE DE PRESUPUESTO	
10	Cell death deteccion kit (Tunel)	1	1200,00
11	Etilenglicol	1	120,00
12	Sucrosa	1	90,00
13	Pajuelas Ovino	20	400,00
14	Semovientes (ovejas hembra Pelibuey)	10	1300,00
<b>SUBTOTAL</b>			<b>\$ 7.464,00</b>

7. TRANSFERENCIA Y DIFUSIÓN DE RESULTADOS				
<i>Gastos necesarios para la adquisición de Bienes de Uso y Servicios (difusión de resultados por medio de publicaciones de alto impacto de los resultados alcanzados en el proyecto). Añadir las filas que sean necesarias.</i>				
No.	NOMBRE DE LA REVISTA	BASE DE DATOS	CUARTIL	PRECIO (USD)
1				
2				
<b>SUBTOTAL</b>				<b>\$</b>

8. SUBCONTRATOS Y SERVICIOS				
<i>Gastos necesarios para cubrir servicios de Investigación y Exámenes Profesionales (Análisis clínicos, químicos, físicos, biológicos), Pruebas Especializadas, Asesoría Especializada (Consultorías), estudio y diseño especializado, Servicios especializados para la capacitación y adiestramiento al personal participante en el proyecto, servicios de Apoyo no especializado Temporal (Jornaleros), considerados como indispensables y esencial para el desarrollo y consecución de los objetivos del proyecto. Añadir las filas que sean necesarias.</i>				
No.	ACTIVIDAD	DESCRIPCIÓN	TIPO	PRECIO (USD)
1	Mantenimiento de Microscopio de fluorescencia			250
2				
<b>SUBTOTAL</b>				<b>250</b>

<b>ANEXO II</b>	<b>1. DETALLE DE PRESUPUESTO</b>
-----------------	----------------------------------

<b>9. OTRO TIPO DE GASTOS</b>			
<i>Añadir las filas que sean necesarias.</i>			
<b>No.</b>	<b>ACTIVIDAD</b>	<b>DESCRIPCIÓN</b>	<b>PRECIO (USD)</b>
1			
2			
<b>SUBTOTAL</b>			<b>\$</b>



**ANEXO II**      **2. PRESUPUESTO CONDENSADO**

No	ACTIVIDADES	PROGRAMACION DE INVERSIÓN PRESUPUESTARIA												TOTAL CALCULADO	TOTAL DETALLE	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12			
1	Remuneración talento humano														\$ -	\$ -
2	Viajes Técnicos														\$ -	\$ -
3	Capacitaciones														\$ -	\$ -
4	Equipos y Software		\$ 12.280,00												\$ 12.280,00	\$ 12.280,00
5	Recursos Bibliográficos														\$ -	\$ -
6	Materiales y Suministros	\$ 7.464,00													\$ 7.464,00	\$ 7.464,00
7	Transferencia de resultados														\$ -	\$ -
8	Subcontratos y servicios			\$ 250,00											\$ 250,00	\$ 250,00
9	Otro tipo de gastos														\$ -	\$ -
<b>TOTALES</b>		<b>\$ 7.464,00</b>	<b>\$ 12.280,00</b>	<b>\$ 250,00</b>	<b>\$ -</b>	<b>\$ 19.994,00</b>	<b>\$ 19.994,00</b>									



**ANEXO II**                      **3. PRESUPUESTO POR FUENTE DE FINANCIAMIENTO**

No.	RUBROS	APORTE UCACUE	APORTE EXTERNO	TOTAL PRESUPUESTO
		PRESUPUESTO ( \$ )	PRESUPUESTO ( \$ )	
1	Remuneración talento humano			
2	Viajes Técnicos			
3	Capacitaciones			
4	Equipos y Software	\$ 12.280,00		\$ 12.280,00
5	Recursos Bibliográficos			
6	Materiales y Suministros	\$ 7.464,00		\$ 7.464,00
7	Transferencia de resultados			
8	Subcontratos y servicios	\$ 250,00		\$ 250,00
9	Otro tipo de gastos			
<b>Total</b>		\$ 19.994,00		\$ 19.994,00
<b>Porcentajes</b>				