



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 PREVIO PARA OPTAR EL TÍTULO DE:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

TEMA:

**IDENTIFICACIÓN DE CÉLULAS EPITELIALES VAGINALES DOMINANTES EN
OVULACIÓN PARA MEJORAR LOS ÍNDICES REPRODUCTIVOS EN HEMBRAS
BOVINOS**

AUTOR:

JHON DARWIN CALDERÓN CASTILLO

TUTOR:

Dr. JHONS RODRIGUEZ ALAVA

BABAHOYO - LOS RÍOS – ECUADOR

2016

Dedicatoria

A Dios

Que está conmigo siempre, el mismo que ha permitido culminar esta carrera sin novedad, hubo obstáculos pero allí estuvo Él con su poder y gloria para darme fuerzas y salud para seguir adelante.

A mis hijos:

Priscilla, John y Darwin Calderón Solórzano, Dios me eligió ser el conductor de vuestras vidas y es por eso que llevo en mis hombros esa responsabilidad de dar ejemplo de sacrificio y perseverancia en esta vida, este nuevo peldaño que he escalado el mismo que se lo dedico a ustedes hijos; como un buen ejemplo para que lo imiten y así continúen con sus respectivos estudios, gracias por quererme y brindarme su apoyo moral y confianza, porque cuando salí de casa hice un juramento de nunca defraudarlos y lo estoy cumpliendo, sepan que para mí son los mejores hijos de este mundo y que los quiero mucho.

A mi madre:

Luz María Castillo Ocampo, mami esto es para ti, depositaste toda tu confianza me brindaste tu apoyo a pesar de estar un poco crecidito, creíste en mi a pesar de muchos comentarios que hubo que por mi edad yo no podía culminar esta carrera universitaria, estoy seguro que siempre estuve en tus oraciones y Dios te escucho, te quiero mucho madre.

"El hombre nunca sabe de lo que es capaz hasta que lo intenta. "

Agradecimiento

A Dios quién con su divina providencia me ha dado fuerza y perseverancia para seguir adelante en todo lo que me propuesto y que no decir ante tantos problemas y vicisitudes que se me presentaron al inicio de esta carrera, mi fe con el Creador es infinita es por eso que puedo decir que estuvo conmigo siempre dándome fortaleza y salud para la culminación de esta hermosa carrera.

A mis hijos por su amor ya que esto me ha ayudado a finalizar y adquirir esta nueva profesión, a mi madre y hermanos quien de una y otra forma me brindaron su apoyo incondicional.

A la gloriosa Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia, templo del conocimiento, por permitirme el ingreso a sus aulas en calidad de alumno, a los docentes que de una manera desinteresada y muy profesional compartieron sus conocimientos con mucha paciencia y sin egoísmo, de ello puedo citar los siguientes Dr. Jhon Rodríguez, Dr. Luis Quezada, Dr. William Filian, Dr. Jorge Sánchez Palomino

Agradecimiento especial al Dr. Ricardo Zambrano por toda la predisposición brindada para la culminación de este trabajo.

A mis compañeros de estudio futuros colegas.

ÍNDICE GENERAL

Contenido	Página
I INTRODUCCIÓN	5-6
1 Objetivos	7
1.1 Objetivo General	7
1.2 Objetivos Específicos	7
II REVISIÓN DE LITERATURA	8
2.1 Clasificación Celular de los Frotis Vaginales	15-16-17
III MATERIALES Y MÉTODOS	18
3.1 Ubicación y Descripción del Área Experimental	18
3.2 Materiales	18
3.3 Materiales de Oficina	19
3.4 Materiales Genéticos	19
3.5 Factores Estudiados	19
3.6 Ciclos Estrales	19
3.7 Métodos	20
3.7.1 Toma de muestras y palpación rectal en hembras bovinos	20
3.8 Diseño Experimental	22
3.9 Manejo de la Investigación	22
3.10 Datos Evaluados	22
IV RESULTADOS	23-30
V DISCUSIÓN	31-32
VI CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	33
VII RESUMEN	34
VIII SUMMARY	35
IX LITERATURA CITADA	36-37-38
X ANEXO	39-40-41

I. INTRODUCCIÓN

Considerado al ganado bovino como la especie animal más antigua que el hombre ha domesticado por los diversos beneficios que éste brinda al ser humano tanto para su alimentación como para el trabajo, domesticación que se extiende por todos los puntos cardinales del planeta desarrollándose actualmente en una actividad productiva y de mucha competitividad, innovándose constantemente técnicas de manejo para su mejor rentabilidad. La ganadería bovina en nuestro país es poco rentable debido a muchos factores que influyen en su productividad, una de las principales causas es el desconocimiento de la compleja actividad en la interceden los ovarios y hormonas de la vaca durante el ciclo estral.

Poseer un amplio conocimiento de la estructura anatómica y fisiología del aparato reproductor de una hembra bovina son herramientas necesarias para emprender una explotación ganadera, nociones aplicables en cualquiera de las técnicas biotecnológicas, como son inseminación artificial y transferencia de embriones, estrategias primordiales para convertir la ganadería bovina en una empresa exitosa, rentable y que además ofrezca productos de altísima calidad a la población humana.

En nuestro país según reportes del MAGAP existen aproximadamente 5'127.124, cabezas de bovinos, de las cuales 98.265 existen en la Provincia de los Ríos, en esta región costera del Ecuador se presentan una gran diversidad de producción de bovinos que se caracterizan en la mayor parte por ausencia de prácticas de tipo sanitario, nutricionales y reproductivas. Poco se ha investigado sobre manejos reproductivos de las especies domésticas, específicamente sobre los cambios fisiológicos de las células del epitelio vaginal y su relación con las diferentes fases del ciclo estral. Cuando una hembra bovina logra la pubertad, las manifestaciones fisiológicas de los ciclos estrales se muestran a intervalos habituales, a menos que se inicie una preñez o que las condiciones nutricionales sean muy deficientes.

Dentro de las diferentes manifestaciones de celo en una hembra bovina se señala los cambios morfológicos que sufren las células que conforman el revestimiento epitelial vaginal, alterando de escamoso estratificado por la acción de los estrógenos, a cuboides de células planas influenciadas por la acción de la progesterona. Manifestaciones que desarrollan funciones en la etapa del ciclo en la que se encuentra la hembra y son claramente diferenciados mediante técnicas citológicas.

La citología vaginal exfoliativa es un método de bajo costo y de fácil realización, que permite determinar la etapa del ciclo estral en la que se encuentra una hembra bovino. Considerando que la citología exfoliativa vaginal debe ser evaluada en conjunto con la observación de las diferentes manifestaciones visuales, endocrinos y fisiológicas que presenta una hembra bovino en celo Hafez (2004). También mediante esta modalidad se puede predecir la fecha probable de parto, ayuda en la determinación de problemas de infertilidad, diagnóstico de vaginitis, tumores vaginales, piómetra y metritis aguda.

La detección de celo en un hato ganadero bovino es clave no sólo para realizar las inseminaciones, sino para determinar el momento más propicio para realizar el servicio, y lograr un excelente porcentual de la concepción. Según Iglesia (2002), una hembra bovina con manifestaciones de celo presenta un comportamiento que por su exuberancia es de fácil reconocimiento para el profesional veterinario quien se encuentra capacitado para tomar las acciones pertinentes.

1. Objetivos

1.1. Objetivo General

Identificar células epiteliales vaginales dominantes en ovulación para mejorar los índices reproductivos en hembras bovinos.

1.2. Objetivos Específicos

- Aplicar técnica de evaluación de los diferentes tipos de células epiteliales presentes en la mucosa vaginal durante las fases estrales.
- Identificar por palpación recto vaginal el estado preovulatorio del folículo dominante

II. REVISIÓN DE LITERATURA

Según Frankvan (2001), uno de los principales contribuyentes a la baja fertilidad de un hato lechero son los ineficaces métodos de detección del estro.

Para realizar una investigación sobre el ciclo estral de una hembra bovina y determinar aspectos reproductivos específicos es necesario conocer la anatomía del aparato genital de la hembra, el mismo que está constituido por órganos internos y externos. Los órganos internos son los ovarios (glándula sexual femenina) y una serie de conductos (oviducto, útero, cérvix y vagina). Los órganos externos los constituyen el vestíbulo vaginal y la vulva Cardona (2013).

Vulva es la entrada de la vagina, orificio externo visible del aparato reproductor está conformada por pliegues de piel (epitelio estratificado escamoso, queratinizado) y cabellos que la protegen del medio exterior. Con aproximadamente 12 centímetros de longitud, la vulva se encuentra ubicada debajo de la abertura externa del recto.

Vestíbulo es la primera estructura que se encuentra craneal a la vulva, forma parte del grupo de genitales externos de la hembra. Para realizar la inseminación artificial es muy importante conocer y determinar su localización, se recomienda introducir la pistola de inseminación en un ángulo de 30 grados para evitar la penetración en una de estas cavidades. Según Hafez (2002), la unión de la vagina y vestíbulo está marcada por el orificio uretral externo y a menudo por un borde (himen vestigial). En algunas vacas, el himen puede ser tan prominente que interfiere en la cópula.

El vestíbulo de la vaca se extiende hasta el interior unos 10 centímetros, hasta el sitio donde el orificio uretral se abre en su superficie ventral. Los tubos de Gartner (restos de los conductos de Wolff) desembocan dentro del vestíbulo en posición posterior y lateral respecto a los conductos de Gartner. Las glándulas de Bartholin, que secretan un líquido viscoso (más activamente en el estro) tienen estructura tubo alveolar semejante a las glándulas bulbo uretrales del macho.

La vagina tiene una extensión aproximada de 25 a 30 centímetros de longitud localizada desde el vestíbulo hasta la entrada de la cervix, está cubierta por epitelio estratificado escamoso no queratinizado. Entre las funciones se pueden citar dos de las principales; receptar el semen del toro en la monta natural y como vía de salida del feto durante el parto.

Cervix órgano de pliegues y mucosa de estructura gruesa que forman 3 a 4 anillos internos estableciendo una conexión entre la vagina y el útero con 8 a 12 centímetros de longitud y 4 a 5 centímetros de ancho, dependiendo de la raza y edad del animal, esta sección del aparato reproductor de la hembra es de considerable importancia en la reproducción bovina. Según Cardona (2013), además de proteger el útero del medio ambiente exterior son funciones del cervix las de servir como reservorio de semen y ayudar en el transporte del mismo hacia el útero.

El útero está compuesto por tres capas musculares y una intrincada red de vasos sanguíneos, según Durán (2011), el tamaño, disposición y forma de los cuernos uterinos varían en los animales domésticos; en las hembras bovino el útero es bipartido es decir que cuenta con un cuerpo uterino pequeño que mide de 4 a 6 centímetros. La función principal del útero es proveer el ambiente óptimo para el desarrollo fetal ya que aquí es donde se lleva a cabo la gestación es por ello que el útero además de proporcionar un ambiente favorable para el desarrollo del embrión es su obligación, de tal manera que cualquier cambio del mismo compromete la vida del embrión y favorece la aparición de celos continuos Prado (2006).

Los oviductos conocidos también con el nombre de Trompas de Falopio con una longitud de aproximadamente 35 centímetros unidos a los cuernos uterinos su estructura está conformada por 3 segmentos que son: el infundíbulo, estructura en forma de embudo la cual a través de las fimbrias abraza el ovario y atrapa el óvulo después de la ovulación, según López (2010), el ovario expulsa en el momento de la ovulación un ovocito, el cual es captado por el infundíbulo y es llevado al interior del oviducto, donde normalmente tiene lugar la fecundación. El ampulla que es la porción media del oviducto y constituye el lugar donde se da la fecundación. Y el istmo que es la parte del oviducto por

donde el embrión viaja después de la fecundación para llegar al cuerno uterino (3 a 4 días), esta parte del oviducto también funciona como reservorio de semen Cardona (2013).

Los ovarios son glándulas de mucha importancia y muy complejas que forman parte del aparato reproductor de las hembras, mediante la interacción con otras glándulas y estructuras nerviosas del cuerpo controlan el ciclo reproductivo Rippe (2009), describe que son glándulas y que tienen básicamente dos funciones: una exocrina, que es la liberación de óvulos, y otra endocrina, que es la producción y secreción de hormonas.

Entre las hormonas que producen los ovarios se puede citar los estrógenos o estradiol, la progesterona y la inhibina. Los estrógenos son hormonas esteroideas producidas en el folículo ovárico y son los responsables de estimular la conducta sexual o de celo, actuando sobre el Sistema Nervioso Central del animal; además, tienen acción sobre otros órganos del aparato reproductivo como son las Trompas de Falopio, el útero, la vagina y la vulva.

Los estrógenos tienen un efecto de retroalimentación positiva sobre el hipotálamo produciendo la liberación de GnRH que a su vez inducirá la liberación de FSH y LH en la hipófisis anterior. La progesterona es también una hormona esteroide producida en el cuerpo lúteo por acción de la LH; es responsable de la preparación del útero para permitir la implantación del embrión y de mantener la gestación. Produce un efecto de retroalimentación negativa sobre el hipotálamo. La inhibina es una hormona proteica producida en el folículo que interviene en el mecanismo de regulación de la secreción de FSH y tiene un efecto de retroalimentación negativa sobre la hipófisis anterior produciendo una menor secreción de FSH.

Stornelli (2006), describe que el estudio de la citología vaginal es un método complementario sencillo, barato, no invasivo y que puede ser de gran utilidad en la clínica reproductiva diaria. Se basa en prescribir la cantidad y tipo de células de las diferentes etapas del ciclo estral de una hembra animal. Los cambios que ocurren en la mucosa vaginal y su epitelio, a través del ciclo estral, son el resultado del aumento de las concentraciones séricas de estrógenos producto

de la actividad ovárica durante el proestro. Estos cambios celulares pueden observarse en las células vaginales exfoliadas. Los estrógenos causan el engrosamiento del epitelio vaginal a través del aumento de las capas celulares del mismo.

Las células epiteliales en este proceso se alejan de la membrana basal hacia el lumen vaginal, distanciándose del soporte vascular nutricio y progresando hacia la muerte celular. De esta manera los cambios citológicos vaginales son reflejo de las variaciones de las concentraciones séricas de estrógeno. Es así que los diferentes tipos celulares representan distintos estadios de muerte celular. Tan pronto como las células vaginales esféricas mueren comienzan a agrandarse y su forma se vuelve más irregular. Los núcleos celulares también sufren cambios que reflejan el proceso de muerte, estos comienzan a disminuir su tamaño, se vuelven picnóticos para luego desintegrarse dando como resultado células anucleadas.

Las etapas del ciclo estral de las hembras bovinas son específicas y pueden observarse debido a la conducta sexual del animal, signos físicos como secreción vulvar (limo), o por citología vaginal. Por ser una hembra poliestrica, la sucesión de eventos que ocurre entre un celo y otro se denomina ciclo estral, éste, puede definirse como el proceso fisiológico que va desde el inicio de un celo o estro hasta el inicio del siguiente.

El ciclo estral representa un proceso complicado de transformaciones específicas, morfológicas, histológicas, hormonales, no directamente en los órganos reproductores, sino también en otros órganos del sujeto, además en su comportamiento, amalgamados con el único objetivo de preparar las condiciones favorables para la fecundación, anidación y desarrollo del feto.

Rippe (2009), describe los eventos principales en fases que ocurren durante el ciclo estral y lo divide en tres fases:

1. Fase Folicular o de regresión del cuerpo lúteo (Proestro)
2. Fase Periovulatoria (Estro y Metaestro)
3. Fase Luteal (Diestro)

El estro es el día del celo o calor aparente con signos manifiestos y se considera el día del comienzo del nuevo ciclo; sin embargo, y para efectos de mejor entendimiento, la descripción se realizará a partir de la destrucción del cuerpo lúteo del ciclo estral anterior y finalizará con el día de celo del siguiente ciclo.

Fase folicular o de regresión lútea (proestro)

Esta fase es corta, cuya duración es de 4 a 5 días en vacas y cerdas, inicia con la regresión del cuerpo lúteo del ciclo estral anterior y finaliza con la manifestación de celo. Al producirse la destrucción del cuerpo lúteo tenemos una caída en los niveles de progesterona y posteriormente una pérdida de tejido luteal, siendo la PGF2a de origen uterino el principal luteolítico en los animales domésticos y en la mayoría de los roedores.

Como consecuencia de la caída de los niveles de progesterona, disminuye la retroalimentación negativa que dicha hormona tenía a nivel hipotalámico y comienzan a aumentar la frecuencia pulsátil de las hormonas gonadotróficas (FSH y LH) y se estimula el crecimiento folicular con el desarrollo de un gran folículo y el aumento en los niveles de estradiol. Cuando los estrógenos alcanzan cierto nivel, se estimula la receptividad al macho y comienza el período de celo o estro.

Fase periovulatoria (estro – metaestro)

El estro está definido como un periodo de actividad y receptividad sexual en donde el signo principal es que el animal se mantiene en pie y quieto al ser montado por otro. También se observa, entre otros signos, inquietud, inflamación de la vulva, secreción de limo. La duración de celo en la vaca es variable entre 16 ± 4 horas. Los signos de estro ocurren por la presencia de los estrógenos provenientes del folículo. Seguidamente después de finalizado el celo se inicia el metaestro su duración puede ser de 3 a 5 días. Durante el metaestro sucede la ovulación, que tiene lugar entre 28 a 32 horas después de haberse iniciado el celo, o entre 10 a 15 horas de haber cesado las

manifestaciones de celo en respuesta al pico preovulatorio de LH. Más tarde de la ovulación se ocasiona una hemorragia y el folículo se llena de sangre, convirtiéndose en una estructura que se denomina cuerpo hemorrágico. El proceso a continuación es la luteinización de las células foliculares que se convierten en células luteales; estos cambios acontecen entre el día 5 a 7 del ciclo, finalizando así la fase de metaestro e iniciándose la fase lútea o diestro.

Fase luteal (diestro)

Diestro los días 16 a 18 del ciclo estral se conocen como “el periodo de reconocimiento materno”, durante este periodo, el útero busca la presencia de un embrión en crecimiento. Si no se detecta un embrión, el útero inicia la producción de prostaglandina. Esta hormona destruye el cuerpo lúteo. Cuando se destruye el cuerpo lúteo cesa la producción de progesterona y desaparece el efecto de retroalimentación negativa que ejercía a nivel hipotalámico, por lo que comenzará a aumentar la frecuencia pulsátil de las hormonas FSH y LH, encargadas de estimular el crecimiento folicular. Muchos folículos pueden llegar a desarrollarse durante el proceso de dinámica folicular, pero solo 1 (2 o 3 en el caso de gemelos o trillizos) será el folículo dominante seleccionado para ser ovulado. Este folículo dominante se diferencia de los demás en que es estimulado coordinadamente por las hormonas FSH y LH para producir estrógenos y provocar el siguiente celo.

El celo o celo se caracteriza por la receptividad sexual de la hembra (se deja montar) a un toro o a la actividad de monta de otras hembras, además del crecimiento de un folículo y su preparación para la ovulación. El metaestro comprende las fases finales de la maduración folicular y la ovulación, la formación del cuerpo lúteo y el inicio de la secreción de progesterona. Una vez que se observan concentraciones significativas de progesterona en la sangre, es el comienzo de la fase luteal o diestro, la que continúa hasta que el cuerpo lúteo comienza a regresar al inicio de la luteolisis. En la medida que las concentraciones de progesterona en sangre comienzan a declinar rápidamente producto de la lisis luteal, se inicia el proestro o fase folicular, llevando al crecimiento de una onda folicular y la selección de un folículo ovulatorio.

La ovulación en las vacas se produce pocas horas después de finalizadas las manifestaciones del celo; la ovulación ocurre al azar respecto al ovario que contiene el cuerpo amarillo; siendo la vaca la única especie doméstica que ovula de 12 a 14 horas después de finalizadas las manifestaciones del celo. Los folículos preovulatorios experimentan tres cambios principales durante el proceso ovulatorio Hafez (2002).

- a) Maduración citoplasmática y nuclear del oocito
- b) Pérdida de la cohesividad de las células del montículo ovárico entre las células de la capa granulosa
- c) Adelgazamiento y ruptura de la pared folicular externa

Después de la oleada ovulatoria de gonadotropina, se incrementa el flujo sanguíneo hacia todas las clases que conforman los folículos. Cabe precisar que el folículo destinado a ovular será el que reciba mayor volumen de sangre.

Esta información es muy importante para el médico veterinario, ya que permite determinar el momento óptimo para realizar todos los preparativos para la inseminación artificial. En general, el celo es más rápido en las vacas criadas en pastoreo que en las vacas criadas en estabulación. La duración del celo, como cualquier función sexual, va a estar influenciada por el medio ambiente y condiciones de vida, alimentación, sanidad, entre otras; es decir por el manejo en general.

La regulación del ciclo estral depende de cierto número de factores que involucran al Sistema Nervioso Central especialmente al hipotálamo y el lóbulo anterior de la hipófisis (Adenohipofisis).

Los cambios hormonales en la concavidad vaginal durante el proestro y el estro se manifiestan en la aparición de células epiteliales vaginales exfoliadas. Mediante la citología vaginal exfoliativa se puede observar el tipo de célula

dominante en las diferentes etapas del ciclo estral, considerándose una herramienta auxiliar en la determinación del estado reproductivo de hembras.

2.1. Clasificación Celular de los Frotis Vaginales

Las hormonas mediante sus secreciones y excreciones producen cambios en la mucosa vaginal durante el ciclo estral, Arcila (2005), manifiesta que el principio de la citología vaginal exfoliativa se basa en identificar el tipo y el porcentaje de células en cada una de las etapas en que se ha dividido para su estudio el ciclo estral.

Al comenzar un nuevo ciclo estral en una hembra bovina se encuentran células epiteliales con mayor irrigación sanguínea (nutrición celular). Conforme los niveles de estrógenos se incrementan el epitelio vaginal se va engrosando, ocasionando a que la célula epitelial se vaya separando del aporte sanguíneo y dé como resultado una transformación celular que va de la célula parabasal a la célula anucleada. En los extendidos de la mucosa vaginal se distinguen los siguientes tipos de células normales comenzando de la capa vaginal más profunda hacia el lumen vaginal.

Células parabasales: son de diámetro pequeño, con una singular forma oval, núcleo grande y coloración basófila, por estar ubicadas en la capa germinal cercanas al torrente sanguíneo. Las células parabasales se desprenden de la capa de células germinales cercana a los vasos sanguíneos y predominan en el anestro y principios del proestro Dumon (2013).

Células tempranas: su tamaño es muy variable desde el pequeño al grande, al igual que las parabasales son de forma redonda diferenciadas por sus núcleos que son más pequeños, estas células dan inicio al primer paso de la *apoptosis, morfológicamente las células se vuelven más grandes y parecen tener relativamente un citoplasma más grande y núcleos más pequeños. Se clasifican en células tempranas, y medias.

*Muerte celular

Células tardías: de todas las más grandes, poseen membranas angulosas, planos y agudos, su tinción es exigua. Sus núcleos son picnóticos, o con pérdida gradual de la coloración.

Células cornificadas: irregulares, grandes y sin vida que representan el final de un proceso iniciado con las células parabasales. Estas células mueren por el distanciamiento de su irrigación sanguínea además carecen de núcleo.

La palpación rectal en las vacas es una práctica o método físico utilizado para auscultar los órganos genitales internos de la vaca, consiste en introducir el brazo por el recto de la hembra bovina el cual es lo suficientemente elástico que permite determinar estados fisiológicos (funcionalidad ovárica, momentos del ciclo estral, gestación o vacía), o patológicos (piómetras, quistes, aplasias segmentarias y otras). Se la considera también como una herramienta más que el profesional en Medicina Veterinaria pone en práctica dentro de un plan de reproducción eficiente.

Para lograr la eficiencia se debe proveer de un equipo completo como son: overol, botas, guantes de polietileno desechables, un guante tipo industrial en la mano que no palpa, agua de preferencia tibia y jabón de lavar para lubricar el guante de tacto rectal y el equipo de sujeción e inmovilización del animal.

La forma más adecuada de acercarse, capturar, sujetar, derribar, inmovilizar a los animales, mediante métodos y técnicas seguras se conoce como manejo, técnicas que facilitan la maniobra para el médico y evitan que el animal se lastime mientras se ejecuta la palpación debido a que los animales cuando son conducidos a lugares o entornos desconocidos o se usan elementos inadecuados en el arreo (palos, picanas) se produce en ellos estrés, miedo y a veces incluso dolor.

El diagnóstico a través de la palpación determinará, si la hembra está gestante, si es normal la gestación, cuánto tiempo lleva de gestación, si está ciclando la vaca, si está en anestro, en hiperestro, si tiene incapacidad para quedar gestante o si padece cualquier otro trastorno de reproducción. Un examen por palpación rectal puede dar respuesta a la mayoría de estas cuestiones Camargo (2011).

El objetivo fundamental de la palpación rectal Urdaneta (2011), es que toda hembra que va a ser sometida a un programa de inseminación, debe ser previamente examinada desde el punto de vista ginecológico, por el especialista en reproducción animal, para asegurarse de la integridad física y anatómica del aparato reproductivo: útero, ovario, cérvix, vagina y vulva. Es conveniente realizar un ayuno a las hembras a palpar de un mínimo de 12 horas antes con el objeto de disminuir el contenido del tracto intestinal y facilitar el trabajo.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación y Descripción del Área Experimental

El presente trabajo se realizó en la ganadería de la Universidad Técnica de Babahoyo, ubicada en la Facultad de Ciencias Agropecuarias, en el km 7,5 de la vía Babahoyo-Montalvo de la Provincia de Los Ríos, a una altura de 7.5 msnm cuya localización geográfica es 01° 47' 49" de latitud Sur y 79° 32" de longitud Oeste con una precipitación anual de 2791.04 mm/año, temperatura de 25 °C y humedad relativa de 76 %.

3.2. Materiales

- Botas de caucho
- Guantes de latex
- Guantes ginecológicos
- Porta objetos
- Metanol
- Hisopos
- Ácido acético
- Cámara fotográfica
- Documentos de registro
- Papel desechable
- Mandil
- Materiales para Tinción de Giemsa
- Microscopio óptico
- Gel lubricante
- Alcohol

- Jabón Desinfectante
- Solución metanol-ácido acético 10 % y 90 % respectivamente

3.3. Materiales de Oficina

- Computador
- Esferográficos
- Cuaderno de apuntes
- Lápices
- Carpetas
- Impresora
- Tinta para impresión
- Hojas A4
- regla

3.4. Materiales Genéticos

- Diecisiete vacas vacías de raza mestiza pertenecientes a la Ganadería de la Universidad Técnica de Babahoyo.
- Muestras de células epiteliales vaginales extraídas de las hembras bovinos

3.5. Factores Estudiados

- Células vaginales epiteliales
- Folículos ováricos

3.6. Ciclos Estrales

- El estudio de los cuatro ciclos estrales se realizaron durante 84 días mediante los métodos de citología vaginal exfoliativa y palpación rectal, considerando cuatro estros bien definidos de acuerdo a la interacción de los mecanismos de ovulación Hafez (2002).
- La clasificación folicular de acuerdo a su tamaño se la realizó según la tabla publicada por Galvis (2007), como se describe a continuación:
 - ✓ Folículos tipo I (Fol I) 3 a 5mm pequeños en reclutamiento
 - ✓ Folículos tipo II (Fol II) 6 a 9mm reclutados y seleccionados
 - ✓ Folículo tipo III (Fol III) 10 a 15mm Folículo dominante
 - ✓ Folículo tipo IV (Fol IV) >15mm Gran folículo dominante

Para una mejor interpretación se modificó la tabla de acuerdo al siguiente detalle: pequeño 1 (< 5 mm), mediano 2 (5mm < 10 mm) y grande 3 (>10mm).
- Determinar tipos y cantidad de células epiteliales presentes en mucosa obtenidas de parte anterior de vagina de hembra bovino.

3.7. Métodos

3.7.1 Toma de muestras e inmovilización para palpación rectal en hembras bovinos.

La citología vaginal y palpación rectal se hizo mediante observación de la hembra por su comportamiento, reflejos, la vulva con presencia de limo Carré (1979). El enrojecimiento e inflamación fueron alternativas utilizadas para determinar el estro en cada una de las 17 hembras bovinos vacías en estudio.

Estos trabajos se realizaron durante 84 días consecutivos en horario matutino (07:00 am). La toma de muestras se ejecutó mediante la ayuda de hisopos previamente esterilizados los mismos que se introdujeron separando los labios vulvares en ángulo de 20° hasta alcanzar el epitelio vaginal en

donde con mucha sutileza se giró suavemente con la finalidad de recolectar muestras de células epiteliales vaginales.

El hisopo con las muestras se extendió en las placas de observación para su fijación, estas se dejaron secar por 5 segundos, para luego sumergirlas en metanol puro para su deshidratación por un lapso de un segundo, inmediatamente volvieron a sumergirse por 5 segundos en un fijador de células (Solución compuesta por metanol - ácido acético 10 % y 90 % respectivamente).

Una vez listas las placas perfectamente identificadas, número del animal y día en que se tomó la muestra fueron trasladadas al laboratorio de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Babahoyo en donde se trabajó con las placas, procediendo a la tinción de las células mediante el método Giemsa Perea (2003), por un tiempo de tres minutos, luego estas placas fueron lavadas con mucho cuidado con agua destilada y colocadas en un sitio para que secan a voluntad Rippe (2009).

Para la observación de las muestras se utilizó un microscopio óptico-electrónico con objetivos de 10 mm y 40 mm contabilizando las primeras 100 células en todos los campos.

Arcilla (2005), clasifica a las células vaginales epiteliales en cinco tipos, que son parabasales, tempranas, medianas, tardías y cornificadas.

La palpación rectal se la realizó observando las recomendaciones para su efecto; de tal manera iniciando con la utilización de guantes ginecológicos debidamente lubricados para evitar el desgarre interno y para no estresar a la hembra bovino, ubicando los cuernos uterinos se procedió la palpación de los ovarios derecho e izquierdo respectivamente, minuciosamente y con mucha sutileza, se ubicaron los folículos determinando su tamaño. Los datos como: fecha de la exploración, número de la vaca, ubicación del ovario (izquierdo o derecho), tamaño folicular pequeño (< 5 mm), mediano (5mm <10 mm) y grande (>10 mm), se registraron en un formato para su efecto.

Cuando una hembra bovino presentaba ovulación se suspendían los trabajos como son toma de muestra para citología vaginal exfoliativa y palpación rectal.

3.8. Diseño Experimental

- Se utilizó Estadística Descriptiva no Paramétrica.

3.9. Manejo de la Investigación

- El estudio se ejecutó mediante el método de citología vaginal exfoliativa durante 84 días consecutivos, considerando cuatro ciclos estrales.
- La determinación del tamaño folicular se realizó mediante el método por palpación rectal.

3.10. Datos Evaluados

- Cuatro ciclos estrales regulares en hembras bovinos.
- Determinación del tipo y cantidad de células epiteliales vaginales de hembras bovino en las diferentes etapas del ciclo estral.
- Determinación del tamaño folicular y su relación con la dominancia de células epiteliales vaginales.

IV. RESULTADOS

4.1. Células epiteliales vaginales parabasales.

Se determinó que el comportamiento de las células epiteliales vaginales parabasales son dominantes en el metaestro 7,17 % comparado con los otros tipos de células, y su porcentaje va en descenso en las siguientes fases estrales a punto de estar ausentes en el estro 4,13 % en donde se aprecia el valor más bajo (Figura 1).

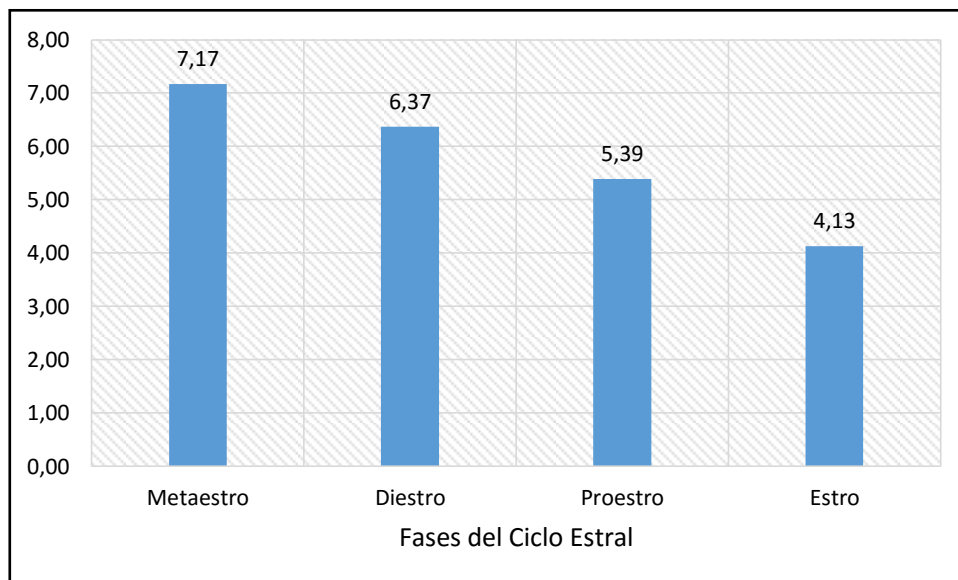


Figura 1. Promedio de células epiteliales vaginales parabasales. Universidad Técnica de Babahoyo, 2015.

4.2. Células epiteliales vaginales tempranas.

Se encontró el mismo patrón de tendencia en las células epiteliales vaginales tempranas con las células epiteliales vaginales parabasales, es decir, que este tipo de células por su tamaño, forma y núcleo representan morfológicamente el primer paso en la muerte celular (Figura 2).

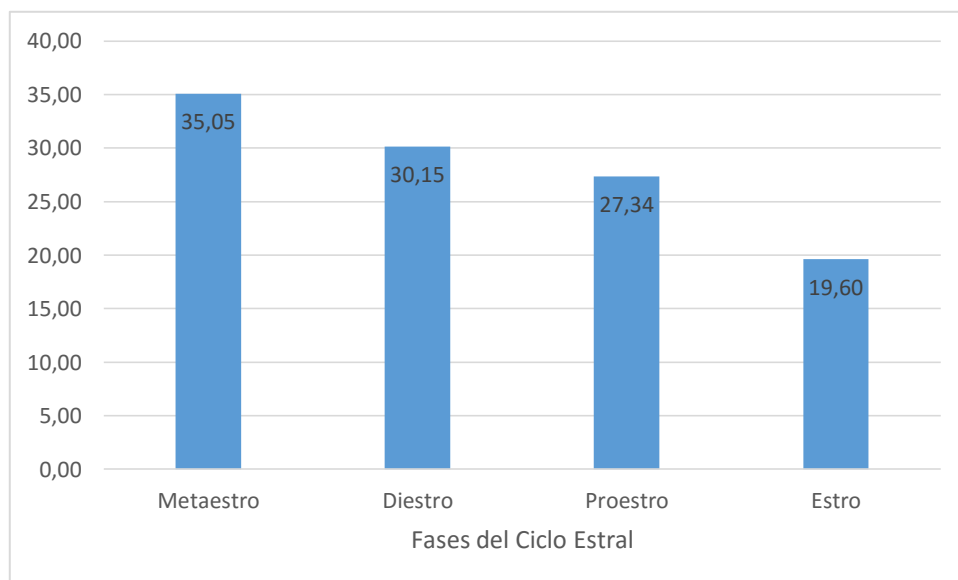


Figura 2. Promedio de células epiteliales vaginales tempranas. Universidad Técnica de Babahoyo, 2015.

4.3. Células epiteliales vaginales medianas.

El promedio de Células epiteliales vaginales medianas (Figura 3), en el metaestro y diestro son altos por efecto de los estrógenos dando inicio a la cornificación justificándose su presencia para remplazar a las células parabasales y tempranas que su presencia va descendiendo.

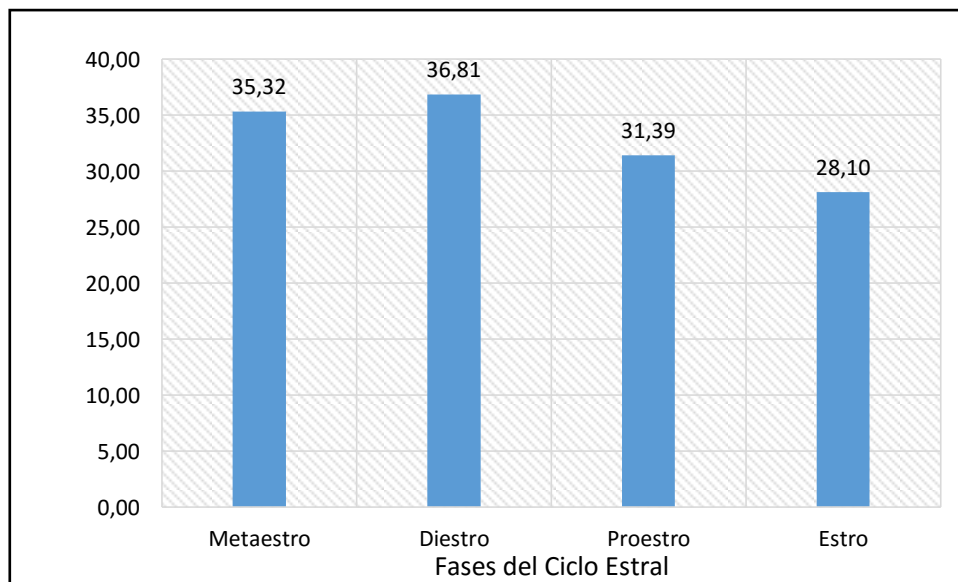


Figura 3. Promedio de células epiteliales vaginales medianas. Universidad Técnica de Babahoyo, 2015.

4.4. Células epiteliales vaginales tardías.

La presencia elevada de células epiteliales tardías en el proestro y estro se justifica por la acción primaria producida por los estrógenos secretado por el folículo dominante en estas fases, así como también un elevado promedio en el metaestro, indicadores del inicio y culminación de un ciclo estral normal en hembras bovino (Figura 4).

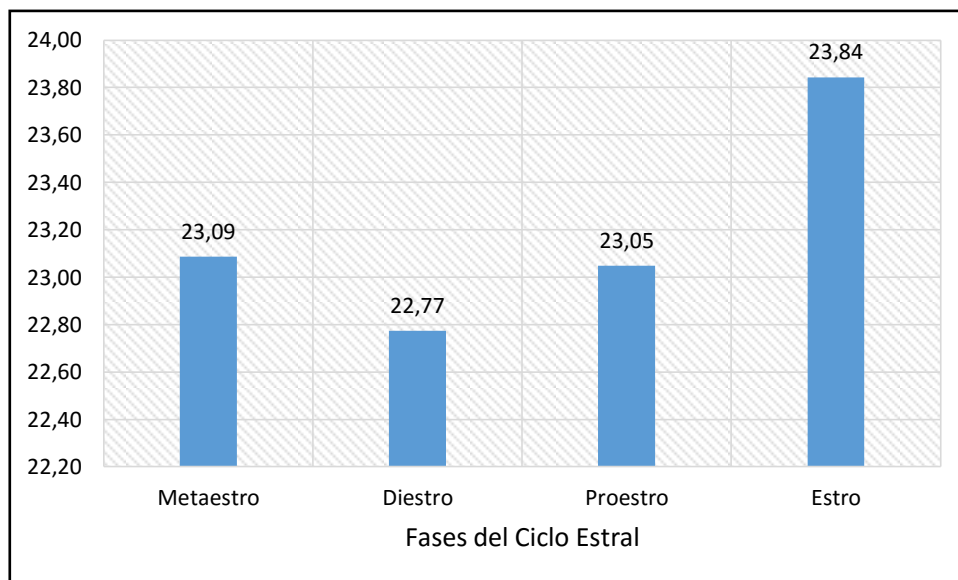


Figura 4. Promedio de células epiteliales vaginales tardías. Universidad Técnica de Babahoyo, 2015.

4.5. Células epiteliales vaginales cornificadas.

El elevado promedio de células epiteliales cornificadas 62,61 % en el estro exime al normal funcionamiento de las células epiteliales vaginales, además es un indicador positivo de ovulación (Figura 5).

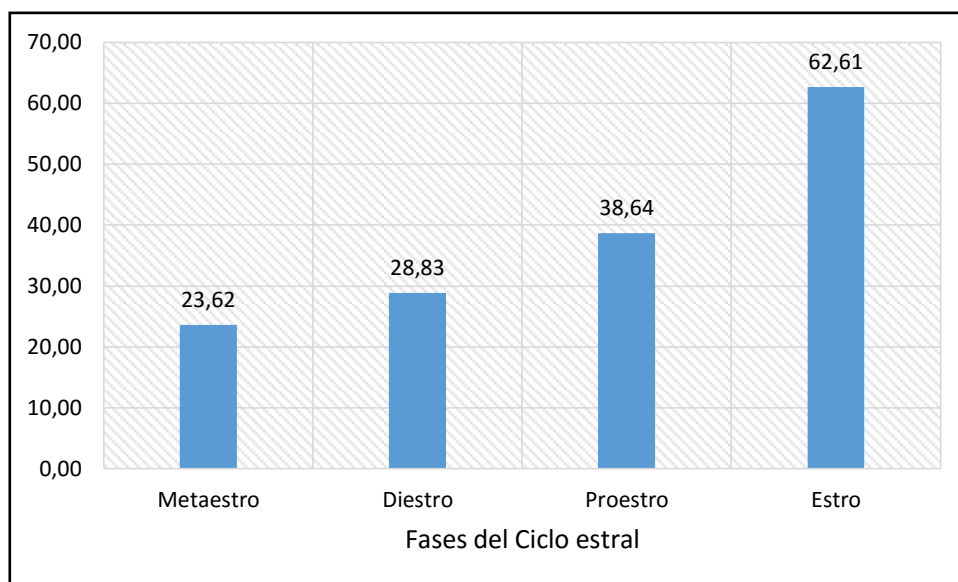


Figura 5. Promedio de células epiteliales vaginales cornificadas. Universidad Técnica de Babahoyo, 2015.

4.6. Promedio del tamaño folicular pequeño relacionado al promedio del tipo de células epiteliales vaginales.

Observando el promedio tamaño folicular pequeño (Figura 6), este se mantiene cuando en la citología vaginal exfoliativa prolifera la presencia de células epiteliales vaginales tempranas y medianas.

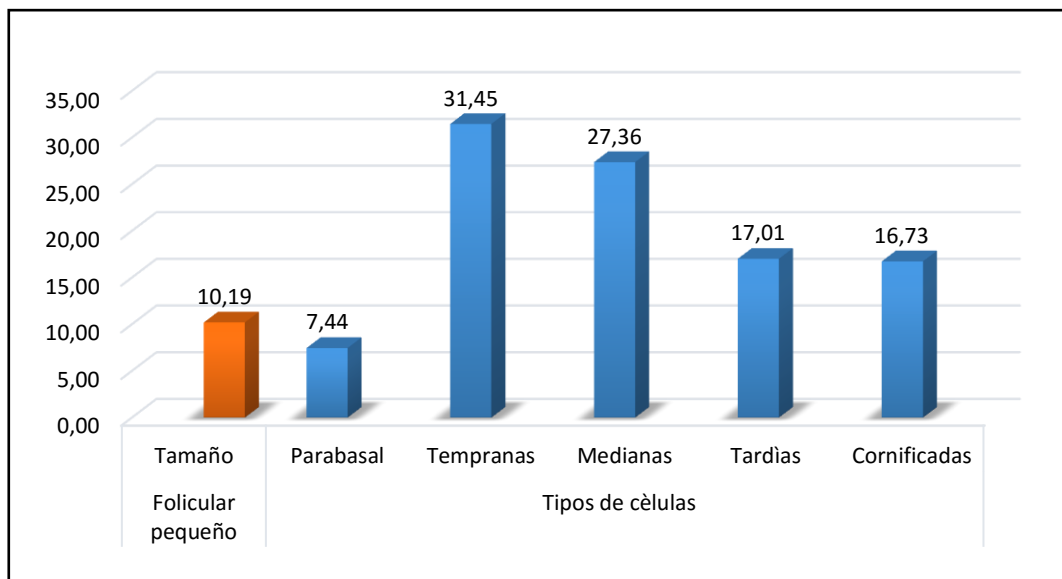


Figura 6. Promedio del tamaño folicular pequeño relacionado al promedio del tipo de células epiteliales vaginales. Universidad Técnica de Babahoyo, 2015.

4.7. Promedio del tamaño folicular mediano relacionado al promedio del tipo de células epiteliales vaginales.

Los promedios al tamaño folicular mediano (Figura 7), son altos debido al crecimiento continuo, en este rango de tamaño folicular mediano las células epiteliales tempranas y medianas tienen un promedio alto. Porque esto ocurre en la fase diestro y proestro por acción de las hormonas FSH, LH durante las ondas de desarrollo folicular.

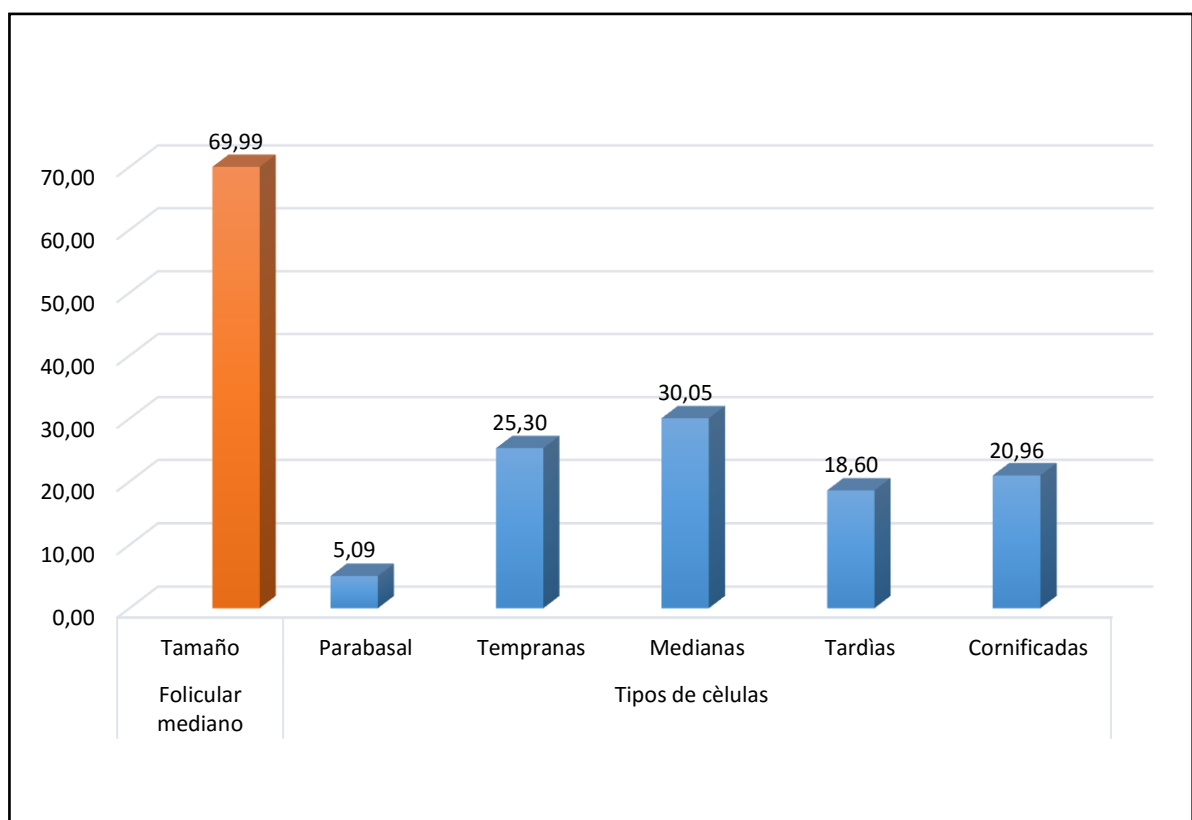


Figura 7. Promedio del tamaño folicular mediano relacionado al promedio del tipo de células epiteliales vaginales. Universidad Técnica de Babahoyo, 2015.

4.8. Promedio del tamaño folicular grande relacionado al promedio del tipo de células epiteliales vaginales.

El promedio del tamaño folicular grande (Figura 8), es menor en relación al tamaño folicular mediano en hembras bovino debido a que la vaca ovula únicamente un folículo el mismo que mediante la palpación rectal es de fácil reconocimiento y ocurre $2\pm$ días en alcanzar la dominancia y tamaño.

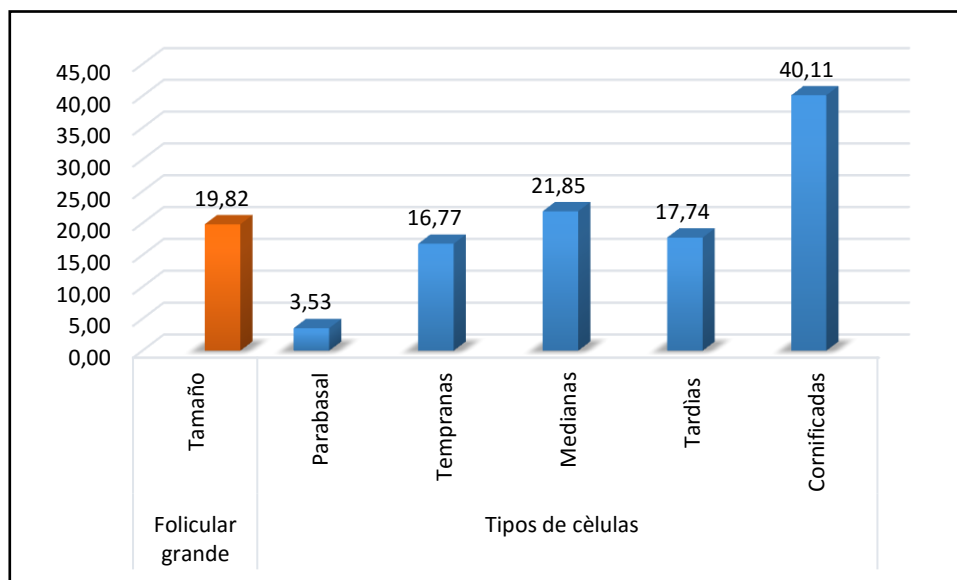


Figura 8. Promedio del tamaño folicular grande relacionado al promedio del tipo de células epiteliales vaginales. Universidad Técnica de Babahoyo, 2015.

V. DISCUSIÓN

El comportamiento de las células epiteliales vaginales parabasales es comprobado que su promedio en los cuatro ciclos estrales es dominante en el metaestro 7,17 % en relación que los otros tipos de células, además este promedio va en descenso al diestro, proestro a punto de estar ausentes en el estro 4,13 % concordando con un trabajo experimental realizado en la Universidad Veracruzana por Lopèz (2010), quien manifiesta que el descenso de este tipo de células alcanza hasta un 2 % en el estro, además Hernández (2005), concuerda que en esta fase se cumple la *apoptosis de este tipo de células epiteliales proceso fisiológico que ocurre en la cavidad vaginal influenciado por los estrógenos durante el proestro y estro cambiando morfológicamente el aspecto de las células epiteliales vaginales.

Los promedios de células epiteliales vaginales tempranas en las cuatro fases del ciclo estral tienen igual comportamiento que células epiteliales vaginales parabasales, su presencia es muy abundante en el metaestro y diestro. Su tamaño, forma y núcleo representan morfológicamente el primer paso en la muerte celular.

El promedio de células epiteliales vaginales medianas, en el metaestro y diestro son altos justificándose su presencia para remplazar a las células parabasales y tempranas, por ser el inicio del diestro citológico, caracterizado por un rápido retorno a la no-cornificación, ocurre 6 días después de la ovulación disminuyendo su porcentaje al estro; porcentajes similares obtenidos en la citología vaginal exfoliativa realizada en hembras bovinos no preñadas ante y post mortem en el Camal municipal de Babahoyo Cortès (2016),

promedios (25,22 y 29,96) respectivamente lo corrobora Stornelli (2006), en citología vaginal exfoliativa realizado en perras donde indica que este tipo de células proliferan en estas fases y son de fácil identificación por ser el doble de tamaño que las parabasales.

La presencia de células epiteliales vaginales tardías 23,84 % es mayor en las fases Estral y Metaestro, disminuyendo su presencia en el Diestro y Proestro indicadores del inicio y culminación de un ciclo estral normal en hembras bovinas.

El elevado promedio de células epiteliales cornificadas en el estro exime al normal funcionamiento de las células epiteliales vaginales, además es un indicador positivo de ovulación, comparando con los trabajos realizados en perras por Arcila (2005), quien describe que la cornificación de las células vaginales progresivamente aumenta en el proestro completándose en el estro, definiéndola citológicamente como la “cornificación completa” con más del 75 %, de igual manera Arcilla (2005), atribuye citológicamente que las células superficiales anucleadas alcanzan más del 80 % y en algunos casos llegan el 100 %, en estro de perras.

Observando el promedio tamaño folicular pequeño se mantiene cuando en la citología vaginal exfoliativa prolifera la presencia de células epiteliales vaginales tempranas y medianas en relación a las otras células, esta etapa identifica las fases de metaestro y diestro que concuerda con un estudio realizado por Iñiguez (2000), en sincronización de celo en bovinos debido a que la primera onda folicular inicia el día 0 inmediatamente después de la ovulación del ciclo anterior.

Los promedios al tamaño folicular mediano son altos debido a crecimiento continuo, en este rango de tamaño folicular mediano, las células epiteliales tempranas y medianas tienen un promedio alto. Porque esto ocurre en las fases diestro y proestro alrededor del día 16 (más o menos 1 día) por acción de la hormona LH y la regresión del cuerpo lúteo permite que el folículo dominante de la segunda o tercera onda folicular alcance la ovulación Rippe (2009).

El promedio del tamaño folicular grande, es menor en relación al tamaño folicular mediano en hembras bovino debido a que la vaca ovula únicamente un folículo el mismo que mediante la palpación rectal es de fácil reconocimiento y ocurre 2 días (más o menos 1 día) en alcanzar la dominancia, el tamaño folicular comienza a aumentar a partir del proestro estimulado por las hormonas FSH y LH. Hafez (2002 b). conjuntamente se presenta la sucesión de transformaciones de las células epiteliales vaginales dando como resultado en este trabajo un 62,61 % de promedio de células vaginales epiteliales cornificadas, Dumon (1989) manifiesta que en esta fase estral las células epiteliales vaginales cornificadas son extremadamente numerosas, este fenómeno inicia la fase ovulatoria precisamente en estro, siempre y cuando no ocurra una atresia folicular.

VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Por los resultados que se obtuvo de este trabajo investigativo se concluye:

1. En estro la presencia de células epiteliales vaginales tardías y cornificadas alcanzan un promedio 23,84 % y 62,61 % respectivamente en relación a las células epiteliales vaginales parabasales (4,13 %), tempranas (19,60 %), y medianas (28,10 %)
2. La relación descriptiva que existe entre la presencia dominante de células cornificadas (40,11 %) y el tamaño folicular grande (19,22 %) es un indicador de estro.
3. La determinación de estro mediante la citología vaginal exfoliativa en hembras bovino conjuntamente con la palpación rectal es eficiente y de bajo costo.
4. El 88,24 % de las vacas mestizas de la ganadería de la Universidad Técnica de Babahoyo presentan una capacidad reproductiva eficiente.

Recomendaciones:

1. La evaluación de estro en hembras bovinos mediante los métodos citología vaginal exfoliativa y palpación rectal es de utilidad para sugerir el momento propicio de monta natural o inseminación artificial.
2. Realizar estudios similares en especies equinas, porcinas, caninas.

VII. RESUMEN

En el presente trabajo investigativo se realizó la identificación de células epiteliales vaginales dominantes presentes en ovulación y en las diferentes fases estrales mediante el método de citología vaginal exfoliativa, acompañados de la palpación rectal, así relacionarlas con el tamaño folicular en 17 hembras bovinos mestizas de la Universidad Técnica de Babahoyo ubicada en el km 7,5 de la vía Babahoyo-Montalvo de la Provincia de Los Ríos, a una altura de 7.5 msnm cuyas coordenadas geográficas es de 79° 32` de longitud oeste y 01° 49` de latitud sur. La zona presenta clima tropical caracterizado por una temperatura media anual de 25 °C, con humedad relativa de 76 % y precipitación de 2791.4 mm/año. El objetivo principal en este trabajo fue mejorar los índices reproductivos en hembras bovinos.

Se utilizaron los métodos de citología vaginal exfoliativa y palpación rectal durante las cuatro fases de ciclo estral y en cuatro celos consecutivos (84 días). La obtención de muestras y palpaciones rectales a las hembras bovinos se las realizó todos los días a las 07:00 horas. Para determinar los resultados se efectuó la estadística descriptiva no paramétrica.

Según los resultados el 88,24 % de las vacas mestizas de la ganadería de la Universidad Técnica de Babahoyo presentan una capacidad reproductiva eficiente además en estro la presencia de células epiteliales vaginales tardías y cornificadas alcanzan un promedio (23,84 y 62,61 %) respectivamente en relación a las células epiteliales vaginales parabasales (4,13 %), tempranas (19,60 %), y medianas (28,10 %) existiendo una relación descriptiva entre la presencia dominante de células epiteliales vaginales cornificadas (40,11 %) y el tamaño folicular grande (19,22 %) es un indicador de estro.

La determinación de estro mediante la citología vaginal exfoliativa en hembras bovino conjuntamente con la palpación rectal en conclusión resulta eficiente y de bajo costo.

VIII. SUMMARY

In the present investigating work came true the identification of epithelial vaginal dominant present cells in ovulation and in the different phases intervening estrales the method of vaginal cytology exfoliativa, accompanied of the rectal palpation, that way relating them 7.5 of the road to the follicular size in 17 bovine females of mixed racial ancestry of the Technical University of Babahoyo located in the km Babahoyo Montalvo of the Province it is whose geographic coordinates of The Rivers, to 7,5 msnm's height of 79 32` de length west and 01 49` de southern latitude. The zone presents tropical climate characterized by a temperature annual mean of 25 C, with relative humidity of 76 % and precipitation of 2791,4 mm year. The principal objective in this work was to get better index them reproductive in bovine females.

Exfoliativa and rectal palpation during the four phases of cycle utilized the methods of vaginal cytology themselves estral and in four consecutive jealousy (84 days). The obtaining of signs and rectal palpaciones to the bovine females accomplished them every day to the 07:00 hours. In order to determine results himself I make the descriptive statistics not parametric.

88.24 % of the cows of mixed racial ancestry of the cattle raising of Babahoyo's Technical University present a reproductive efficient capability besides in estrus according to the results the presence of epithelial vaginal overdue cells and cornificadas attain an average (23.84 and 62.61 %) respectively in relation to the epithelial vaginal cells parabasales (4.13 %), premature (19.60 %), and medians (28.10 %) existing a descriptive relation between the dominant presence of epithelial vaginal cells cornificadas (40.11 %) and the follicular big size (19.22 %) is an indicator of estrus.

The determination of intervening estrus the vaginal cytology exfoliativa in bovine females together with the rectal palpation in conclusion proves to be efficient and of low cost.

IX. LITERATURA CITADA

- Arcilla, V. S. (2005). Estandarización de la citología vaginal exfoliativa correlacionando los niveles séricos de progesterona en perras durante la peri-ovulación. *Revista S peidomus*, 11-12. Obtenido de Investigación.
- Camargo, T. (2011). Diagnóstico de gestación por palpación rectal en bovinos. *Fundación Produce Sinaloa A.C.*, 7-8.
- Cardona, J. M. (2013). Anatomía y Fisiología reproductiva de la Hembra Bovina. *Anatomía y Fisiología reproductiva de la Hembra Bovina*, 2-4.
- Carré, A. (1979). *Diccionario galego-castelán*. Coruña-España.
- Cortès, M. (junio de 2016). Evaluación de la Citología Vaginal como herramienta para determinar el estado del ovario y la condición reproductiva en bovinos ante mortem y post mortem en el matadero municipal de la ciudad de Babahoyo. *Trabajo Experimental*. Babahoyo, Los Ríos , Ecuador.
- Dumon, C. (2013). Frotis vaginales e inseminación en perras. *Revista de AVEPA*. Vol. 9, N° 3, 37-38.

- Duràn, F. (2011). *Manual del Ganadero Actual (Tomo 3)*. Colombia : Grupo Latino Editores Ltda.
- Frankvan, E. (2001). *La relación entre el estro conductual puntuación y el tiempo de la ovulación en el ganado lechero*. Ámsterdam: Elsevier Inc.
- Galvis, R. (2007). Condición corporal, perfil de lipoproteínas y actividad ovárica en vacas Holstein en lactancia temprana. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 18-19.
- Hafez, B. (2002). *Ciclos Reproductivos* . Mexico: Mc Graw-Hill Interamericana Editores S.S. de C.V.
- Hafez, E. (2004). *Reproducción e Inseminación Artificial en Animales* . México D.F.: McGraw Hill Interamericana Editores S.A.
- Hafez, E. H. (2002 b). *Foliculogénesis, maduración del óvulo y ovulación*. México: Mc Graw-Hill Interamericana S.S. de C.V.
- Hernández, M. (2005). Estandarización de la citología vaginal exfoliativa correlacionando los niveles séricos de progesterona en perras durante la peri-ovulación. *Revista Spei Domus*, 9-10.
- Iglesia, N. (2002). Conducta sexual y signos del celo en ganado mestizo. *Revista de Luz*, 420-421.
- Iñiguez F. (2000). Manipulación del Ciclo Estral en ganado bovino. *Virbac al día*, 6.
- López, C. (2010). Aparato Reproductor de la Hembra . *Departamento de Producción Animal y Pasturas Grupo Disciplinario Fisiología y Reproducción*, (págs. 30-49). Cerro Largo-Uruguay .
- Lopèz, J. (julio de 2010). Relación de hallazgos de citología vaginal exfoliativa . *Tesis de grado*. Veracruz, México.
- Perea, J. (2003). Cien años del colorante de Giemsa. *Biomédica*, 12-13.
- Prado, L. G. (2006). La leucorrea vaginal bovina de carácter no inflamatorio y su significación clínica. *Revista Electrónica de Veterinaria REDVET*, 7.

- Ramirez, F. D. (SF). *MANUAL DEL GANADERO ACTUAL (TOMO 3)*. COLOMBIA: GRUPO LATINO EDITORES Ltda.
- Rippe, C. (2009). El Ciclo Estral. *Dairy Cattle Reproduction Conferen* (págs. 111-115). Minneapolis: Servicios Técnicos, ABS Global Inc.
- Sandoval, J. A., Alcàzar, A. H., & Vergara, J. (lunes de Agosto de 2011). *CONDICIÓN CORPORAL: INDICADOR DEL ESTADO NUTRICIONAL Y CAPACIDAD REPRODUCTIVA DE LA HEMBRA BOVINA*. Obtenido de CARTILLA 8: http://www.ibepa.org/docs/docscienciagro/ganaderia_ecologica/CARTILLA8.pdf
- Stornelli, M. (2006). Citología Vaginal en caninos: Metodología y aplicaciones clínicas. *Veterinaria Cuyana*, 18.
- Urdaneta, R. O. (2011). Uso de la Técnica de Inseminación Artificial en Bovinos. *FONAIAP DIVULGA No. 17*, 1-2.
- Víctor H. Arcila Q.* Mvz, C. A.-N. (2005). Estandarización de la citología vaginal exfoliativa correlacionando los niveles séricos de progesterona en perras durante la peri-ovulación. *REVISTA SPEIDOMUS*, 9-16.

ANEXOS



Figura 8. Método palpación rectal aplicado para determinar del tamaño folicular.Universidad Técnica de Babahoyo, 2015.



Figura 9. Toma de muestras para citología vaginal.Universidad Técnica de Babahoyo, 2015



Figura 10. Citología vaginal exfoliativa. Universidad Técnica de Babahoyo, 2015

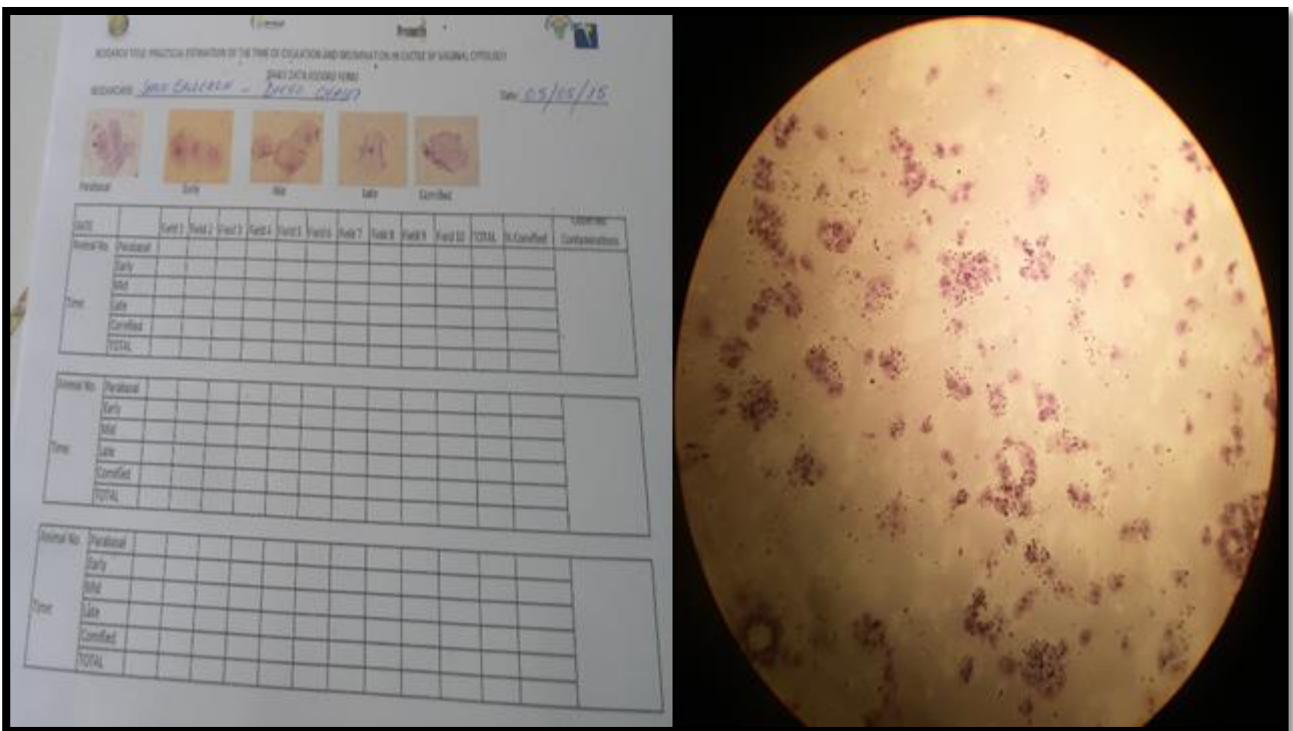


Figura 11. Hoja de registro de la Citología vaginal exfoliativa y muestras de células cornificadas. Universidad Técnica de Babahoyo, 2015

