

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE AGRONOMIA



SUPEROVULACION, SINCRONIZACION, COLECCION E
IDENTIFICACION DE EMBRIONES EN BOVINOS
LECHEROS

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
INGENIERO AGRONOMO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A

SERGIO ALBERTO GONZALEZ TREVIÑO

MARIN, N. L.

MAYO DE 1985.

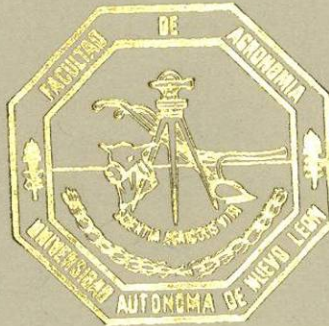
046.36
FA 10
1985
C.5

F
SF 203
G6
C. 1



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE AGRONOMIA



SUPEROVULACION, SINCRONIZACION, COLECCION E
IDENTIFICACION DE EMBRIONES EN BOVINOS
LECHEROS

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
INGENIERO AGRONOMO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A

SERGIO ALBERTO GONZALEZ TREVIÑO

MARIN, N. L.

MAYO DE 1985.

6541

EM

T
SF203
66

040.636
FA 0
1985
C.5



Biblioteca Central
Magna Solidaridad

F. tesis



BU Raúl Rangel Fdez
UANL
FONDO
TESIS LICENCIATURA

SUPEROVULACION, SINCRONIZACION, COLECCION E
IDENTIFICACION DE EMBRIONES EN BOVINOS LECHEROS.

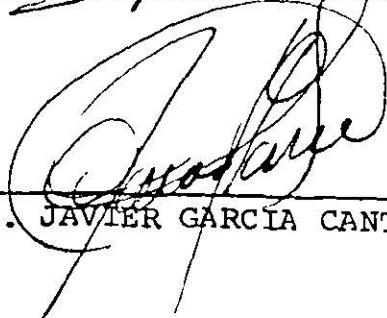
TESIS QUE PRESENTA, SERGIO ALBERTO GONZALEZ TREVIÑO,
COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TITULO DE
INGENIERO AGRONOMO ZOOTECNISTA.

COMISION REVISORA

ASESOR PRINCIPAL:


M.V.Z. JAVIER COLLIN NEGRETE

ASESOR AUXILIAR:


Ph.D. JAVIER GARCIA CANTU

FECHA: MAYO DE 1985.

A MIS PADRES:

ING. MARIO GONZALEZ GONZALEZ

SRA. PURA TREVIÑO DE GONZALEZ

Cuyo ejemplo de valor, constancia,
tenacidad y amor fueron guía del
sendero que he trazado en mi vida.

A MIS HERMANOS:

MARIO y NYDIA

Los cuales junto conmigo conformamos un equipo que busca ganar la armonía familiar.

A MIS ABUELOS:

ING. FARAON TREVIÑO PEÑA

SRA. CONSUELO DE LOS SANTOS
DE TREVIÑO.

Que son el tronco grande y
fuerte que soporta con amor
las ramas que forman una
familia unida.

A MI ESPOSA:

SRA. DORA ALICIA GARZA DE GONZALEZ

Gracias por darme lo más grande de
mi vida. TU AMOR.

A MIS PADRES POLITICOS:

SR. JOSE GARZA CHAPA

SRA. MA. ELENA LOPEZ DE GARZA

Gracias por haberme facilitado y
apoyado en la realización de mi
profesión y la de hombre, al con-
cederme a mi esposa.

A TODOS MIS FAMILIARES.

A MIS ASESORES:

M.V.Z. JAVIER COLIN NEGRETE

Ph.D. JAVIER GARCIA CANTU

Por su valiosa orientación y
conducción del presente trabajo.

A LA ING. MA. ELENA CONTRERAS M.

Por su desinteresada cooperación
en la realización de este trabajo.

POR AQUELLOS DIAS INOLVIDABLES

A MIS COMPAÑEROS Y AMIGOS.

GRACIAS A TODAS LAS PERSONAS QUE
DE ALGUNA FORMA CONTRIBUYERON Y
APOYARON LA REALIZACION DE ESTE
TRABAJO.

AL SR. JUAN FCO. GARNICA Z.

GRACIAS POR SU CONTRIBUCION.

I N D I C E

PAGINA

INTRODUCCION.....	1
LITERATURA REVISADA.....	2
Trasplante de embriones.....	2
Función reproductiva de la vaca.....	3
Períodos del ciclo estrual.....	4
Ovulación y formación del cuerpo lúteo.....	6
Técnicas de superovulación.....	8
Acción de prostaglandinas.....	15
Otros efectos de las prostaglandinas.....	18
Técnicas de extracción de embriones.....	19
Técnicas de clasificación y evaluación de em- briones.....	24
Técnicas de transferencia de embriones.....	28
MATERIALES.....	36
METODOS.....	38
RESULTADOS Y DISCUSION.....	47
CONCLUSIONES.....	52
RECOMENDACIONES.....	53

PAGINA

RESUMEN.....

54

BIBLIOGRAFIA.....

57

INDICE DE FIGURAS Y CUADROS

FIGURA		PAGINA
1	Ciclos ováricos, endometrial y vaginal en la vaca.....	12
2	Cambios hormonales cíclicos en la vaca..	13
3	Morfológicos (A) y endocrinológicos (B), eventos del ciclo estrual de la vaca....	14
4	Embriones normales y anormales.....	26
5	Esquema de la intensificación de la reproducción del ganado vacuno con ayuda del trasplante ovular y su significación en la producción ganadera.....	32
6	Lavado laparo-transcervical. Método quirúrgico.....	33
7	Recolección de embriones. Método no quirúrgico.....	34
8	Esquema de lavado no quirúrgico.....	45
9	Utilización del catéter de Foley para extraer el óvulo desde el útero por medios no quirúrgicos.....	46
CUADRO		
1	Rasgos diferenciales y cambios experimentales en la cría bovina desde la concepción hasta 45 días.....	25

CUADRO		PAGINA
2	Ventajas del transplante ovular en la práctica ganadera.....	29
3	Medio Dulbecco modificado por Elsdén para 1,000 ml. de solución.....	35
4	Datos de las donadoras.....	39
5	Programa de superovulación y sincronización para donadoras.....	40
6	Programa general a seguir para una vaca donadora: A) Acondicionamiento, B) Superovulación, C) Sincronización, D) Inseminación, e) Lavado y recolección.	41
7	Concentración de datos.....	48
8	Porcentaje de embriones de acuerdo al número de cuerpos lúteos por vaca tratada.....	49

INTRODUCCION

La transferencia de embriones es en la actualidad una de las técnicas más modernas y avanzadas en el campo de la reproducción animal y su principal finalidad es aprovechar el potencial genético de las hembras sobresalientes. Obteniendo de ellas el máximo número de crías de alto valor genético.

Las nuevas técnicas de superovulación, unidas a la inseminación artificial y a la transferencia de embriones, permitirán en el futuro aumentar la producción de leche y carne y mejorar la calidad del ganado. Además, estos adelantos podrían ser aplicados a otras especies. En México ya se realiza con éxito el transplante de embriones en bovinos.

Esta técnica presenta un interés científico y económico. En el plano científico permite analizar más íntimamente los problemas fisiológicos, bioquímicos, genéticos e inmunológicos de la reproducción; favorece el estudio del desarrollo embrionario antes y después de la implantación de los embriones, y las interacciones entre el medio y el genotipo. Su importancia en el plano zootécnico no es menor ya que debe conducir a utilizar al máximo las hembras de alta calidad, así mismo como la inseminación artificial ya que permite explotar y difundir el valor de los reproductores machos de alta calidad genética (Derivaux, 1976).

LITERATURA REVISADA

Trasplante de embriones

Definición:

Es el acto de recuperar cigotos de una hembra de alta calidad genética (donadora) y transferirlos al tracto reproductor de hembras genéticamente inferiores (receptoras) para su gestación y subsecuente nacimiento (Carmichael, 1977).

Ventajas:

Entre las más importantes podemos mencionar las siguientes:

- 1) Aumentar su descendencia más allá de su capacidad natural de reproducción.
- 2) Incrementar los nacimientos de becerros por medio de la inducción al cuateo (Anderson, 1978 y Boland et al. 1978).
- 3) Conservar embriones congelados (Bilton, 1977 y Willadsen et al., 1978).
- 4) Mejorar genéticamente en el aprovechamiento del potencial de producción de óvulos de las hembras (Johansson, 1972).
- 5) Transportar el material genético sin importar distancias (Johansson, 1972).

- 6) Utilizar aquellas vacas que no estan en condiciones de llevar a cabo una gestación y sin embargo, son de buena calidad genética (Carmichael, 1977).
- 7) La Técnica no Quirúrgica permite colectar los embriones en el rancho e implantarlos en las receptoras sin la necesidad de la asepcia que se requiere en una intervención quirúrgica (Johansson, 1972).
- 8) Contribuir al aumento de la población de razas nuevas (Hafez, 1974).

Desventajas:

- 1) Al aplicar tratamientos de compuestos hormonales a los animales, un 60% de estos presentan anestro (Andrade, 1980).
- 2) Los tratamientos con gonadotropinas pueden afectar la fertilidad.
- 3) Se necesita personal capacitado y diestro para realizar la práctica.

Función reproductiva de la vaca

La función reproductiva de la vaca comienza con la pubertad y en las hembras se define como la edad en la que se observa el primer estro con ovulación. A ésta no se le debe considerar como madurez sexual.

La edad y el peso a la pubertad son afectados por factores genéticos; esto se puede observar al comparar las especies a las razas dentro de una especie.

Períodos del ciclo estrual

Los períodos del ciclo estrual son el pro-estro, el estro, el metaestro y el diestro. Estos períodos ocurren de manera cíclica y secuencial, excepto por los períodos de anestro (ausencia de ciclos) en animales estacionales como la oveja y la yegua, así como el anestro de la preñez y del período post-parto en la mayoría de las especies.

Pro-estro:

El pro-estro empieza con la regresión del cuerpo lúteo y la caída de los niveles de progesterona y se prolonga hasta el inicio del estro. La principal característica que distingue al pro-estro es el rápido crecimiento folicular. Los efectos de los estrógenos se pueden observar en la parte final de este período en el sistema de conductos y en el comportamiento de acercamiento al estro.

Estro:

El estro se define como el período en que la hembra es receptiva al macho y aceptará la cópula. En la vaca el estro dura de 12 a 18 horas; al igual que en el ciclo estrual, se

observan variaciones considerables entre individuos. Las vacas también tienen períodos de estro más cortos en climas calientes (10-12 hrs) que las 18 hs promedio en los climas fríos. La ovulación está asociada con el estro y ocurre de 10-15 hs después del estro en la vaca. El día del estro es el primer día del ciclo estrual de la vaca.

Metaestro:

El período del metaestro empieza al finalizar el estro y dura alrededor de 3 días. En un período de formación del cuerpo lúteo (ovulación con cuerpos lúteos múltiples), sin embargo, en las vacas la ovulación ocurre en este período y también ocurre un fenómeno conocido como sangrado del metaestro, que aparece en el 90% de todos los metaestros de vaquillas y en 45% de vacas maduras al finalizar el pro-estro y en el estro. Las grandes concentraciones de estrógenos incrementan la vascularidad del endometrio, y ésta se hace máxima aproximadamente un día después del estro. Al disminuir los niveles de estrógenos puede haber ruptura de vasos sanguíneos capilares, lo que causa una pequeña pérdida de san-gre.

Diestro:

El diestro se caracteriza como el período del ciclo

donde el cuerpo lúteo es totalmente funcional. En la vaca empieza el día 5 del ciclo, cuando se puede detectar por primera vez una gran concentración de progesterona en sangre y termina con la regresión del cuerpo lúteo el día 16 ó 17 del ciclo. Se le conoce como período de preparación del útero para la preñez (Hendriks, 1978).

Ovulación y formación del cuerpo lúteo

Al tiempo en que el folículo ovárico aumenta de volumen, debido principalmente al líquido que se forma en su interior, éste ejerce presión sobre la túnica albugínea, con la consecuencia de abultamiento y reducción del grosor de la pared ovárica de manera comparable a un absceso que emerge de la piel hasta reventar. En el caso del ovario salen proyectados el líquido y el óvulo que caen en el oviducto; esto completa el proceso de ovulación. Las células granulosas que tapizan la cavidad folicular comienzan a multiplicarse bajo el influjo de la LH (Hormona Luteinizante). De esta sucesión resulta que cada folículo que se rompe queda reemplazado por un cuerpo lúteo (Frandsen, 1976).

Desde el punto de vista moderno, ésta teoría tiene una significación relativa, ya que se sabe que la presión intrafolicular antes de la ovulación disminuye esencialmente y

además se ha comprobado que el proceso de la ovulación implica cambios preparativos hormonales, celulares, bioquímicos y neuromusculares.

La FSH (Hormona Folículo Estimulante) estimula las mitosis de la granulosa induciendo la sensibilización de las células para la LH (Hormona Luteinizante) por el aumento numérico de los LH receptores preparándose de esta manera la luteinización.

Por los estímulos gonadotrópicos hay aumento de la irrigación sanguínea, hay aumento y cambios de la secreción de esteroides los cuales provocan edema por la estimulación de las colágenas de la cavidad folicular. Por el crecimiento del folículo aumentan los niveles de $\text{PGF}_2\alpha$ y PGE_2 (Prostaglandinas) que alcanzan los niveles máximos inmediatamente antes de la ovulación, para esto el estigma ya se ha formado.

Las prostaglandinas activan los lisosomas que romperán la cima folicular (estigma) y provocarán contracciones ováricas y foliculares que darán como consecuencia final la ruptura folicular y la expulsión del ovocito.

En la vaca, pequeños rumiantes, equinos y perra, la ovulación es espontánea, lo que significa que se realiza sin co

pulación.

En la vaca el ovario derecho tiene mayor frecuencia ovulatoria ($\approx 60\%$) que el izquierdo, probablemente sea por la presencia del rumen cerca del ovario izquierdo que puede paralizar la función del mismo por presión directa o por provocar insuficiencia circulatoria (Holy, 1983).

Técnicas de superovulación

Un requerimiento de la transferencia de embriones es tener hembras que nos abastezcan varios óvulos fecundados genéticamente superiores (Hafez, 1974).

El interés del método de trasplante se basa en la explotación del potencial genético del animal donante; siendo el objetivo fundamental el de incrementar el número de ovulaciones fértiles o normales por donadora (Derivaux, 1976; Foote, 1970).

Numerosos trabajos, algunos de los cuales ya son antiguos, han demostrado que las hormonas Gonadotrópicas son capaces de provocar la liberación de un número más o menos elevado de óvulos fertilizados.

Usualmente el primer paso para el tratamiento de superovulación es el tratar a las donadoras con Gonadotropina de

suero de yegua preñada u hormonas estimulantes de los folículos, para inducir a la superovulación, aunque es posible la recuperación de un sólo óvulo.

El tratamiento superovulatorio es comenzando generalmente entre los 9 y 11 días después del estro. Dos o tres días después de Prostaglandina $PGF_2\alpha$. Algo análogo como el Cloprostenol es inyectado para que lise (destrucción de células por acción de lisinas) el cuerpo lúteo (Seidel, 1980).

Varios estudios se han desarrollado con diferentes técnicas para la superovulación; entre estos tenemos los siguientes:

Bellow et al., mencionados por Foote y Onuma (1970) obtuvieron buena respuesta superovulatoria cuando suministraron 25 mg de FSH (Hormona Folículo Estimulante) a vaquillas que fueron sincronizadas con Medroxiprogesterona, dándoles 2.5 mg de FSH dos veces al día durante los días 8-12 del ciclo, siendo el promedio de ovulaciones de 14.6 por animal con 86% óvulos fértiles.

Sreenan y Diskin (1980) mencionaron en uno de sus trabajos de inducción doble, superovulación para 12 vacas dando FSH (Hormona Folículo Estimulante) más LH (Hormona Luteinizante) y PMSG (Gonadotropina de suero de yegua preñada), la

taza de ovulación promedio fue de 17.0 y 14.1 respectivamente y el porcentaje de animales teniendo una tasa de ovulación entre 6 y 20 fueron 84 y 60.

En otros experimentos realizados por Kudlac et al., (1981) dividieron a un grupo de vacas en tres tratamientos, el primer grupo se le suministró 2000 U.I. de suero de Gonadotropina; al segundo grupo con 2500 U.I. y al tercero con 3000 U.I. además con 500 mg de $\text{PGF}_2\alpha$ (Dinoprost-trometamina) sintética dadas 24, 48 y 60 horas después; obteniendo la mejor respuesta del grupo # 3 dando 3000 U.I. de suero de Gonadotropina en 48 horas subsecuentes; respondiendo al tratamiento el 9.7 del total de las vacas, y el número de cuerpos lúteos por vaca en porciento fue de 9.6, siendo para los otros de 3.3 y 10.9%.

Testart (1979) menciona en sus trabajos que 55 vacas que fueron superovuladas por medio de PMSG (Gonadotropina suero de yegua preñada) y $\text{PGF}_2\alpha$ (Dinoprost-trometamina), recolectó 257 embriones de un total de 562 ovulaciones. 21 vacas fueron sujetas a repetir la superovulación y la colección de embriones.

Guerra (1979) en su trabajo realizado sobre trasplante de embriones, encontró resultados satisfactorios al suministro

trar complejos hormonales FSH (Hormona Folículo Estimulante) y LH (Hormona Luteinizante) en relación 5:1. El número de cuerpos lúteos encontrados por palpación rectal y mayores de 10 mm fue de 56 en 5 vacas tratadas.

Becze et al., (1980) realizaron una serie de tres experimentos con vacas de 3-6 años de edad, las cuales fueron tratadas con 3000 U.I. de PMSG (Gonadotropina suero de yegua preñada) seguida 30 horas después por 30 mg de $\text{PGF}_2\alpha$ (Dinoprost-trometamina) y fueron inseminadas los días 3 y 4 después de la administración de PMSG. El tratamiento inició el día 10 de su ciclo en 10 vacas, el cual fue el experimento No. 1, en el experimento No. 2 se inició en los otros 7 y 14 días de su ciclo con 20 vacas y en el experimento No. 3 de acuerdo al estado de los ovarios. En el primer experimento 4 vacas exhibieron superovulación (6-16 cuerpos lúteos), en el segundo experimento 9 vacas exhibieron superovulación (5-18 cuerpos lúteos); en el tercer experimento las 12 seleccionadas como donantes apropiadas tuvieron 9-12 cuerpos lúteos cada una, mientras que las 8 juzgadas no apropiadas tuvieron 0-8 cuerpos lúteos.

Guillen (1981) utilizó extracto hormonal purificado de Folículo Estimulante (FSH) y Luteinizante (LH) y como sincronizador fue utilizado $\text{PGF}_2\alpha$ (Dinoprost-trometamina) en 7 hem

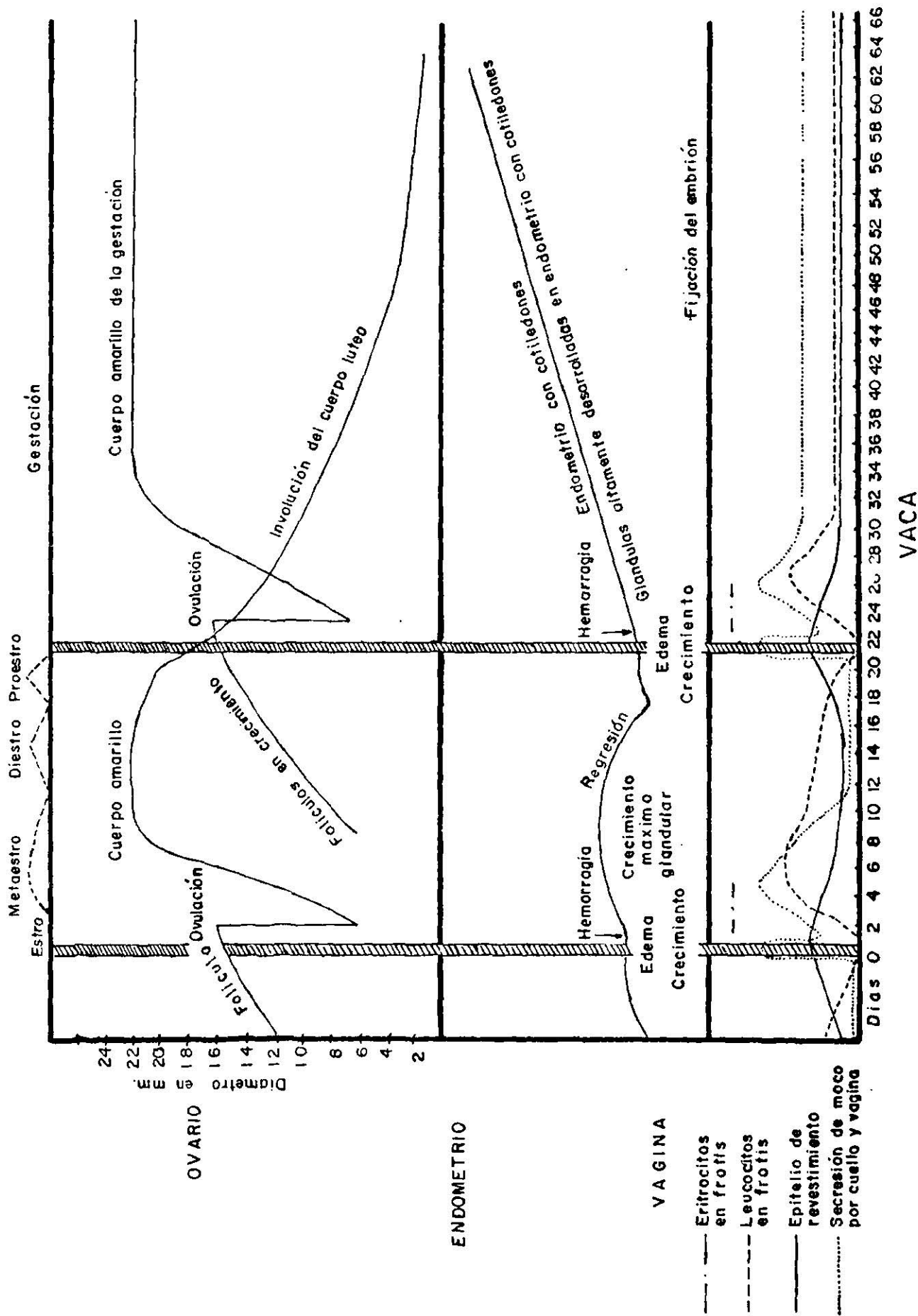


FIGURA 1.- Ciclos ovárico, endometrial y vaginal en la vaca. (Dukes: The Physiology of domestic Animals, Cortesía de Comstock Pub. Assoc. citado por Mc Donald, 1978).

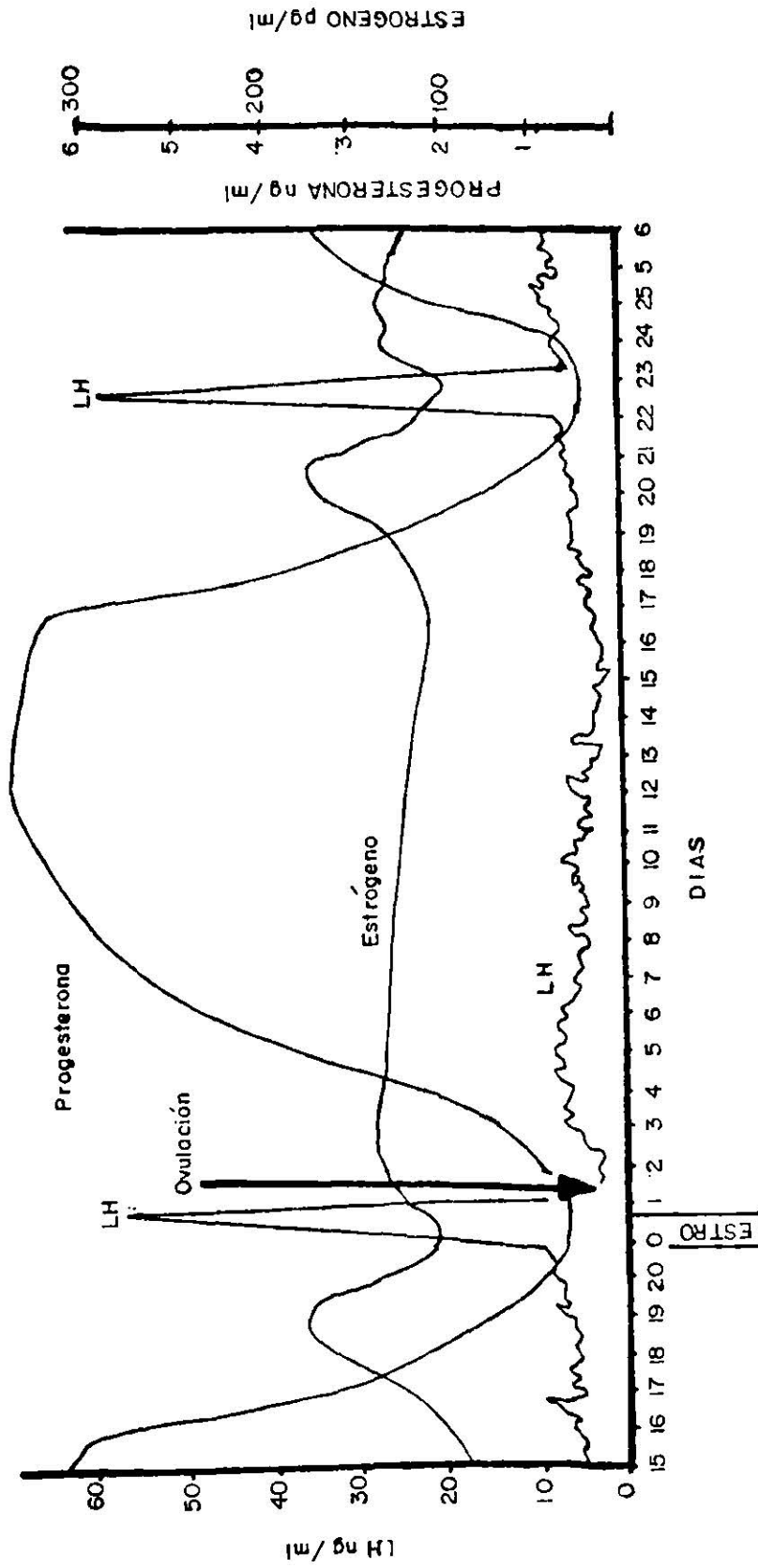


FIGURA 2.- Cambios hormonales cíclicos en la vaca.
Fuente: Mc Donald, 1978.

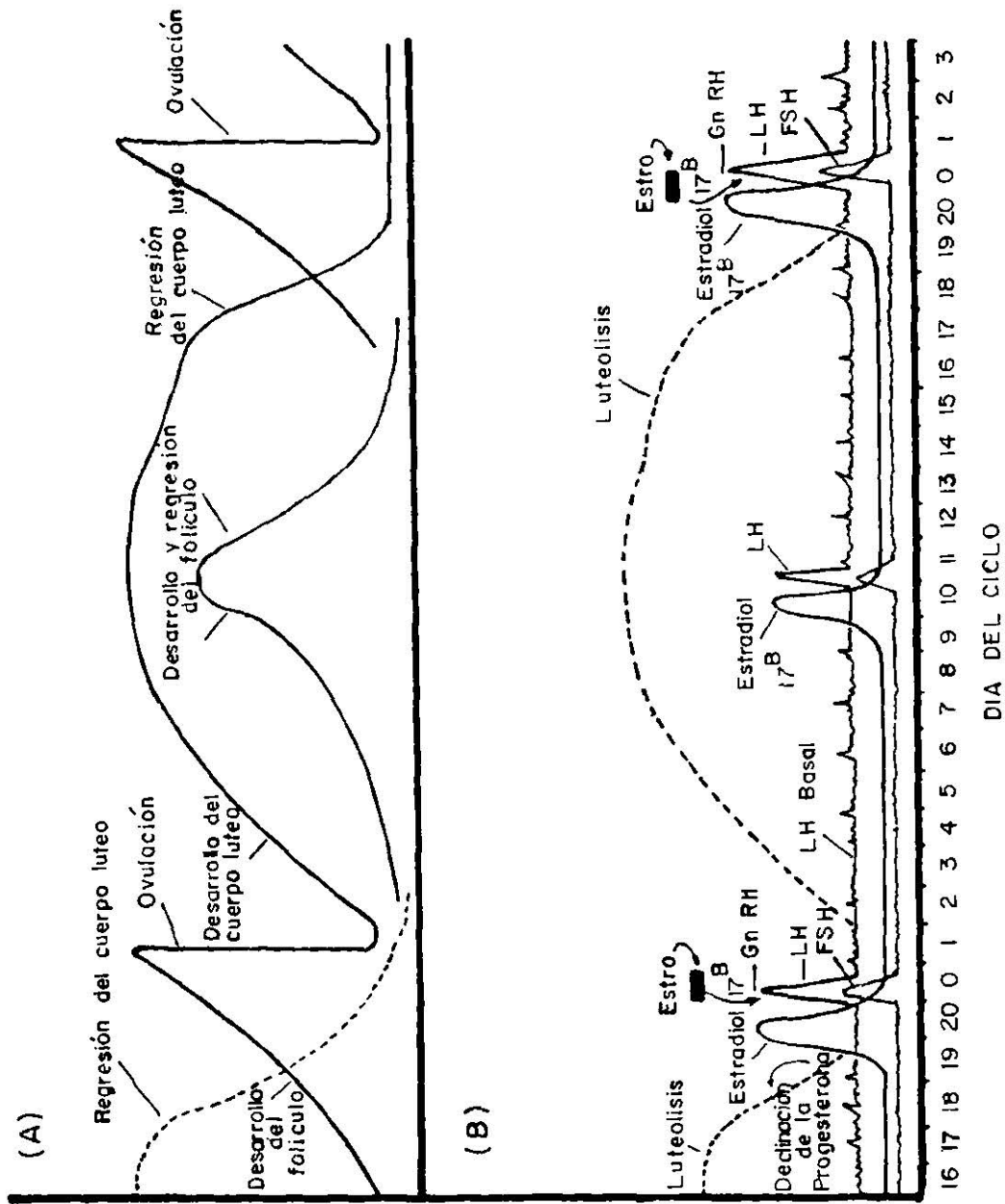


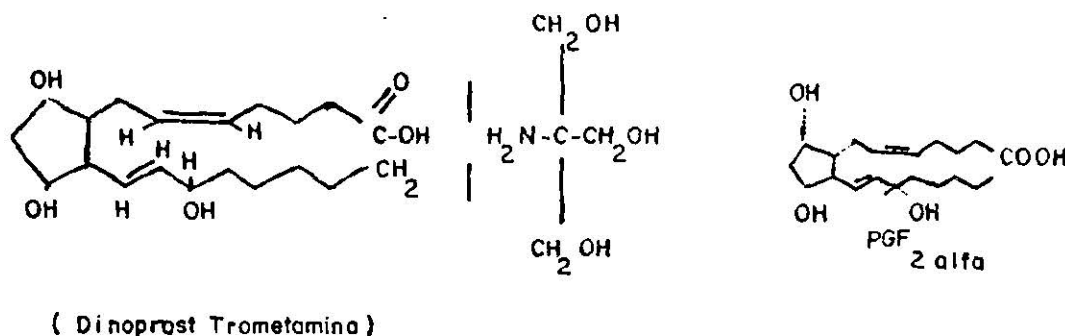
FIGURA 3.- Morfológicos (A) y endocrinológicos (B), eventos del ciclo estural de la vaca.

Fuente: Cole and Cupps, 1977.

bras bovinas de la raza Holstein de diversas edades. Para el efecto, la administración de hormonas se inició el décimo día después de presentarse en celo por 5 días seguidos con una relación 5:1 empezando el primer día con 5 mg de FSH (Hormona Folículo Estimulante) y LH (Hormona Luteinizante) por la mañana y tarde y al doceavo día después de presentarse el celo, se suministró 30 mg de $\text{PGF}_2\alpha$ (Dinoprost-trometamina) en la mañana y 15 mg por la tarde. El número de cuerpos lúteos fue de 71 en total, dando un promedio de 10.14; con respecto a la recuperación del medio del lavado uterino se obtuvo un 87.6%. El número de óvulos fecundados e identificados fue de 33, dando un promedio de 4.7 embriones por vaca. El número de embriones normales fue de 18 y anormales 15.

Acción de prostaglandinas

Definición.- Estas son ácidos grasos de 20 carbonos que se producen en todos los tejidos del organismo y actúan en el lugar de producción. Además son el resultado de un ácido graso común, el ácido Araquidónico el cual al metabolizarse en los tejidos es transformado por complejos enzimáticos en prostaglandinas. Ocurre en casi todos los músculos del cuerpo, pero en particular la $\text{PGF}_2\alpha$ se sintetiza en los músculos del útero. La Dinoprost-trometamina es un análogo de la $\text{PGF}_2\alpha$



Función de la $\text{PGF}_2\alpha$ (Dinoprost-trometamina):

La habilidad de reducir el flujo de sangre al cuerpo lúteo, debiéndose supuestamente a un efecto vaso-constructor que corta o disminuye considerablemente el abastecimiento del ovario causando la regresión del cuerpo lúteo. También puede alterar la esteroidogénesis, ya sea directamente o a través de bloquear la disponibilidad del precursor o interferir con las proteínas transportadoras de gonadotropina por las células lúteas. Uno de los productos que debido a su efecto luteolítico se ha desarrollado como sincronizador del estro en bovinos de la Prostaglandina $\text{F}_2\alpha$ (Dinoprost-trometamina) (Hansel et al., 1976).

Anderson, citado por Rundell (1971) determinó que el compuesto usado para la sincronización del celo debe de reu-

nir ciertos requisitos:

- 1) Controlar el estro y la ovulación cuando sea administrado a diferentes etapas del ciclo estrual.
- 2) Que sea efectiva a una dosis precisa, produciendo resultados predecibles.
- 3) Que sincronice el estro y la ovulación con efectividad.
- 4) Que no perjudique la fertilidad.
- 5) Que permita un ambiente uterino adecuado para la implantación.
- 6) Que no interfiera con el potencial reproductivo futuro.

En estudios realizados por Guerra (1979) y Bermúdez (1979) utilizando $\text{PGF}_2\alpha$ (Dinoprost-trometamina) en dosis de 45 mg en el día 12 del ciclo estrual de un grupo de vacas, mostraron un promedio de inicio de celo a las 20 horas después de la aplicación.

La prostaglandina $\text{F}_2\alpha$ (Dinoprost-trometamina) tiene efecto si es administrada en los días 6 al 16 del ciclo estrual, lo que indica que solo actúa cuando la vaca tiene cuerpo lúteo funcional (Holy, 1983).

Louis et al., citados por Andrade (1980) encontraron una rápida disminución del cuerpo lúteo y de nivel de progesterona en el suero sanguíneo, después de la aplicación intramuscular de Prostaglandina $F_2\alpha$ (Dinoprost-trometamina).

Andrade (1980) realizó un experimento con $PGF_2\alpha$ (Dinoprost-trometamina) suministrándola a un grupo de vacas de diferentes edades, dos dosis de 25 mg por vía intramuscular con un intervalo entre dosis de 11 días, el 75% entró en celo a las 80 horas de la segunda dosis y las restantes presentaron un promedio a los 7.3 días.

Otros efectos de las prostaglandinas

La prostaglandina $F_2\alpha$ induce al aborto por su habilidad de contraer el músculo liso. La dosis requerida para inducir el aborto varía considerablemente con el estado de gestación (Hansel et al., 1976).

En un experimento realizado para inducir al parto en vacas, se encontró problema de retención de placenta cuando se redujo el parto a los 270 días. Sugiriéndose inducirlo en casos cuando la gestación es afectada por situaciones tales como fetos momificados o macerados, hidropecia amniótica, etc. (Hansel et al., 1976).

Por otra parte, Abbit et al., (1976) efectuaron una in-

vestigación sobre el efecto de la prostaglandina $F_2\alpha$ sobre la motilidad de los espermatozoides de bovinos, indicando que es necesario realizar más investigaciones para determinar si su adición mejora su motilidad.

Técnicas de extracción de embriones

Dentro de éste aspecto existen varias técnicas de recuperación de embriones, pero solo son tres los básicos, los cuales son:

1. El sacrificio
2. El método quirúrgico
3. El lavado por arrastre o no quirúrgico

El método de sacrificio, es un método que se ha dejado atrás porque es el que menos conviene, ya que han salido nuevas técnicas y con más ventajas. La desventaja de este método es que nada más una vez se recuperan los embriones ya que el animal es sacrificado.

En el método quirúrgico, las donadoras son incididas en pared lateral o ventral para dejar al descubierto el útero y poderlo lavar, esta alternativa trae como consecuencia problemas infecciosos por manejo y a su vez pérdidas irreparables.

Y por último, el método de lavado por arrastre o no quirúrgico es el que tiene más ventajas, ya que se puede lavar a la hembra repetidas veces en un año, no causa problemas de infección, es de fácil manejo, se puede hacer a nivel de campo, y no causa ningún disturbio al animal.

El procedimiento de lavado por arrastre o no quirúrgico es descrito a continuación: (Elsden, 1977).

1º La vaca debe estar en ayunas y sin beber agua a menos de que esté lactando por 24 horas antes de la extracción.

2º Se sujeta o introduce a una prensa de preferencia con la parte delantera del cuerpo más elevada.

3º Se puede aplicar anestesia epidural para evitar molestias en el animal, para reducir el forcejeo y hacer una palpación más fácil en la manipulación del útero.

4º Se ata la cola para que no entorpezcan sus movimientos; después se procede a sacar las heces del recto.

5º La zona perineal es rasurada y desinfectada, limpiando primero con una solución de yodo, luego enjuagando con alcohol.

6º Se hace la palpación de los ovarios con suavidad para hacer la determinación de cuántos cuerpos lúteos se han formado y así saber el número de óvulos desprendidos.

7º Para arrastrar hacia afuera los óvulos se utiliza un líquido extractor de composición similar a la del fluído que naturalmente los baña durante el comienzo de la preñez. La botella que contiene el líquido se conecta a una sonda de Foley, que es un tubo de caucho que permite la entrada del líquido al cuerno y luego su salida con los posibles óvulos en suspensión. De las tres vías de la sonda de Foley, dos conductos sirven para la entrada y salida por separado del medio de lavado y el tercero sirve para inflar con aire un globo situado en el extremo, para fijar la sonda al cuerno y sellar el mismo para realizar el lavado.

8º Cuando el cigoto debe ser extraído, que es una semana después del estro, el cuello o cérvix se encuentra firmemente cerrado y debe forzarse con mucho cuidado la entrada de la sonda al útero. Esto se logra utilizando un expansor o dilatador de acero inoxidable bien esterilizado.

9º Para introducir la sonda esterilizada por el cuello dilatado por el expansor, se le presta rigidez por medio de una varilla de metal y se introduce hasta que la punta pene-

tre en el cuerpo uterino que se requiere lavar. Con el globo de la sonda a la altura del sitio donde se palpa la unión de los cuernos, luego se retira el soporte o guía de metal y se procede a inflar lentamente el balón con unos 20 ml de aire cuando se trata de una vaquilla y con unos 25-30 ml cuando es una vaca adulta.

10º Conectar el conducto de la sonda para la entrada del líquido con la botella que lo contiene, se levanta esta alrededor de un metro por encima del campo operatorio (para darle presión por gravedad) y se dirige la descarga de la sonda al recipiente colector. Al comenzar hay que dejar correr una pequeña cantidad del fluido a través del sistema para descubrir cualquier obstrucción y para remover mocos o sangre que si se mezcla con el colector más tarde, dificultarían la localización del óvulo por medio del microscopio.

11º El cuerno uterino se llena con un volumen de líquido equivalente a una preñez de 45 días (60-80 ml), se cierra el tubo de descarga de la sonda y se masajea suavemente a partir de la punta del cuerno a través de la pared del recto. Al abrir el conducto de salida el líquido se recoge en un recipiente colector. El procedimiento se repite hasta agotar un litro del medio de lavado.

12° El fluido de los lavados se coloca en una incubadora a 27°C y se deja reposar por 30 minutos para que los óvulos se vayan al fondo. Luego para buscarlos bajo el microscopio se vierten porciones de líquido en pomos especiales de vidrio con fondo curvo. Ambos cuernos son lavados separadamente (Abbit et al., 1976).

13° Una vez finalizado el lavado y como medida de prevención, se inunda el útero con una solución de penicilina y estreptomicina para evitar infecciones.

Kudlac et al., (1981) realizaron un estudio donde la recuperación de embriones fue transcervical al ovario con una recuperación de 53.8% y el uso de un catéter largo de dos vías fue de 53.8% y de un catéter corto fue de 36.4%. El uso de 250 ml de solución Dulbecco resultó en un 66.1% en recuperación y un rango de 36.7, 50.7, 57.9% para volúmenes menor de 100, 100-199 y 200-250 ml respectivamente.

El TCM-199 ha sido usado por varios autores recientemente, obteniendo buenos resultados, ya que este medio viene preparado con 10% de suero de becerro inactivo y una mezcla de gas conteniendo 5% de CO₂; 90% de H₂ y 5% de O₂. Los embriones con este medio se pueden mantener a temperatura de 27°C hasta dos días; además este medio ya contiene antibióti

cos (Testart et al., 1975).

Otro medio utilizado para el lavado por arrastre de cuernos uterinos es el medio de Dulbeccos modificado por Elsdén (1977). (Hendriks, 1978).

Técnicas de clasificación y evaluación de embriones

Los datos sobre la rapidez de la segmentación y el transporte del óvulo fecundado de la vaca, varían y parece que dependen del propio individuo.

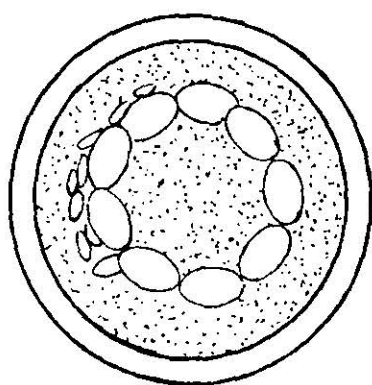
Los óvulos diblastoméricos, por ejemplo, se encuentran uno o dos días después de la ovulación; individuos con seis blastómeros después de dos días; con ocho blastómeros después de dos a cinco días. El óvulo necesita hasta dos días para atravesar la parte craneal del oviducto (ampolla) permaneciendo casi tres días en la zona del istmo de la trompa de Falopio.

En algunos casos el óvulo puede alcanzar el útero en el estado de 16 blastómeros (Bonadonna, 1957, citado por Holy, 1983), pero lo más frecuente es que llegue al útero en estado mórula (32-36 blastómeros). En general, el óvulo fecundado de la vaca alcanza el útero después de los cuatro días post-ovulatorios.

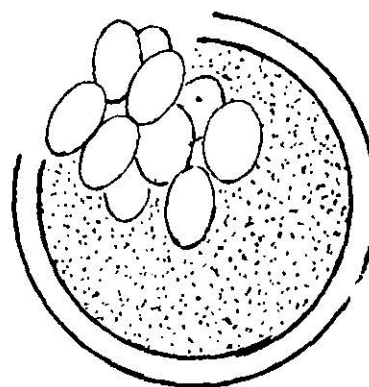
CUADRO 1.- Rasgos diferenciales y cambios experimentales en la cría bovina desde la concepción hasta 45 días. (Salisbury y Vandemark, 1961; Salisbury et al., 1978).

Período	Edad (días)	Modificaciones
Ovulo 0-12 días	4	El cigoto llega al útero, fase de 8 - 16 células.
	7	Empieza la formación de la blástula.
	8-9	Disolución de la zona pelúcida.
	12	Débil adherencia superficial del cigoto a la pared uterina.
Embrión 13-45 días	14	Formación de las hojas blastodérmicas.

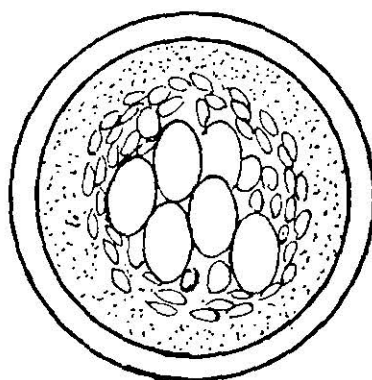
Fuente: Holy, 1983.



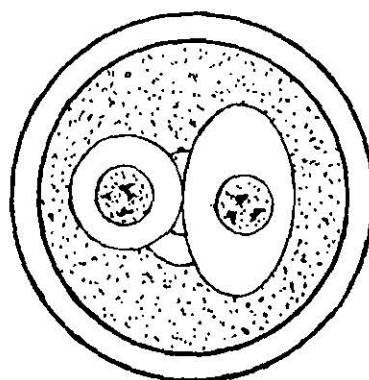
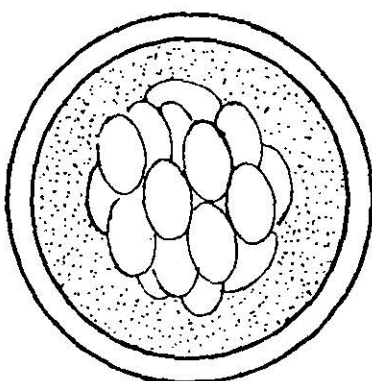
BLASTULA NORMAL



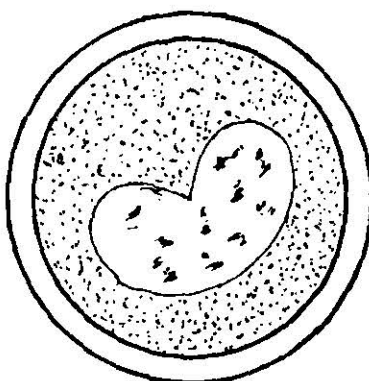
ZONA PELUCIDA ROTA



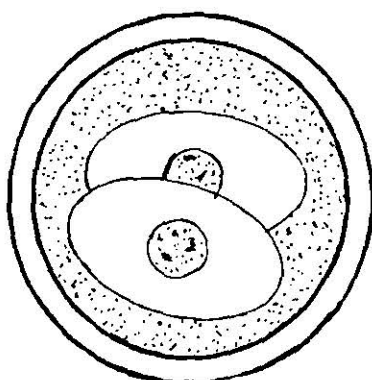
MORULA NORMAL

BLASTOMEROS DESIGUALES
(CONTRATIEMPO)

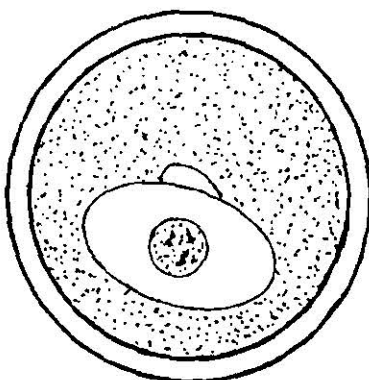
NORMAL 16 CELULAS



DESHIDRATADO (ARRUGADO)



NORMAL 2 CELULAS



IMPAR

FIGURA 4.- Embriones normales y anormales
Fuente: Sorensen, 1979.

Los blastómeros multiplicándose y aumentando el tamaño del cigoto forman un corpúsculo policelular, sin cavidad, llamado mórula. Todas las células de la mórula no tienen el mismo tamaño, ni carácter; algunas son más grandes y otras más pequeñas, acumulándose cada tipo, dentro de la mórula en distinto lugar. En un polo de la mórula se acumulan las células pequeñas, que se dividen más rápidamente que el otro polo, las células de mayor tamaño, reproduciéndose más lentamente, de manera que ya en el estado de mórula se realiza la diferenciación celular formándose las células embrionarias (base del propio embrión) y las extraembrionarias (las más pequeñas) que dan origen a las membranas placentarias. En el vacuno el cigoto alcanza el estado de mórula entre los 5 y 6 días en el momento o un poco después de entrar en la cavidad uterina.

El progreso de la diferenciación de las células embrionarias y extraembrionarias dentro de la blástula, se realiza de modo que las células más pequeñas se sitúan en la periferia del blastoquiste y forman la base del trofoblasto; las grandes se concentran bajo el trofoblasto; en una pequeña área, formando el módulo germinativo como base del embrión. Desde el punto de vista de la existencia del embrión, el trofoblasto tiene un papel muy importante, ya que a través de

el se realiza el metabolismo del embrión en los primeros períodos de su desarrollo.

La formación del blastoquiste en la vaca, se inicia a los 7 días y se termina cerca del día 12 de la vida embrionaria. Durante los primeros doce días el embrión conserva la forma del cigoto, representando la fase ovular del desarrollo embrionario (Salisbury y Vandemary, 1961, 1978, citados por Johansson, 1972).

Técnicas de transferencia de embriones

La transferencia de embriones se realiza en base a dos métodos: Quirúrgico y no Quirúrgico sobre las hembras receptoras previamente sincronizadas.

Método Quirúrgico:

El método quirúrgico que se efectúa por laparotomía para exponer el aparato reproductor (incidiendo el flanco o por la línea media abdominal), se colocan unas pinzas cerca de la punta del cuerno uterino para forzar el líquido de la punta del cuerno uterino a través del oviducto al ovario. Este líquido transporta al óvulo y se colecta en el infundíbulo. El procedimiento permite la recuperación de un alto porcentaje de óvulos, pero debido al traumatismo quirúrgico y a las adherencias resultantes, solo se puede repetir unas

CUADRO 2.-Ventajas del trasplante ovular en la práctica ganadera (Gordon, 1975).

- 1.- Los terneros nacidos de las madres de razas nativas se encuentran inmunes contra las enfermedades locales a través de los animales receptores.
- 2.- Control del sexo de los terneros.
- 3.- Producción de los terneros idénticos para las tareas experimentales.
- 4.- Multiplicación de las hembras genéticamente superiores con la posibilidad de la titulación de la descendencia.
- 5.- Producción de los terneros a través del trasplante de los blastómeros aislados.
- 6.- Producción de la descendencia a partir de terneras prematuras.
- 7.- Posibilidad de la transmisión de los óvulos o embriones a largas distancias.
- 8.- Posibilidad de la conservación del embrión por largo tiempo.
- 9.- Producción de gemelos y posibilidad de gemelos mixtos por la transplatación suplementaria de los embriones de la raza de carne a las razas de leche.

pocas veces más. Las adhesiones hacen difícil si no es que imposible exponer al aparato reproductor repetidas veces.

No Quirúrgico:

Se han desarrollado técnicas de recuperación no quirúrgicas para la vaca y la yegua, que proporcionan resultados esencialmente iguales a los del método quirúrgico. Estas incluyen el uso de un catéter de Foley (catéter de doble flujo) el cual permite el paso de los líquidos de lavado hacia el útero y al mismo tiempo permite su retorno a un receptáculo receptor (Figura 7). También se coloca un pequeño balón cerca del final del catéter; este se puede inflar exactamente dentro del cérvix para prevenir que escapen los líquidos de lavado a través del cérvix. Con este método es prácticamente imposible determinar los sitios de ovulación que se encuentran presentes en el ovario, por lo que no es posible decidir el momento en que todos los óvulos se hayan colectado. En experimentos controlados, aproximadamente el 50% de los óvulos superovulados se recuperan tanto con el procedimiento quirúrgico como con el no quirúrgico. Los líquidos empleados para el lavado del óvulo deben ser compatibles con las especies comprendidas. En vacas y cerdas, se puede utilizar un medio comercial de cultivo de tejidos; es necesario agregar 1000 U.I. de penicilina y 500 - 1000 mg de estrepto-

micina por ml. de medio, para reducir las posibilidades de infecciones en la vaca donadora, así como la transmisión de infecciones a la vaca receptora (Bearden et al., 1982).

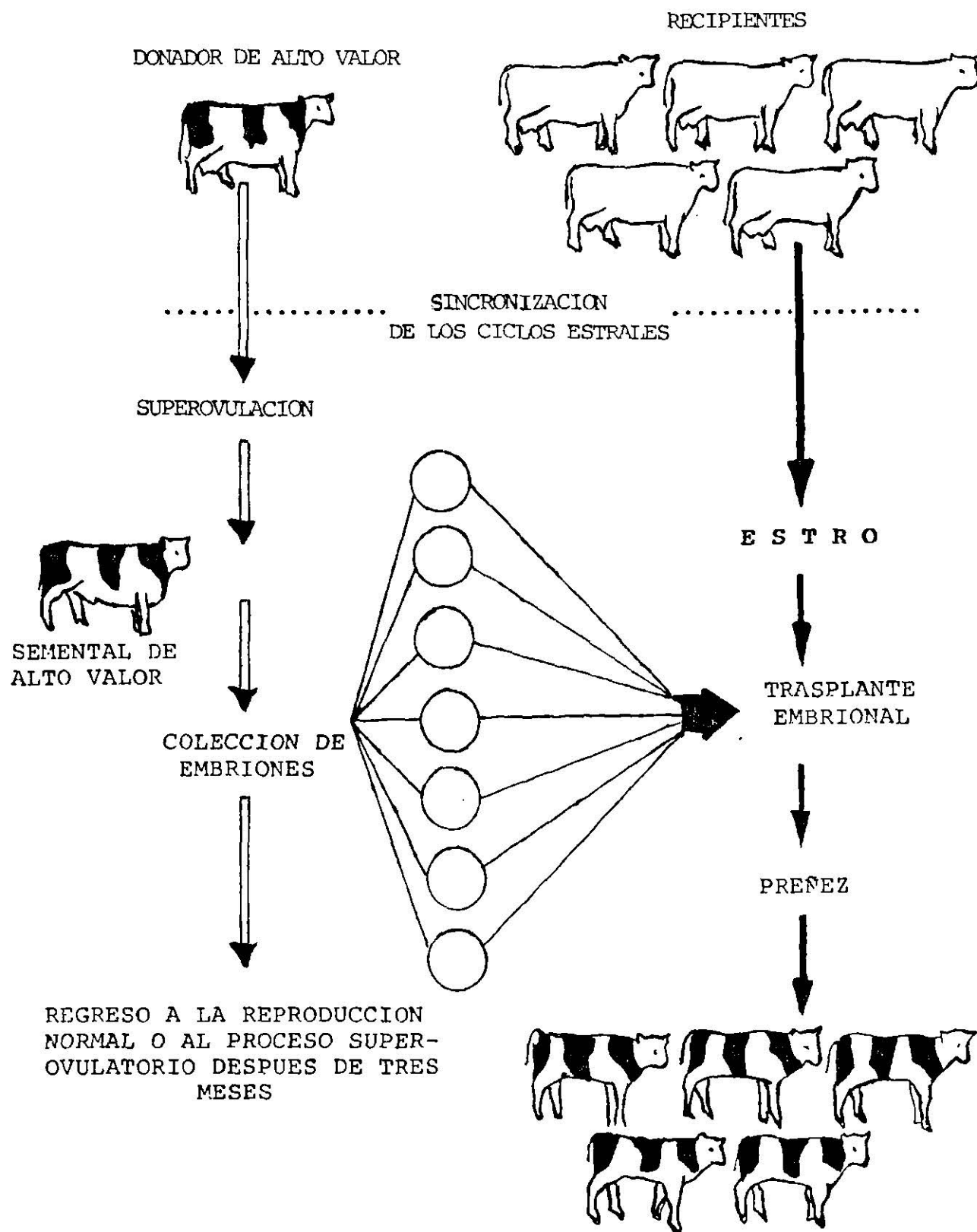


FIGURA 5.- Esquema de la intensificación de la reproducción del ganado vacuno con ayuda del trasplante ovular y su significación en la producción ganadera.
Fuente: Holy, 1983.

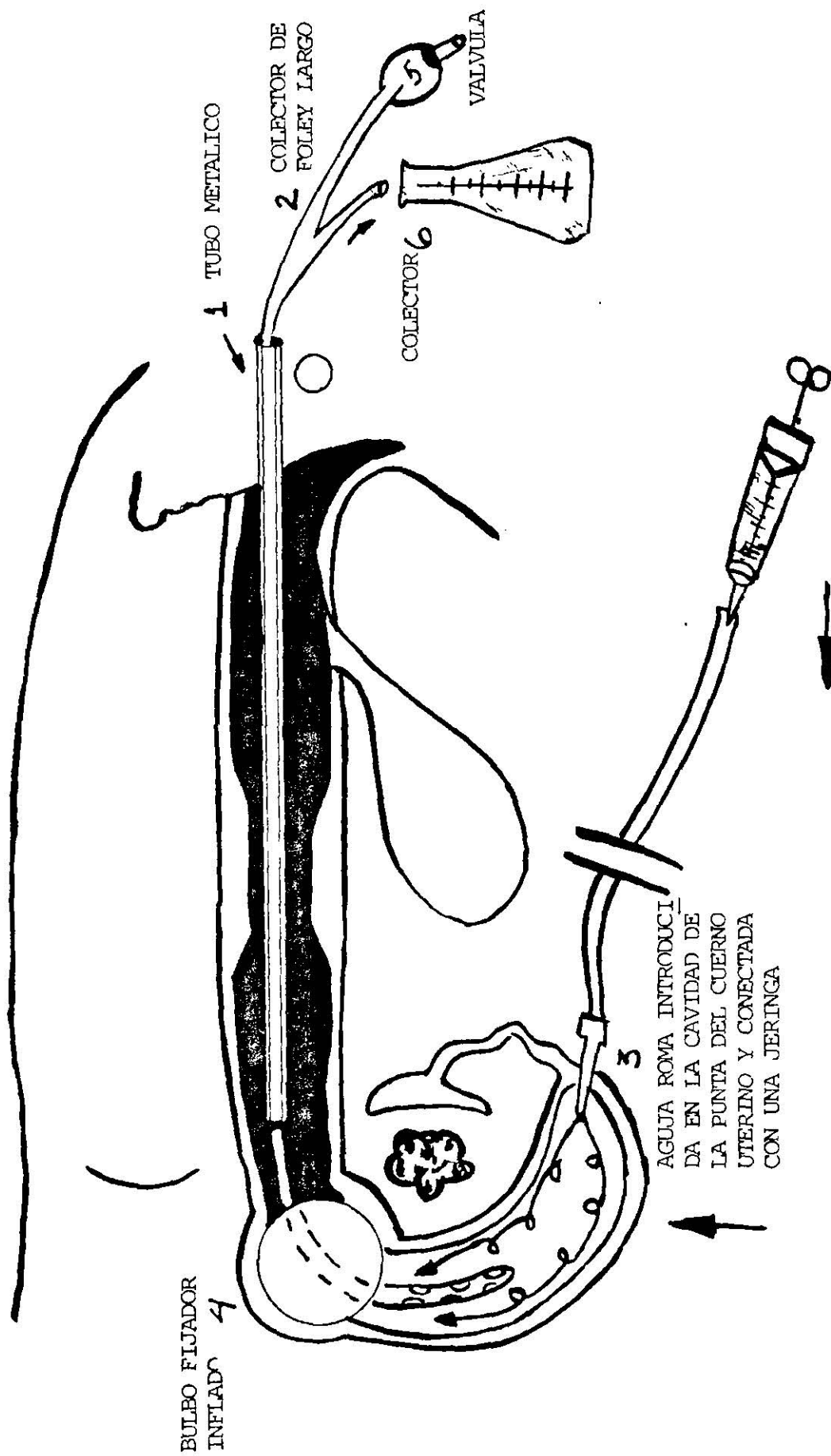
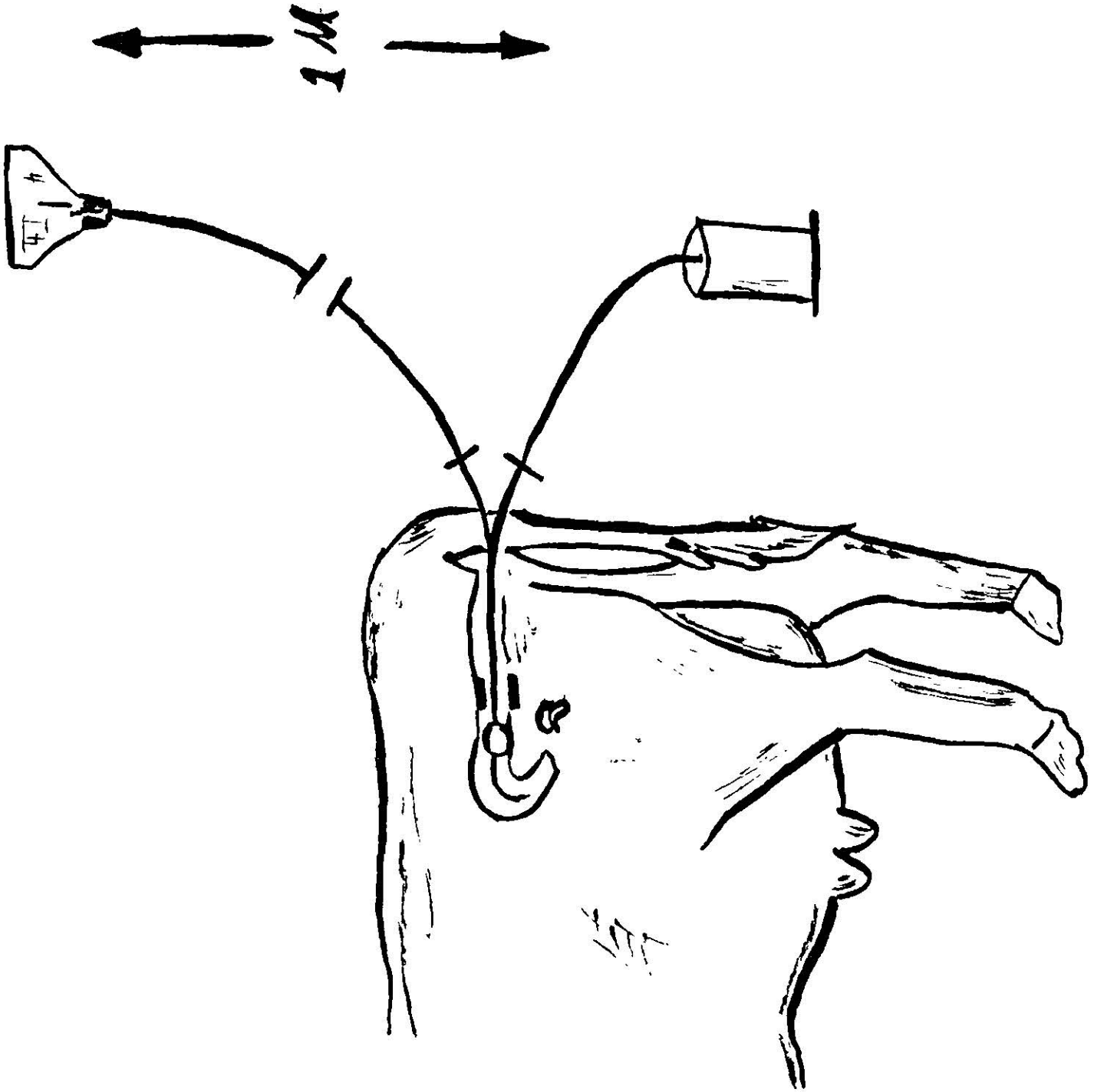


FIGURA 6.- Lavado laparo-transcervical. Método quirúrgico.
Fuente: Holy, 1983.



EL LIQUIDO DEL LAVADO SE COLOCA UN METRO POR ENCIMA DEL UTERO RECOLECCIONANDOSE EN EL CILINDRO CERRADO.

FIGURA 7.- Recolección de embriones. Método no quirúrgico. Sistema cerrado según Elsdén (1980). Fuente: Holy, 1983.

CUADRO 3.- Medio Dulbecco modificado por Elsdén para 1,000 ml de solución.

Compuestos	Cantidad
Cloruro de calcio (CaCl_2)	0.1 gr.
Cloruro de magnesio exahidratado ($\text{Mg Cl}_2 \cdot 6\text{HO}$)	0.1 gr.
Cloruro de sodio (NaCl)	8.0 gr.
Cloruro de potasio (KCl)	0.2 gr.
Difosfato de sodio (NaH_2PO_4)	1.15 gr.
Fosfato de potasio (KH_2PO_4)	0.2 gr.
Glucosa	1.0 gr.
Piruvato de sodio	0.036 gr.
Penicilina G sódica	100,000 U.I.
Suero de bovino tinalizado	10 ml.

Fuente: Guillen, 1979.

MATERIALES

Material utilizado en este trabajo:

- 1) Probeta de 1,000 ml.
- 2) Caja de Petri con divisiones.
- 3) Jeringas de 60, 35, 12, 3 y 1 ml.
- 4) Pinzas hemostáticas.
- 5) Sonda de Foley de triple vía # 18.
- 6) Estilete metálico.
- 7) Dilatadores cervicales de acero inoxidable de diferentes calibres.
- 8) Guantes desechables.
- 9) Guantes de cirujano de latex.
- 10) Agujas hipodérmicas.
- 11) Vasos de precipitados de 1,000, 500, 250 y 100 ml.
- 12) Solución salina estéril.
- 13) Lubricante KY
- 14) Conecciones de tres vías.
- 15) Mangueras de plástico flexible.
- 16) Baño María.
- 17) Tijeras.
- 18) Microscopio.
- 19) Termómetro para líquidos.

- 20) Pipeta Pasteur.
- 21) Pajillas.
- 22) F.S.H. (Hormona Folículo Estimulante).
- 23) Lutalyse.
- 24) Yodo.
- 25) Alcohol.
- 26) Suero de becerro tindalizado.
- 27) Penicilina G. Sódica.
- 28) Antibiótico.
- 29) Cipionato de Estradiol (ECP).
- 30) Clorhidrato de Promazina (CDP).
- 31) Solución Dulbecco.
- 32) Agua desmineralizada.

METODOS

El presente trabajo se llevó a cabo en el establo de ganado lechero del Campo Experimental Agropecuario "El Canadá" de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León, localizado en la Ex-Hacienda El Canadá, Municipio de General Escobedo, Nuevo León, iniciándose el 20 de Enero y dándose por terminado el 6 de Marzo de 1985.

Para este trabajo se utilizaron 2 hembras bovinas de la raza Holstein de diferentes edades de quinta y sexta lactancia y aptas para la reproducción. Dichas vacas fueron revisadas por medio de palpación rectal antes del tratamiento hormonal para seleccionarlas como donadoras.

Se hizo la observación directa de un ciclo estrual normal para después iniciar el tratamiento a partir del décimo día de su ciclo para inducir a la superovulación; anteriormente a partir del sexto día del ciclo se les aplicó Fósforo y Vitamina "A" por vía intramuscular durante cuatro días.

Para el tratamiento de superovulación se utilizó un complejo hormonal, la hormona Folículo Estimulante (FSH). Dosis aplicadas cada 12 horas suministrándose por vía intravenosa por cinco días (Cuadro 5).

CUADRO 4.- Datos de las donadoras.

VACA #	RAZA	FECHA NACIMIENTO	PROCEDENCIA	PADRE	MADRE	LACTANCIA	FECHA ULTIMO PARTO
1 (4)	Holstein	9 Febrero/79	U.A.N.L.	Top Conand H2588 ABS	55 Negro	5ta.	15 Diciembre/84
2 (190)	Holstein	23 Agosto/77	U.A.N.L.	Toro Melón Campo Exp.	21 Blanco	6ta.	13 Enero/85

CUADRO 6.- Programa general a seguir para una vaca donadora: A) Acondicionamiento, B) Superovulación, C) Sincronización, D) Inseminación, E) Lavado y recolección.

1*	2	3	4	5	6
Fósforo y Vitamina "A" (A)	Fósforo y Vitamina "A" (A)	Fósforo y Vitamina "A" (A)	FSH (B)	FSH (B)	Fósforo y Vitamina "A"
7	8	9	10	11	12
Fósforo y Vitamina "A" (A)	Fósforo y Vitamina "A" (A)	Fósforo y Vitamina "A" (A)	FSH (B)	FSH (B)	FSH y PGF ₂ α (B) (C)
13	14	15	16	17	18
FSH (B) (C)	FSH en donadora (B) (C)	Inseminar con doble dosis A.M. y P.M. (D)	Inseminar con doble dosis A.M. y P.M. (D)		
19	20	21	22	23	24
					Lavado y recolección de embriones (E)

* = Días del celo de la donadora

FSH = (Hormona Folículo Estimulante)

PGF₂α = (Dinoprost-trometamina)

Para sincronizar se utilizó Prostaglandina $PGF_2\alpha$ (Dinoprost-trometamina) en dos dosis, el doceavo día del ciclo estrual, separadas doce horas. Posteriormente presentaron celo al segundo día de iniciado el tratamiento con $PGF_2\alpha$ y se aplicó Cipionato de Estradiol (ECP) para reforzar el acondicionamiento del tracto reproductivo. Doce horas después se inseminaron con doble dosis de semen dos frecuencias diarias por dos días seguidos, con semen de la raza Holstein del semental Sinnissippi (H3261).

Al octavo día de realizada la última inseminación se hizo el lavado, colección e identificación de los embriones.

Para la colección de los embriones se utilizó el método no quirúrgico descrito por Elsdén. Los datos a evaluar son:

- 1.- Número de cuerpos lúteos en cada ovario.
- 2.- Cantidad de medio introducida y recuperada.
- 3.- Hormona, dosis y vía de aplicación.
- 4.- Número de embriones identificados.
- 5.- Número de embriones normales y anormales.
- 6.- Número de folículos de Graff en cada ovario.

Desarrollo del método no quirúrgico de Eldsen adaptado a este trabajo:

- 1) Se dietó a las donadoras 36 horas antes de realizar el lavado.
- 2) Se colocó al animal en una rampa con la parte delantera del cuerpo más elevada, para lo cual se acondicionó una trampa del establo de 130 x 120 cm.
- 3) Una vez sujeta la vaca fue palpada por vía rectal para determinar el número de cuerpos lúteos presentes en los ovarios.
- 4) Se desalojó el recto después se lavó y desinfectó la región perineal con alcohol y tintura de yodo.
- 5) Para la introducción y recolección de la solución para el lavado se utilizó una sonda Foley # 18 de triple vía con una guía o estilete de acero inoxidable calibre 100 milésimas, la sonda fue probada y lubricada con suero salino fisiológico antes de ser introducida.
- 6) Se introdujo la sonda en el tracto ubicándola en el cuerno uterino izquierdo, se infló el balón con 30 cm³ de aire fijando la sonda en el lugar deseado para luego retirar el estilete.

7) Por medio de infusiones de 50 cm³ de solución para el lavado a una temperatura de 37.5°C a través de la sonda Foley, se masajeó suavemente a partir de la punta del cuerno hacia atrás y se recuperó la solución en vasos de precipitado previamente esterilizados. Esta operación se repitió hasta completar 500 cm³ aplicados y recuperar la mayor parte de la solución.

8) La solución se llevó a reposar en baño María a 37.5°C en un lapso de tiempo de 10 minutos o más.

9) El medio fue depositado en cajas de Petri para realizar el escrutinio de los embriones utilizándose primero un microscopio estereo sencillo (10 x 2.5x) y posteriormente un microscopio compuesto (10x 10x).

10) Una vez localizados y verificados en su integridad morfológica los embriones fueron recuperados con una pipeta Pasteur.

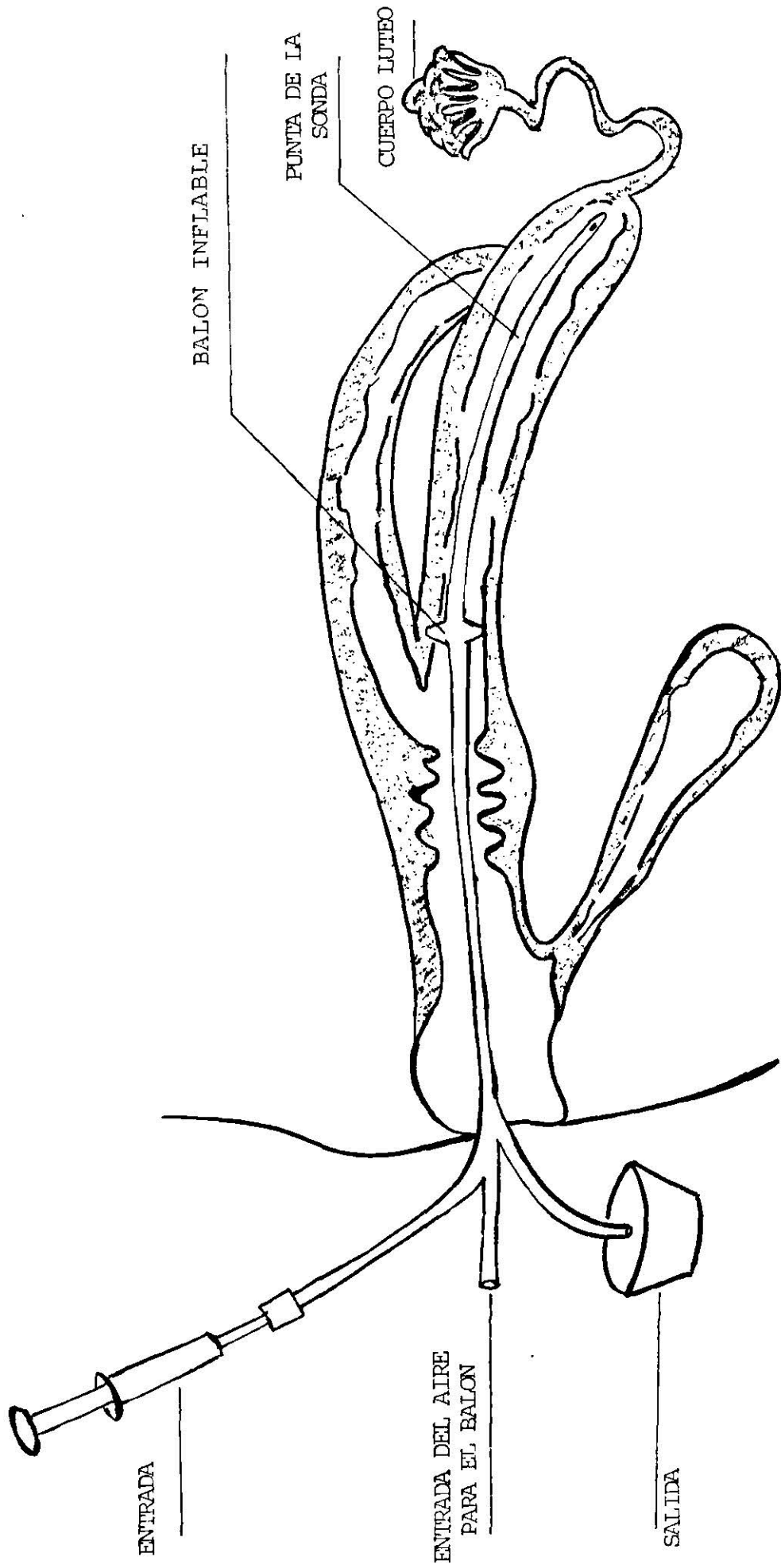


FIGURA 8.- Esquema de lavado no quirúrgico.
Fuente: Holy, 1983.

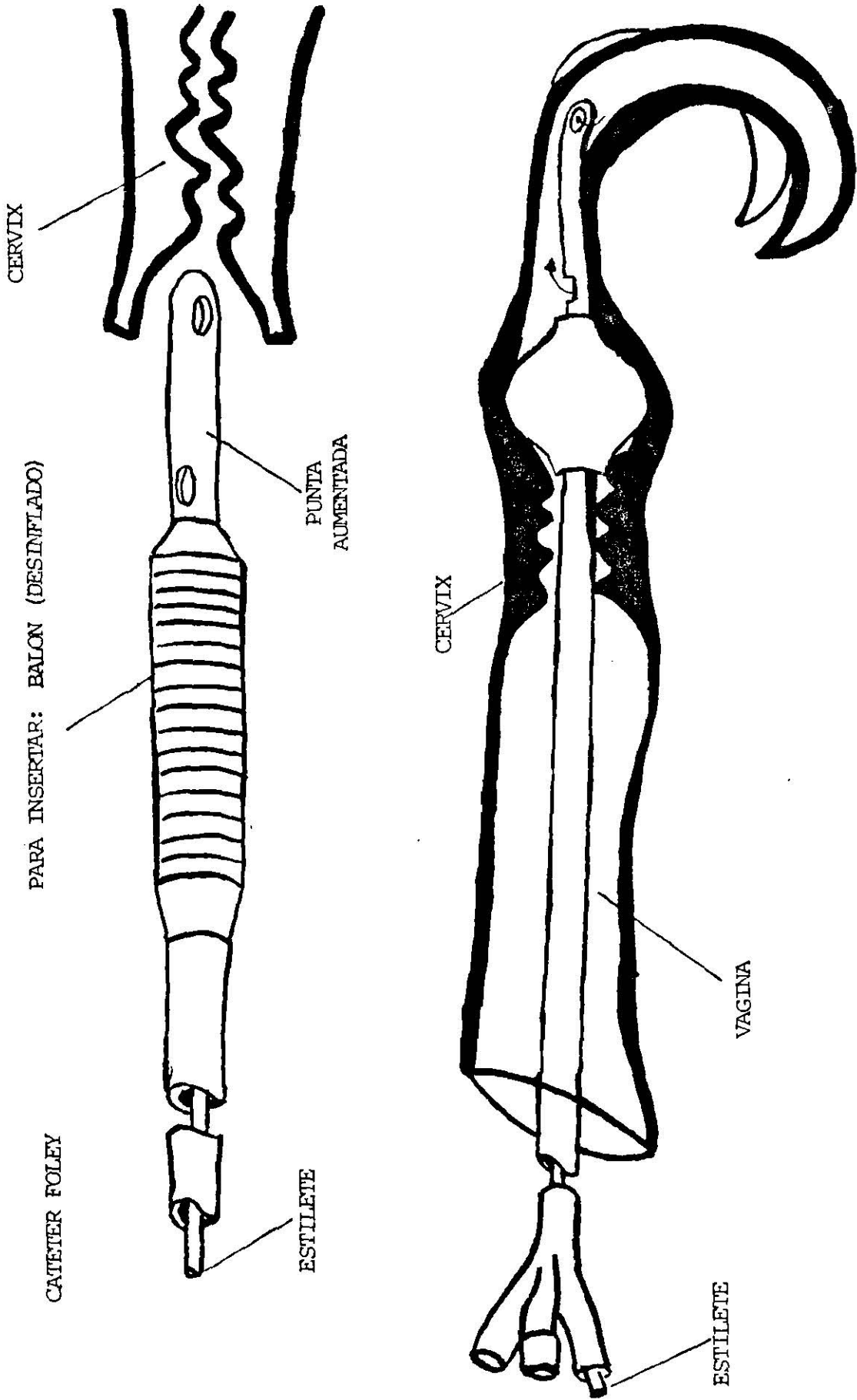


FIGURA 9.- Utilización del catéter de Foley para extraer el óvulo desde el útero por medios no quirúrgicos.
 Fuente: Bearden y Fuquay, 1982.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados obtenidos en el presente trabajo están desglosados en el cuadro 7, en la cual se indica el número de donadoras así como el semen utilizado y raza, número de dosis por inseminación artificial en cada vaca, dosis de $\text{PGF}_2\alpha$, de FSH, número de folículos, número de cuerpos lúteos, cantidad de medio introducida y recolectada, porcentaje de recuperación y número de embriones normales y anormales.

Con referencia al semen utilizado se puede decir que fue el adecuado, ya que era semen de buena calidad previamente evaluado y aplicado en doble dosis, dos veces al día por dos días seguidos.

En la sincronización de estros en las donadoras, se puede decir que el uso de 45 mg de prostaglandina $\text{F}_2\alpha$ (Dinoprost-trometamina) aplicados el día doce del ciclo estrual, originó una buena respuesta en los resultados, ya que los animales en traron en calor 2 ó 3 días después del tratamiento. Considerandose bueno el resultado según datos de Elvin et al., quienes obtuvieron un intervalo de 3.1 día del tratamiento al pre sentar el celo, siendo la aplicación entre los días 10 a 17 del ciclo estrual; sin embargo, la inseminación se aplicó no obstante lo anterior, siguiendo lo programado.

CUADRO 7.- Concentración de datos.

VACA #	SEMEN UTILIZADO RAZA	No. DOSIS PARA I.A.	PGF ₂ mg.	FSH mg.	FG ₃			CL ₃			M E D I O		% RECOLECTADO DE MEDIO	No. EMBRIONES OBSERVADOS Norma les	No. EMBRIONES CAPTURADOS Norma les	No. EMBRIONES TRANSFERIDOS	
					OI	OD	OI	OD	INTRODUCIDO ml	RECOLECTADO ml							
1	Holstein	8	45	30	4	4	4	4	4	500	420	84	2	2	1	2	
2	Holstein	8	45	31	7	4	7	4	4	650	230	35	1	3	1	3	1 (normal)
	TOTAL	16	90	61	11	8	11	8	8	1150	650	119	3	5	2	5	
	\bar{X}	8	45	30.5	5.5	4	5.5	4	4	575	325	59.5	1.5	2.5	1	2.5	

FSH = Hormona Foliculo Estimulante

PGF₂ = Dinoprost-trometamina

FG₃ = Foliculo de Graff

CL₃ = Cuerpo Lúteo

OI = Ovario Izquierdo

OD = Ovario Derecho

CUADRO 8.- Porcentaje de embriones de acuerdo al número de cuerpos lúteos por vaca tratada.

Vaca No.	Cuerpos lúteos totales	Número de embriones totales	Porcentaje de embriones de acuerdo a cuerpos lúteos
1 Arete (4)	8	4	50
2 Arete (190)	11	4	36
	- - - - -	- - - - -	- - - - -
TOTAL	19	8	86

Con respecto a las dosis aplicadas de hormonas Folículo Estimulante (FSH) se observó que en la vaca # 2 provocaron una mejor respuesta, la cual se demostró con el número de folículos y cuerpos lúteos desarrollados que fue mayor que en la vaca # 1; no obstante que en esta última se aplicó una dosis estandar cada 12 horas de 3 mg, en contra de la # 2 que recibió dosis alternas de 7 mg el primero, tercero y quinto día repartidos en dos dosis de 3.5 mg cada doce horas y el segundo y cuarto día 5 mg repartidos en dosis de 2.5 mg cada doce horas, artificio que trató de simular pulsos o picos hormonales, provocando una mejor respuesta, tanto en el desarrollo claro, evidente e intenso de los folículos, así como de sus correspondientes cuerpos lúteos, en tamaño y en número.

Los resultados obtenidos y mostrados en el cuadro 8, muestran el número de cuerpos lúteos que fueron en el orden de ocho para el ovario derecho y once para el ovario izquierdo, siendo el mayor número para la vaca número dos con once cuerpos lúteos totales, siendo la menor la vaca número uno con ocho cuerpos lúteos totales. Estos datos son calificados como aceptables ya que Kudlac et al., (1981) en un estudio similar obtuvieron un 9.6 en promedio de cuerpos lúteos en tanto que en este trabajo se obtuvo un promedio de 9.5 cuerpos lúteos.

Respecto a la solución introducida y recuperada, se usó un total de 1150 cm³ siendo el promedio de 575 cm³ por vaca con una recuperación mayor en la vaca número uno y la menor en la vaca número dos. El promedio de recuperación fue de 59.5% que se considera bajo en referencia a Rowe et al., (1980) que obtuvieron un 87% de recuperación

Referente al número de embriones, el resultado se calificó como bueno tomando como consideración que Baumgartner et al., (1979) de 5 vacas tratadas y lavadas por medio de arrastre recogieron 22 embriones, siendo un promedio de 4.4 embriones por vaca, ya que en este trabajo se recogieron 8 embriones de dos vacas tratadas y lavadas por el mismo método, con un promedio de 4.0 embriones por vaca.

Se encontró que los embriones recolectados y observados estaban en diferentes fases de desarrollo entre los normales dos en mórula y uno en blastocisto. Respecto a los embriones anormales, se consideraron como tales debido a la ruptura de la zona pelúcida o a la ausencia de la misma, como a signos de degeneración celular dentro del mismo.

CONCLUSIONES

Considerando las condiciones en las que se realizó este trabajo se puede concluir lo siguiente:

1.- La aplicación de la Hormona Folículo Estimulante (FSH) fue efectiva para superovular ciclos en vacas Holstein.

2.- El uso de la $PGF_2\alpha$ (Dinoprost-trometamina) fue adecuado para la sincronización de las vacas.

3.- La técnica de introducción y recuperación del medio para el lavado de los cuernos uterinos, fue efectiva ya que el promedio de embriones recolectados por vaca fue de 4.0.

4.- Para la identificación y clasificación de los embriones se usaron un estereo Microscopio (10x 2.5x) y un Microscopio binocular compuesto (10x 10x) los cuales fueron ideales para el escrutinio de los embriones.

RECOMENDACIONES

1.- Implementar y realizar nuevos trabajos para afinar la metodología y práctica de los mismos para los cuales podrían incluirse las siguientes sugerencias:

- A) Implementar medios para una sujeción e inmovilización más adecuada de las donadoras.
- B) Implementar aditamentos para el manejo del equipo durante el lavado uterino, de tal forma que se pueda reducir al mínimo el personal necesario para realizarla.
- C) Afinar diseño y calibre de los dilatadores del cérvix.
- D) Establecer una rutina que agilice el escrutinio.
- E) Disponer de mayor número de receptoras para próximos experimentos, de tal forma que sean realizados completamente hasta transferencia de embriones tal cual deba de ser el plan original.

2.- Dado el alto costo de esta técnica analizada, buscar y auxiliarse de recursos a nivel oficial o privado.

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue llevar a la práctica la superovulación, sincronización, extracción e identificación de embriones de vacas Holstein en el Campo Experimental Agropecuario "El Canadá" de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León, dando inicio el 20 de Enero y finalizando el 6 de Marzo de 1985.

Se utilizaron dos hembras de quinta y sexta lactancia, ambas aptas para la reproducción; fueron revisados sus antecedentes reproductivos por medio de palpación rectal antes del tratamiento hormonal; se les hizo la observación directa de un ciclo estrual normal para después iniciar el tratamiento.

Se les dio un acondicionamiento general previo a base de Fósforo y Vitamina A.

Para la superovulación se utilizó Hormona Folículo Estimulante (FSH) el décimo día después del celo franco en dosis divididas en dos aplicaciones por día, una en la mañana y otra en la tarde suministrándose por vía intravenosa durante cinco días.

Para la sincronización se utilizó $\text{PGF}_2\alpha$ (Dinoprost-trometamina) en dos dosis diarias, por la mañana y por la tarde en

el doceavo día del ciclo estrual.

Posteriormente las vacas presentaron celo al segundo día de iniciado el tratamiento con $\text{PGF}_2\alpha$ (Dinoprost-trometamina) y se les aplicó Cipionato de Estradiol (ECP) para reforzar el acondicionamiento del tracto reproductivo; doce horas después se inseminaron con doble dosis de semen, dos frecuencias diarias por dos días seguidos.

Se realizó el lavado, colección e identificación de los embriones a los ocho días después de la última inseminación utilizando medio de Dulbecco modificado.

Para la localización e identificación de embriones, los microscopios utilizados en este trabajo fueron un Estereo Microscopio (10 x 2.5x) y un Microscopio binocular compuesto (10x 10x), siendo los adecuados para la identificación y clasificación de los embriones.

Los datos que se evaluaron con sus resultados fueron los siguientes: el número de folículos de Graff para el ovario izquierdo fueron un total de 11 con un promedio de 5.5 y para el ovario derecho un total de 8 con un promedio de 4.0.

El número de cuerpos lúteos para el ovario izquierdo fue un total de 11 con un promedio de 5.5 y para el ovario derecho

un total de 8 con un promedio de 4.0.

La cantidad de medio introducido fue un total de 1150 ml recolectándose un total de 650 ml, obteniéndose un 59.5% de medio recolectado.

El número de embriones normales fue de 3 y de anormales 5 con un promedio por vaca de 4.0.

BIBLIOGRAFIA

- Abbit, B.G.E. Seidel, y W.E. Beendtsen. 1976. Effect of tris (Hydroxymethyl) Aminomethane Salt of Prostaglandin F₂ alfa en Post-than Motility of Bovine Spermatozoo. J. Dai. Sci. 59(7):1991.
- Anderson, G.B. 1978. Induction of twinning in beff Heifers by bilateral embryo transfer. J. An. Sc. 46(2):96.
- Andrade Muñoz, J.A. 1980. Contribución al estudio de la sincronización del ciclo estrual en bovinos lecheros, Raza Holstein. Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey. Tesis no publicada.
- Baumgarther, G., R. Hahn; W. Lorrman; F.H. Zoder y J. Hahn. 1979. Storage of rosen cattle embryos and first results of transfer. Ani. Breed. Abs. 47(311).
- Bearden H., Joe y John W. Guquay. 1982. Reproducción animal aplicada. Ed. El Manual Moderno. pp. 50-54; 203-204.
- Becze, J., J. Perjés y J. Mészáros. 1980. Studies to improve the effectiveness of treatments to induce superovulation in cows. Ani. Breed. Abs. 48(7):440.
- Bermúdez Barbosa, A. 1979. Ensayo de la técnica de transplan

tes de óvulos fecundados en bovino. Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey, Tesis no publicada.

Bilton, R.J. and N.W. Moore. 1977. Successful transport of frozen cattle embryo from New Zealand to Australia. *J. Reprod. Fert.* 50:363-364.

Boland, M.P., T.F. Croby and I. Gordon. 1978. Fetal and development following surgical and non surgical twinning in beef heifers. *Veterinary Record.* 102:39-40.

Carmichael, R.A. 1977. What is Ova transfer. Boletín en inglés no publicado. Maplehurst Ova transplant, Keota, Iowa.

Cole, H.H. y P.T. Cupps. 1977. Reproduction in domestic animals. 3ra. Ed. Academic Press, Inc. (London).

Derivaux, J. 1976. Reproducción de los animales domésticos. 2da. Ed. Editorial Acribia. Zaragoza, España. pp. 3, 468, 470, 474.

Elsden, P. 1977. Extracción de óvulos vacunos sin emplear cirugía. *Agricultura de las Américas.* Octubre. Año 26. # 10. Fuente original Charolais Bull-O-Gran, Junio-Julio 1977. pp. 14-15, 38, 56, 62.

- Foote, R.H. and Onuma. 1970. Superovulation ovum collection, culture and transfer. *A. Review. J. Dai. Sci.* 53:1681-1688.
- Frandsen, R.D. 1976. Anatomía y Fisiología de los Animales Domésticos. 2da. Edición. Editorial Interamericana, México, D.F. pp. 298-302.
- Guerra Guerra, L. 1979. Transplantes de embriones en bovinos. Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey. Tesis no publicada.
- Guillen Ortíz, A. 1981. Evaluación de la técnica de superovulación de vacas Holstein para transferencia de embriones. Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey. Tesis no publicada.
- Hafez, E.A.E. 1974. *Reproduction in farm animals*. 3rd. Ed. Edit. Lea & Febiger, Philadelphia, U.S.A. p. 186.
- Hansel, W.W., J. Hixon, M. Shanesh y D. Tobey. 1976. Concentrations and activities of Prostaglandins in bovine reproduction. *J. Dai. Sci.* 59(7):353.
- Hendriks, J.C. 1978. Collection and transfer of bovine embryos under local conditions. Resumen en Inglés. *Biol. Abst.* 66(4):1840.

- Holy, Lubos. 1983. Bases biológicas de la Reproducción Bovina. Primera Edición. Editorial Diana. pp. 156-159, 184-187, 192-193, 225, 237.
- Johansson, I., J. Rendel. 1972. Genética y Mejoramiento Animal. Ed. Acribia. Zaragoza, España. pp. 15-16.
- Kudlac, E., J. Kozumplik, A. Vinkler y J. Hrivnak. 1981. Superovulation and the recovery of embryos in cattle. Ani. Breed. Abst. 49(2):64.
- Louis, T.M., H.D. Hafs y D.A. Morrow. 1972. Estrus and ovulation after uterine PGF₂alpha Injection. J. Ani. Sci. 35(1):966.
- Mc Donald, L.E. 1978. Reproducción y endocrinología veterinaria. Trad. al Español. 2da. Edición. Nueva Editorial Interamericana, S.A. de C.V. pp. 264, 336.
- Roche, J.F. 1973. Synchronization of Oestrus and fertility following artificial insemination in heifers given Prostaglandin F₂alpha. J. Reprod. and Fert. 37(1):135.
- Rundell, J.W. 1971. Estrous synchronization in cattle a review. The Southwestern Veterinarian Fall. 47:50.
- Seidel, G.E. y S.M. Seidel. 1980. Transferencia de embriones.

Ganado vacuno. I:(5):31.

Sreenan, J.M. y M.G. Diskin. 1980. Twin induction studies superovulation. Ani. Breed. Abst. 48(7):420.

Sorensen, A.M. 1979. Animal Reproduction, Principles and Practices. Mc Graw-Hill, Inc. p. 350.

Testart, J. 1979. Collection of embryos for transfer in the cow. Ani. Breed. Abst. 47(2):74.

Testart, J.C. Godard-Soiur, y F. du Mesnil du Buisson. 1975. Transvaginal transplantation of an extra egg to obtain twinning in cattle. Theriogenology 4(5):163.

Willadsen, S., C. Polage and L. Rpwson. 1978. The viability of deep-frozen cow embryos. J. Reprod. Fert. 52:391.

CUADRO 5.- Programa de superovulación y sincronización para donadoras.

VACA #	DOSIS	D I A					TURNO
		20	21	22	23	24	
1 (4)	3 mg	3 mg	3 mg (30 mg*)	3 mg	3 mg	3 mg.	7:00 A.M.
	FSH	3 mg	3 mg (15 mg*)	3 mg	3 mg	3 mg.	7:00 P.M.
2 (190)	3.5 mg	3.5 mg	2.5 mg	3.5 mg (15 mg*)	2.5 mg	3.5 mg	4:30 A.M.
	FSH	2.5 mg	3.5 mg (30 mg*)	2.5 mg	3.5 mg	3.5 mg	4:30 P.M.

* = PGF₂α = (Dinoprost-trometamina)

FSH = (Hormona Folículo Estimulante)

