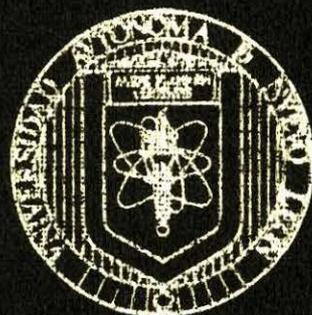


UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE AGRONOMIA



EFECTO DE FSH-P, SUPER-OV Y PMSG EN LA
OVULACION MULTIPLE DE CABRAS
SINCRONIZADAS CON PGF₂ alta

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
INGENIERO AGRONOMO ZOOTECNISTA

PRESENTA

RODRIGO ALEJANDRO COLLADO FRANCO

MARIN, N. L.

JUNIO 1993

T

SF383

.5

.M6

C6

c.1



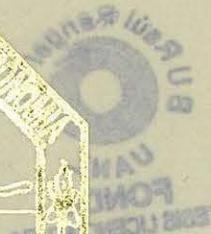
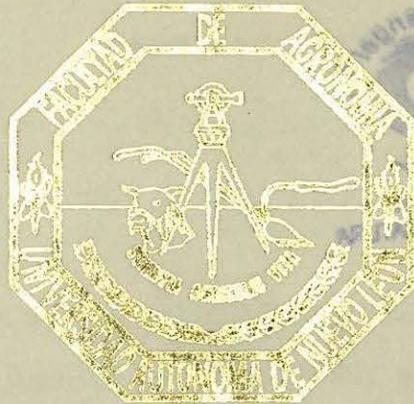
1080061154

27383
2
Jun
20

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE AGRONOMIA

DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA



3E3-040

EFEECTO DE FSH-P, SUPER-OV Y PMSG EN LA OVULACION MULTIPLE DE CABRAS SINCRONIZADAS CON PGF2 alfa

TESIS

TESIS QUE PRESENTA: RODRIGO ALEJANDRO COLLADO FRANCO
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
INGENIERO AGRONOMO ZOOTECNISTA

PARA OBTENER EL TITULO DE
INGENIERO AGRONOMO ZOOTECNISTA
PRESENTA

RODRIGO ALEJANDRO COLLADO FRANCO

COMISION REVISORA

PRESIDENTE DEL JURADO:

DR. JAVIER GARCIA CANTU

MARIN, N. L.

JUNIO. 1993 011516 ε

T
SF383
.5
.m6
C6



Biblioteca Central
Maana Solidaridad

F. Tesis



040.636

FA2

1993

C.5

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE AGRONOMIA

DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA

EFECTO DE FSH-P, SUPER-OV Y PMSG EN LA OVULACION MULTIPLE
DE CABRAS SINCRONIZADAS CON PGF2 α

TESIS QUE PRESENTA: RODRIGO ALEJANDRO COLLADO FRANCO

PARA OBTENER EL TITULO DE
INGENIERO AGRONOMO ZOOTECNISTA

COMISION REVISORA

PRESIDENTE DEL JURADO:

Dr. JAVIER GARCIA CANTU

AGRADECIMIENTOS

A Bery por mantener la confianza y amistad entre nosotros, y por su apoyo que me ha ayudado a llegar hasta la conclusión de mi carrera.

Al Ing. Víctor por su interés y la comunicación que ahora tenemos y por su apoyo incondicional desde el principio de mi carrera.

A la Sra. Amelia y el Sr. Arturo por su hospitalidad y calidad humana y gracias por todas las atenciones que tuvieron conmigo.

A mis amigos, sobre todo a aquellos que me ayudaron en la realización de éste trabajo y en especial a mis compañeros del equipo de pastizales.

A Vero por su paciencia y por toda su ayuda durante el escrito de ésta tesis.

A mis maestros por su tiempo y orientación a través de mi carrera.

DEDICATORIA

Dedico ésta tesis con todo mi cariño
a mi familia:

Beatriz,
Víctor,
Ariadna,
Mauricio,
Anita.

INDICE

I.	Introducción	1
II.	Revisión de literatura	3
II.1.	Aspectos generales	3
II.2.	Fisiología del ciclo estrual	7
II.3.	Endocrinología de la reproducción	18
II.4.	Endocrinología del ciclo estrual	27
II.5.	Bases fisiológicas de la superovulación	31
II.6.	Estro y ovulación fuera de la temporada de empadre	38
II.7.	Trabajos comparativos con diferentes substancias superovuladoras	41
III.	Materiales y métodos	64
IV.	Resultados	70

V.	Conclusiones	77
VI.	Recomendaciones	79
VII.	Bibliografía	81

INDICE DE TABLAS

- Tabla 1. Promedio de huevos y embriones recuperados para cabras lecheras cruzadas superovuladas 37
- Tabla 2. Comparación de transferencia en borregas Lacaune durante la época de empadre y anestro ... 38
- Tabla 3. Número de cabras que mostraron estro y de las que se recuperaron huevos y embriones después de la superovulación con PMSG y FSH 39
- Tabla 4. Sincronización de estros y respuesta ovárica en cabras lecheras cruzadas 48
- Tabla 5. Respuesta ovárica de borregas donadoras al tratamiento con Norgestomet-B y FSH-P 50
- Tabla 6. Respuesta ovárica total de FSH-P a esponjas vaginales de 60 mg. MAP (11 d.) para cabras lecheras Alpinas y Nubias 53
- Tabla 7. Producción de embriones con SUPER-OV y FSH-P 56

Tabla 8. Número de ovulaciones, huevos y embriones recuperados en cabras después de la superovulación con PMSG y FSH	58
Tabla 9. Superovulación de borregas Ile-de-France	61
Tabla 10. Tratamientos para desarrollo folicular y ovulación	66
Tabla 11. Número de embriones obtenidos en cabras tratadas con FSH-p, SUPER-OV y PMSG	70
Tabla 12. Comparación estadística de cabras superovuladas con FSH-P y PMSG	74
Tabla 13. Comparación estadística de cabras superovuladas con FSH-P y SUPER-OV	74
Tabla 14. Comparación estadística de cabras superovuladas con SUPER-OV y PMSG	75

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Crecimiento folicular	30
Figura 2. Producción de embriones con FSH-P	42
Figura 3. La LH en la calidad del embrión	44
Figura 4. La LH en la producción de embriones	45
Figura 5. Superovulación en razas prolíficas	52
Figura 6. Incidencia de cero colectados	54
Figura 7. Dosis diferentes de FSH-P en una raza	62
Figura 8. Producción promedio de embriones	72
Figura 9. Producción individual de embriones	73

I. INTRODUCCION

En la actualidad la eficiencia del hombre para producir alimentos de origen animal no es suficiente para satisfacer las necesidades de la creciente población mundial; la necesidad de las producciones pecuarias para aprovechar al máximo sus instalaciones y animales hace cada vez más necesaria la búsqueda de técnicas prácticas para elevar al máximo las producciones de éstas empresas, por éstas razones son muy importantes los experimentos encaminados a establecer los procedimientos adecuados para que el productor común pueda aprovechar todo aquello a su alcance.

Para tener una explotación exitosa es necesario tener un buen funcionamiento de todos los aspectos que afecten directa o indirectamente la producción animal como lo son: nutrición, sanidad, mejoramiento, reproducción y otros. Entre éstos los que tienen aún más por investigar y avanzar son los concernientes a la maximización en la eficiencia reproductiva del hato.

Las técnicas de superovulación en los animales domésticos tiene un amplio y favorable panorama, ya que nos permiten trabajar con un número menor de individuos de alta calidad, explotando su potencial al máximo para cualquiera que sea la finalidad de nuestra explotación. La superovulación es una técnica que al combinarla con herramientas como la inseminación artificial, transplante de embriones, congelado de semen y embriones y algunas tecnologías de la bioingeniería nos da posibilidades casi ilimitadas para la investigación y como finalidad posterior para la producción.

A la superovulación y transferencia de embriones en general, no se le ha dado la misma importancia en ovejas y cabras que en bovinos, sin tomar en cuenta que algunas comunidades tienen gran consumo de los productos ovicaprinos (lana, carne y leche) y que se verían muy beneficiados con éstos adelantos.

II. REVISION DE LITERATURA

II.1. ASPECTOS GENERALES

En la borrega y en la cabra, como en la mayoría de las especies animales, la receptividad sexual hacia el macho es limitada a cortos períodos de tiempo, llamados estro, al rededor de la ovulación; es ausente durante otros períodos (fase lútea del ciclo estrual, anestro y preñez). Esto muestra que a diferencia de los machos, el comportamiento sexual de las hembras es de control específicamente hormonal, y que la secreción y acción de las hormonas son esenciales para el comienzo y la expresión del comportamiento sexual de las hembras. Como consecuencia, en animales estacionales, la época sexual es más marcada en hembras que en machos (Chemineau et al., 1991).

Foliculogénesis: durante la oogénesis, que comienza desde la diferenciación embriónica a los 35 días de edad, el número total de oocitos ya está dado y su meiosis bloqueada. Al principio de su formación el folículo consiste en el oocito rodeado de unas pocas células y se le llama folículo primordial. Del depósito de 50,000 folículos primordiales, 3-4

folículos comienzan su crecimiento diariamente por el aumento de tamaño del oocito y el aumento del número de las células que lo rodean (células de granulosa). Cuando el diámetro del folículo alcanza 0.2 mm., forma una cavidad con las células foliculares, llamado el antrum; y a éste tipo de folículo se le llama folículo antral. En ésta etapa una nueva capa de células (células de la teca), aparecen en la periferia del folículo rodeando a las células de granulosa. La multiplicación progresiva de las células foliculares, hasta varios millones, y el aumento del volumen de la cavidad del antrum continúa hasta que la etapa pre-ovulatoria se alcanza. Durante el crecimiento final del folículo, los folículos comienzan a producir muchas hormonas, principalmente estradiol (hormona que induce el comportamiento del estro) por interacción de las células de granulosa y de la teca. Entre los días 13-15 del ciclo estrual (luteólisis) un gran número de folículos antrales de 2 mm. de diámetro comienzan su crecimiento, fenómeno llamado "reclutamiento". El número de folículos es mayor que el grado esperado de ovulación. Al reclutamiento sigue un período de crecimiento continuo que involucra un número de folículos semejante al grado esperado de ovulación. Los otros, reclutados con anterioridad, detienen su crecimiento y se vuelven atrésicos; éste fenómeno se llama selección. La selección es seguida por una fase de dominancia de los folículos seleccionados durante la cual tienen su maduración final (Chemineau et al., 1991).

A partir de que los folículos miden 2 mm. de diámetro, la foliculogénesis es altamente dependiente de las gonadotropinas. Las principales hormonas involucradas en la foliculogénesis son la LH y la FSH. Ambas ayudan en el control de la secreción de estradiol de los folículos mayores. Aún más, la FSH ayuda en la aparición de los receptores de LH en las membranas de las células foliculares y las hace sensibles a los pulsos endógenos de LH. Descubrimientos actuales, sostienen que el crecimiento folicular es controlado no sólo por factores de larga distancia como la LH y la FSH, sino también por factores locales intraováricos, provenientes del mismo folículo o de otras partes del ovario. La regulación de las primeras etapas de la foliculogénesis parece ser relativamente independiente de la FSH y de la LH, y por consecuencia es probablemente más dependiente de factores locales (Chemineau et al., 1991).

Ovulación: cuando el folículo que ovulará, comienza la última fase de su crecimiento, la cavidad antral crece rápidamente, contribuyendo al crecimiento general del folículo. Al rededor de 24 hrs. antes de la ovulación, la ola pre-ovulatoria de LH da la señal endócrina para el comienzo de la luteinización de las células foliculares y para la modificación que causará la liberación del oócito y la señal para el resurgimiento de su meiosis. La meiosis se detiene en la metafase II y es en ésta etapa cuando el oócito es ovulado.

Las células que rodean al oocito comienzan su disociación para liberarlo en la cavidad antral. Cerca de la superficie del ovario, algunas células de granulosa y de la teca comienzan a disociarse enzimáticamente para formar un canal por el que el oocito será expulsado. Sin modificación aparente en la presión intra-antral, una estructura en forma de volcán pequeño aparece en la superficie del folículo. El oocito es expulsado a través de ésta estructura y tomado por las células ciliares de la fimbria. El punto de ovulación, una estructura sangrienta del tamaño de la cabeza de un alfiler, es visible claramente en la superficie del ovario. Cuando hay más de una sola ovulación en un solo período de ovulación, éstas ovulaciones ocurren en un período de tiempo muy corto. La ovulación puede bloquearse al poner a los animales bajo condiciones de estrés antes del inicio de la ola pre-ovulatoria de LH la cual, de hecho, es inhibida por la secreción de cortisol dado el estrés (Chemineau et al., 1991).

El cuerpo lúteo: una vez ovulado, el folículo se convertirá en otra estructura llamada cuerpo lúteo (C. L.). Este C. L. persiste hasta la luteólisis, que es unos pocos días antes de la próxima ovulación si la hembra no quedó preñada y si ocurre la ovulación durante la época sexual, o hasta el parto si hubo fertilización. Las células especializadas del folículo que previamente secretaron estradiol 17β , empiezan a

producir progesterona después de que ocurre la luteinización y el nivel de ésta hormona aumenta dramáticamente en la sangre desde los 3 días después de la ovulación. La actividad esteroide de las células lúteas es controlada por la LH pituitaria y por la prolactina (Chemineau et al., 1991).

El control de la duración funcional del cuerpo lúteo es ejercido por la secreción de $\text{PGF}_2\alpha$ de las células endometriales del cuerno uterino del mismo lado del ovario que tiene el cuerpo lúteo, éstas secreciones pasan directamente del útero al ovario por medio de la anastomosis existente entre la arteria ovárica y la vena uterina. El C. L. es sensible a los factores luteolíticos a partir del día 5 del ciclo. La $\text{PGF}_2\alpha$ comienza a secretarse desde el día 13-14 del ciclo en la borrega, y las altas secreciones de los días 15 y 16 son responsables de la luteólisis total. El estradiol ovárico estimula la secreción de $\text{PGF}_2\alpha$ por el endometrio uterino y su acción se facilita por la influencia de progesterona. Cuando hay un embrión presente, sus secreciones provocan un bloqueo de la actividad luteolítica de la $\text{PGF}_2\alpha$ uterina y el C. L. se mantiene hasta el final de la preñez (Chemineau et al., 1991).

II.2. FISILOGIA DEL CICLO ESTRUAL

Las estructuras ováricas se modifican de modo cíclico, ya que se desarrollan y mueren cada 21 días (aunque en cabras la duración normal del ciclo es de 19 días, variando de 12-24). El folículo, cuerpo hemorrágico, cuerpo lúteo y cuerpo albicans funcionan en cada ciclo normal.

Folículo: comienza a desarrollarse durante la vida embrionaria como un ovocito. Después de la pubertad, algunos ovocitos son estimulados en cada ciclo para que sigan desarrollandose hasta la madurez, por lo general uno de éstos se rompe, liberando un óvulo.

Cuerpo hemorrágico: se forma inmediatamente después de la ruptura del folículo, en la cavidad formada por éste. Lo anterior ocurre unas 30 horas después de iniciado el estro y dura unos días. El cambio hacia cuerpo lúteo es gradual.

Cuerpo lúteo: se desarrolla gradualmente, a partir de las células que revisten al folículo internamente y alcanza su tamaño maduro entre 8 y 10 días después del inicio del estro. Las células producen progesterona; la vida del cuerpo lúteo es de 12 días, por lo que a los 17 días del ciclo muere y los niveles de progesterona bajan.

Cuerpo albicans: se transforma gradualmente por la lenta degradación de las células lúteas. Puede distinguirse algunos meses después de su formación.

(Sorensen, 1982).

Crecimiento folicular y desarrollo: los folículos primarios se establecen en el ovario durante el desarrollo embrionario. Evidencias recientes sugieren que los andrógenos son producidos en la teca bajo la influencia de LH y aromatizados a estradiol en las células de granulosa del folículo bajo la influencia de FSH (Hansel y Convey, 1983).

El crecimiento y selección de los folículos que ovularán no se entiende totalmente pero según resultados obtenidos por Turnbull et al. (1977) citados por Hansel y Convey (1983), en borregas se deduce que existen folículos de todos los tamaños, incluyendo maduros en cada día del ciclo estrual. Matton et al. (1981) citados por Hansel y Convey (1983), reportaron que la mayoría de los folículos mayores y los segundos mayores presentes en los ovarios el día 3 tuvieron regresión y fueron reemplazados por otros folículos para el día 8. Además la mitad de todos los folículos mayores presentes el día 8 ya no eran los mayores para el día 13 y todos los folículos presentes el día 13 fueron reemplazados para el día 18. El folículo que eventualmente ovulará sólo es identificable 48 hrs. antes del

estro (Dufour et al., 1972 citados por Hansel y Convey, 1983). En las ovejas el ovario que tiene el cuerpo lúteo tiene más folículos que el ovario contralateral (Dufour et al., 1971 citados por Hansel y Convey, 1983). Este efecto puede ser local, dado por la progesterona u otros productos lúteos, o tal vez por el mayor flujo de sangre en ése ovario según citan Hansel y Convey (1983).

Dado el proceso dinámico de los folículos ováricos, Carson et al. (1981) citados por Hansel y Convey (1983), los clasificaron como estrogénicamente activos (no atrésicos) o no activos (atrésicos). Después de la regresión lútea, ambos folículos (activos y no activos) están presentes en los ovarios. Al momento de la oleada de LH, sólo los folículos estrogénicamente activos están presentes. Los folículos ovulatorios aumentan en tamaño y el número de receptores de LH en la teca y la granulosa aumentan. Como resultado, éstos folículos se vuelven más sensibles a la LH y adquieren una mayor habilidad para secretar estradiol. En contraste, el número de receptores de FSH bajan en los folículos ovulatorios en comparación a los presentes con anterioridad.

Aparentemente la ola preovulatoria de gonadotropinas, convierte los folículos estrogénicamente activos en inactivos, por ejemplo, después de la ola pero antes de la ovulación, el

contenido de estradiol y el número de receptores de LH en la teca y granulosa bajan. Las concentraciones de estradiol en los folículos preovulatorios son consistentemente altas antes de la oleada de LH pero baja después de la oleada en borregas. Durante el período hacia el tiempo de ovulación y luego en el momento en que el estradiol ha bajado, los contenidos de progesterona en los tejidos de teca y granulosa y en el fluido folicular de las borregas desciende (Murdoch y Dunn, 1982 citados por Hansel y Convey, 1983).

La extirpación del cuerpo lúteo en borregas (Smeaton y Robertson, 1971 citados por Hansel y Convey, 1983) resultó en ovulación dentro de 48-72 hrs. Pero los folículos mayores presentes en el ovario al momento de remover el cuerpo lúteo, o al momento de la regresión lútea inducida por $\text{PGF}_2\alpha$, no ovulan (Ireland y Roche, 1983 citados por Hansel y Convey, 1983). En lugar de ésto, tienen regresión y folículos nuevos, provenientes de los folículos en desarrollo, se desarrollan hasta folículos ovulatorios en éste tiempo tan corto. El crecimiento final y la maduración de los folículos pre-ovulatorios puede deberse al hecho de que se desarrollen al mismo tiempo con la regresión lútea y la oleada preovulatoria de gonatropinas. Esto puede ser verdad dado que los folículos mayores presentes en los ovarios de borregas en el día 10

ovularán en respuesta a gonadotropinas exógenas (Robinson, 1967 citado por Hansel y Convey, 1983).

Las concentraciones de pregnalonona son mayores que las concentraciones de progesterona en los folículos proestro. Además, las altas concentraciones de estradiol encontradas en el fluido folicular proestro apoyan la idea de que antes de la oleada de LH, el microambiente folicular rico en estrógeno, inhibe la producción de progesterona pero estimula la producción de andrógenos y estradiol al aumentar el suministro de pregnanolona para la teca para convertir a andrógenos. Las bajas en las concentraciones de estrógeno intrafolicular después de la oleada de LH probablemente aumenta la conversión de pregnalonona a progesterona (Hansel y Convey, 1983).

Función del cuerpo lúteo: la LH es la mayor hormona luteotrópica en la borrega; la GnRH, por su acción de poder liberar la LH también puede servir como una hormona luteotrópica (Hansel y Convey, 1983). El concepto de que la $PGF_2\alpha$ de origen uterino es transferida desde la vena uterina, por un intercambio de contracorriente con la arteria ovárica ipsilateral y llega al cuerpo lúteo, donde causa luteólisis en la borrega fué sugerido por McCracken et al. (1971) citados por Hansel y Convey (1983). El estradiol parece potenciar los efectos luteolíticos de la $PGF_2\alpha$ (Hixon et. al., 1975 citados

por Hansel y Convey, 1983).

Interacciones Hipotalámicas-Pituitarias-Ováricas durante el ciclo estrual: el hipotálamo controla la reproducción regulando las actividades secretorias de la glándula pituitaria (Opel, 1979). La mayor descarga de LH y FSH ocurre durante el estro. Durante el período inmediato postestro, cuando las concentraciones ováricas de esteroides en la sangre son relativamente bajas, la FSH aumenta en ausencia de cualquier incremento de LH. Aproximadamente 3-4 días postestro, un folículo mayor aparece en el ovario. El estrógeno de éste folículo, más la progesterona del cuerpo lúteo recién formado, retroalimentan negativamenete la LH. Durante la fase lútea del ciclo estrual, la secreción de gonadotropinas está bajo una retroalimentación negativa de estradiol y progesterona. Después de la regresión lútea, ocurre un pequeño pero significativo incremento de LH, el cual puede ser importante para la maduración del folículo y el incremento proestrual de estradiol (Hansel y Convey, 1983).

El ciclo estrual también puede dividirse en:

1) período pre-oleada, desde la regresión lútea hasta la oleada de gonadotropina.

2) un período post-oleada, desde la oleada de gonadotropina hasta el resurgimiento de la función lútea.

3) período lúteo: durante el tiempo de vida del cuerpo lúteo.

En el período pre-oleada el estradiol aumenta en la sangre venosa del ovario durante el período pre-ovulatorio, alcanzando el máximo en el estro. Las concentraciones de LH aumentan en la sangre después de la regresión lútea natural (Chenault et al., 1975 citados por Hansel y Convey, 1983) o inducida por $PGF_2\alpha$ (Baird y Scaramuzzi, 1976 citados por Hansel y Convey, 1983), o al quitar el tratamiento de progesterona (Hauger et al., 1977 citados por Hansel y Convey, 1983). Las concentraciones de LH aumentan en éste período, éstas pulsaciones pueden incrementar las secreciones de estradiol por los folículos pre-ovulatorios en borregas (Baird et al., 1976 citados por Hansel y Convey, 1983). La LH y la FSH son liberadas al mismo tiempo, al momento, o cerca de comenzar el estro en borregas (Pant et al., 1977 citados por Hansel y Convey, 1983). Aparentemente una baja en la progesterona es pre-requisito para que el estradiol cause la oleada de gonadotropinas. Además el estradiol exógeno aumenta la capacidad de la glándula pituitaria para liberar LH y FSH en respuesta a la GnRH en borregas (Kesner et al., 1981 citados por Hansel y Convey, 1983).

El período post-oleada: durante éste período, inmediatamente después de la oleada pre-ovulatoria de gonadotropinas hay una caída marcada en las concentraciones de estradiol en la corriente de la vena ovárica (Baird et al., 1976 citados por Hansel y Convey, 1983). El contenido de estradiol en el fluido folicular y la LH unida a la teca y células de granulosa bajan, mientras que el contenido de progesterona en el fluido folicular en éste momento aumentan en las borregas (England et al., 1981 citados por Hansel y Convey, 1983). Aproximadamente 24 hrs. después de la oleada pre-ovulatoria de gonadotropinas, pero antes de la ovulación, las concentraciones de FSH aumentan en el suero de las borregas (Dobson y Ward, 1977 citados por Hansel y Convey, 1983). Este aumento en FSH puede jugar un papel en la obtención de folículos pre-antrales ya que Cahill et al. (1981) citados por Hansel y Convey (1983) encontraron una fuerte correlación entre éste pico de FSH y el número de folículos antrales presentes 17 días después.

Fase lútea: el cuerpo lúteo aumenta de peso durante la primer semana post-estro y alcanza su tamaño maduro para el día 7 (Deane et al., 1966 citados por Hansel y Convey, 1983). Al inicio del período post-ovulatorio también el estradiol aumenta en las borregas (Cox et al., 1971 citados por Hansel y Convey, 1983). Los folículos mayores estrogénicamente activos que

aparecen en el ovario en éste momento, son la fuente de éstos estrógenos (Ireland y Roche, 1983 citados por Hansel y Convey, 1983). Claramente se ve que la LH es secretada a manera pulsativa durante la fase lútea del ciclo en borregas (Hauger et al., 1977 citados por Hansel y Convey, 1983). La frecuencia y la magnitud de las pulsaciones de LH cambian según cambien las secreciones de las hormonas esteroides, baja frecuencia alta amplitud con la presenciade progesterona y alta frecuencia baja amplitud bajo la influencia de estrógenos (Raeh et al., 1980 citados por Hansel y Convey, 1983).

Técnicas de regulación del ciclo estrual y la ovulación: en la industria ovina, los métodos de control del ciclo, tienen un potencial mayor, ya que las borregas pueden aparearse en épocas que regularmente no podrían hacerlo. Básicamente hay dos maneras de sincronizar el ciclo estrual en un grupo de animales. La primera es tratar a todos los animales con un compuesto de progestágenos para prevenir el estro y la ovulación por un tiempo suficiente tal que permita la regresión del cuerpo lúteo en todos los animales del grupo. Teóricamente todos los animales entrarán en estro y ovularán al retirar el compuesto de progestágenos. Los períodos cortos de tratamiento generalmente han resultado en mayores porcentajes de concepción que los períodos largos de tratamiento. El segundo método es lizar el cuerpo lúteo con inyecciones de $\text{PGF}_2\alpha$, o algún análogo

potente, después de lo cual los animales deberán entrar en estro y ovular (Hansel y Convey, 1983). La administración exógena de $\text{PGF}_2\alpha$ y sus análogos inducen a la luteólisis precoz, seguida inmediatamente de una disminución abrupta en la concentración plasmática de progesterona (Wentzel et al., 1978 citados por Chemineau 1992). Esta disminución provoca una estimulación de la secreción de LH y de estradiol 17β conduciendo a la aparición del estro y de un pico pre-ovulatorio de LH (Greyling y Van Niekerk, 1986; citados por Chemineau 1992). Dutt y Casida (1948) citados por Hansel y Convey (1983) fueron los primeros en demostrar el uso de la progesterona para inhibir el estro y la ovulación en ovejas. Uno de los mayores avances fué reportado por Robinson (1964) citado por Hansel y Convey (1983), cuando demostró que los compuestos de progestágenos pueden administrarse en dosis fisiológicamente activas durante el período requerido (12-14 días) vía intravaginal. Las inyecciones de $\text{PGF}_2\alpha$ no son luteolíticas cuando se administran durante los primeros 4 días del ciclo. Haresign (1978) citado por Crighton et al. (1978) demostró que 2 inyecciones de $\text{PGF}_2\alpha$ dadas a intervalos de 8 ó 9 días resultaron en una buena sincronización de estros y porcentajes normales de concepción después de la segunda inyección de $\text{PGF}_2\alpha$. Si este tratamiento parece muy eficaz cuando un cuerpo lúteo está presente, hay que tomar en cuenta que muchas veces, excepto durante la plena estación sexual, en

un grupo de cabras hay algunas que no se encuentran en ciclo en las cuáles las prostaglandinas no son eficaces (Chemineau, 1992).

II.3. ENDOCRINOLOGIA DE LA REPRODUCCION.

Prácticamente todas las funciones reproductivas se realizan bajo la influencia de las hormonas, las cuáles son segregadas y producidas por glándulas especiales llamadas endócrinas, carentes de ductos y depositadas en el torrente sanguíneo para ser transportadas por ese medio a lugares distantes donde van a actuar produciendo cambios metabólicos. A los lugares que afectan las hormonas se les denominan "órganos blancos". La acción general de las hormonas se sintetiza en dos formas de estímulos, uno de los cuáles consiste en inducción del crecimiento y el otro en la diferenciación o cambio en los procesos metabólicos de los tejidos que afectan (Gutiérrez, 1978). La interacción de varias hormonas hipotalámicas e hipofisiarias estimula al ovario para responder mediante la formación de un óvulo y la presencia de libido. El nivel de GnRH y FSH, antes y después del primer ciclo estrual, manifiesta pocos cambios en la concentración. Durante el período prepuberal y la pubertad, el animal exhibe un cambio en el nivel de LH. Ocurre una primera elevación de LH

unos 10 días antes del celo, y luego otra, de aproximadamente la misma magnitud, durante el estro. En el segundo caso, el ascenso del nivel es necesario para la ovulación; hasta donde se sabe el primer pico es clasificable sólo como preparatorio (Sorensen, 1982).

Control de la secreción hormonal: ésta se lleva a cabo principalmente por el proceso llamado retroalimentación, en donde el producto final derivado por la acción de una hormona controla la secreción de la misma (Gutiérrez, 1978).

Gonadotropinas hipofisiarias.

Hormona Folículo Estimulante: ésta hormona parece ser secretada en una manera más compleja que la LH, y su secreción parece ser continua en vez de en pulsaciones. En la hembra la FSH parece secretarse durante la ola pre-ovulatoria simultáneamente con la LH, 2-3 días más tarde (llamada segunda oleada de FSH) y a mitad del ciclo. La secreción de FSH depende de un complejo mecanismo que involucra un efecto de retroalimentación negativa de las secreciones gonadales (Chemineau et al., 1991). La FSH se sintetiza en la adenohipófisis, en respuesta a la presencia de GnRH, y a su vez promueve el desarrollo de los folículos ováricos y la

producción de estrógenos. La FSH se encuentra en la sangre y comienza a elevarse del cuarto al sexto día. Durante el resto del ciclo, seguirá aumentando y estimulará el desarrollo folicular. Al parecer el nivel de la hormona sigue en aumento hasta la ovulación (Sorensen, 1982) y estimula la secreción de hormonas ováricas, sobre todo de estradiol (Schottelius, 1975).

Hormona luteinizante: la secreción de LH no es un fenómeno continuo. Se ha demostrado que ocurren descargas rápidas de hormona en la sangre (llamadas pulsaciones) seguidas de períodos con secreción basal. Cada pulsación resulta de la estimulación de las células pituitarias por GnRH. Por la tanto, la frecuencia de secreción de la GnRH por las neuronas hipotalámicas determina la frecuencia de las descargas de LH, y consecuentemente, la frecuencia en la estimulación de las gónadas. En la hembra durante el ciclo estrual, justo antes de la ovulación, hay una descarga masiva de LH en la sangre constituyendo la ola pre-ovulatoria. Esta ola es causada por un efecto de retroalimentación positivo de los estrógenos del ovario. En la hembra, los efectos de retroalimentación positivos y negativos se alternan para el control de la actividad gonadotrópica (Chemineau et al., 1991). La LH es producida en las células de la adenohipófisis como respuesta a la presencia de GnRH, su función es inducir a la ruptura del folículo y comenzar el desarrollo del cuerpo lúteo. Esta

hormona muestra un pico pronunciado al principio del estro y la ovulación ocurre unas 30 hrs. después (Sorensen, 1982). Esta hormona estimula la secreción de estrógenos y progesterona por el ovario (Schottelius, 1975).

La ovulación o ruptura del folículo y liberación del óvulo ocurre a medida que el folículo madura y sus paredes se deterioran. En ése momento se pone muy turgente y así seguirá durante las siguientes fases del desarrollo; pocas horas antes de la ovulación, se reblandece, al parecer debido a la distensión y necrosis de la pared. El folículo se abulta para formar un estigma o proyección en forma de cono, en la cual se produce el rompimiento. El delgado líquido folicular sale hacia el exterior arrastrando consigo la masa celular del óvulo, la cual se desprende de las células de la granulosa que muestran signos de degeneración. La masa celular se desplaza hacia el estigma abierto y tapona temporalmente el orificio. La repentina liberación de la masa permite al óvulo y a las células que lo rodean, quedar libres en la porción infundibular del oviducto (Sorensen, 1982).

Si existen deficiencias de LH se presentan fallas en la ovulación; y si hay exceso en LH hay ovulación precoz (Gutiérrez, 1978).

Bajo condiciones naturales la síntesis y descarga de LH y FSH en la hembra se regula por la acción de retroalimentación de esteroides. Existen dos tipos de sistemas de retroalimentación, uno estimula la descarga de gonadotropinas y el otro inhibe su descarga. Una variedad de evidencias demuestra que la retroalimentación positiva de los esteroides ováricos, primeramente hacia el hipotálamo, provoca la ola pre-ovulatoria de LH (Follet y Davies, 1979; citados por Opel 1979). La retroalimentación negativa de los esteroides ováricos, probablemente actúan parcialmente a nivel de hipotálamo y parcialmente en la pituitaria, regula la secreción de gonadotropinas requerida para el crecimiento, maduración y mantenimiento funcional del ovario (Davies, 1976; citado por Opel 1979).

Gonadotropinas no hipofisiarias.

HCG: dentro de sus funciones está mantener la función secretora del cuerpo lúteo, convirtiendo el cuerpo lúteo del ciclo en cuerpo lúteo de la gestación, de tal forma que permite el buen progreso de la preñez (Gutiérrez, 1978).

PMSG: es otra hormona, que no es secretada en forma natural por las cabras, pero es ampliamente utilizada para estimular exógenamente los ovarios de las hembras, y puede por

lo tanto considerarse como una gonadotropina (Chemineau et al., 1991).

Hormonas gonadales (esteroides).

En respuesta a la estimulación provista por las gonadotropinas, las gónadas producen gametos para asegurar la reproducción. También sintetizan y secretan hormonas (esteroides principalmente) los cuáles, a su tiempo, actuaran en la producción de gametos, conducta sexual, secreciones de la glándulas accesorias, actividad uterina y finalmente el sistema hipotálamo-pituitaria para ejercer la retroalimentación reguladora. Dentro de los esteroides pueden distinguirse 3 clases principales : testosterona (hormona masculina) y otros andrógenos, estradiol (hormona femenina) y otros estrógenos, progesterona (hormona de la preñez) y otros progestágenos (Chemineau et al., 1991).

Estrógenos: son esteroides segregados principalmente por la teca interna de los folículos, una de sus funciones más importantes es provocar por el sistema nervioso central, previamente sensibilizado por la progesterona, la presentación del estro o celo; además se sabe que el aumento repentino de las cantidades de estrógeno en el torrente sanguíneo estimulan la descarga de LH, en éste momento parece ser que los

estrógenos retroalimentan negativamente a la FSH (Gutiérrez,1978). El estradiol 17 β es la principal hormona secretada por el folículo ovárico saludable, principalmente durante el crecimiento folicular tardío. Su secreción en la sangre de la vena ovárica depende directamente de las pulsaciones de LH, provoca la aparición de una pulsación de estradiol 17 β . Antes de la ovulación el folículo preovulatorio secreta cantidades importantes de estradiol 17 β , este y otros estrógenos también son secretados por la unidad feto-placentaria (Chemineau et al., 1991).

Progesterona: ésta hormona esteroide es secretada principalmente por el ovario (cuerpo lúteo), y como se sabe el mantenimiento de la gestación depende en gran medida de ésta hormona (Gutiérrez, 1978). La progesterona también es secretada por la unidad feto-placentaria. La secreción de progesterona depende de la secreción de LH. Esta hormona bloquea las ovulaciones cíclicas por retroalimentación negativa, prepara al útero para la implantación del embrión, desarrolla la glándula mamaria durante la preñez. Otros progestágenos (FGA,MAP,etc) tienen el mismo efecto pero con mayor eficiencia (Chemineau et al., 1991).

Andrógenos: la testosterona es el andrógeno biológicamente más potente, pero no es utilizada como tal por los órganos

receptores, si no en forma de un metabolito mucho más potente denominado "dehidrotestosterona". Los andrógenos son los responsables de que el hipotálamo funcione característicamente en machos y hembras (Gutiérrez, 1978). La testosterona también es influenciada por las pulsaciones de LH, en la hembra tiene un efecto de retroalimentación negativa con las gonadotropinas, y se involucra en la atresia folicular intra-ovárica (Chemineau et al., 1991).

PGF₂α: no es un esteroide pero es un derivado del ácido araquidónico y es secretada por el útero en respuesta al estradiol 17 β proveniente del ovario durante la luteólisis. La PGF₂α es responsable de la desaparición del cuerpo lúteo al final del ciclo si la hembra no quedó preñada (Chemineau et al., 1991).

Las hormonas pueden utilizarse convenientemente para la inducción del estro y de la ovulación con progestágenos y prostaglandinas. Un bajo porcentaje de cabras son inducidas al estro y a la ovulación cuando son tratadas únicamente con progesterona o progestágenos. Por ejemplo en las cabras Angora en anestro sólo el 13% (5/38) de las hembras ovulan cuando se utilizan esponjas vaginales conteniendo 45 mg. de FGA, mientras que el 90% de éstas (141/156) ovulan cuando reciben las mismas esponjas, más PMSG (Ritar et al., 1984; citados por Chemineau,

1992). La inducción de la ovulación puede ser obtenida provocando la descarga pre-ovulatoria de LH con la PMSG, con una asociación de PMSG y GnRH, o con la HMG. La PMSG es capaz de provocar la aparición de un pico importante de estradiol, de inducir la aparición del estro, el pico pre-ovulatorio de LH y la ovulación. La asociación PMSG y GnRH produce un aumento de estradiol más importante que la PMSG sola; por el contrario, la respuesta estrogénica de HMG es mucho más pequeña que la que se obtiene con la PMSG (Tamanini et al., 1985; citados por Chemineau, 1992). Aunque todas éstas hormonas provocan la ovulación, la más utilizada por el momento es la PMSG. La duración de la fase lútea inducida con la PMSG sola es a menudo anormalmente corta; un pre-tratamiento con la progesterona u otro progestágeno permite un desarrollo normal del cuerpo lúteo (Chemineau, 1992).

Cuando el tratamiento progestativo es corto, la fertilidad es mejor, pero los tratamientos deben, en la mayoría de los casos, sobre todo en el trópico, ser aplicados a grupos de cabras que estén o no cicladas. Como consecuencia de esto deben utilizarse al mismo tiempo la progesterona o progestágenos y las prostaglandinas que permiten inducir una luteólisis en las hembras que tenían un cuerpo lúteo al inicio del tratamiento progestativo. En éste caso la administración de la prostaglandina se hace más de cinco días después del inicio del

tratamiento progestágeno para inducir con certeza la regresión lútea y dos días antes de que éste finalice, para que el intervalo fin de tratamiento-inicio del estro sea más constante. La utilización de las prostaglandinas parece necesaria sobre todo en razas de cabras que tienen una tasa de ciclicidad bastante alta al inicio del tratamiento, como por ejemplo la cabra Murciana Granadina (35 y 21% en Abril y Agosto, respectivamente; Callén Morán, 1990, citado por Chemineau, 1992). En cabras Alpinas y Saanen inseminadas artificialmente, la fertilidad es más alta cuando se utiliza un tratamiento de 11 días con esponjas vaginales impregnadas de FGA, asociado con una inyección de prostaglandinas el día 9, que cuando se usa un tratamiento de 21 días (61 vs 57% en 6970 vs 6240 hembras; Corteel et al., 1988; citados por Chemineau, 1992). La inyección de PMSG 48 hrs. antes del final del tratamiento comparado con la inyección al final del tratamiento, aumenta la tasa de ovulación en cabras Angora (2.5 vs 1.9, en 30 vs 28 hembras respectivamente; Ritar et al., 1984; citados por Chemineau, 1992). Además aumenta la fertilidad en cabras Alpinas y Saanen (53 vs 45% en 152 vs 163 hembras; Corteel et al., 1968; citados por Chemineau, 1992) y Cashmere (57 vs 52% en 81 vs 84 hembras; Ritar et al., 1989; citados por Chemineau, 1992). La repetición del tratamiento con PMSG, provoca la aparición de anticuerpos contra ésta hormona, lo que disminuye su eficiencia (Chemineau, 1992).

II.4. ENDOCRINOLOGIA DEL CICLO ESTRUAL

Estas son algunas consideraciones relacionadas con la secuencia de eventos endócrinos durante el ciclo estrual de la vaca:

1) Se ha encontrado que los picos de LH y FSH coinciden con el ciclo estrual.

2) El nivel de progesterona baja bruscamente por el día 17 del ciclo como consecuencia de la lisis del cuerpo lúteo causada probablemente por la $\text{PGF}_2\alpha$ producida en el endometrio bajo el efecto de la progesterona.

3) Como consecuencia de la caída de los niveles de progesterona, los folículos producen grandes cantidades de estrógenos y andrógenos lo cual estimula una rápida descarga de FSH y LH, lo que ocurre aproximadamente a las 12 hrs. Los niveles altos de andrógenos y estrógenos, provocan la presentación del celo; la ovulación se presenta aproximadamente a las 24 hrs. siguientes al pico de LH.

4) Después de la ovulación se organiza el cuerpo lúteo y

comienza la fase lutéica en el cual se eleva el nivel de progesterona que impide la descarga súbita de LH que pudiera causar la ruptura de folículos inmaduros.

5) Posterior a la ovulación hay una secreción continua de LH, FSH y prolactina en cantidades pequeñas durante toda la fase lutéica lo cual mantiene el normal crecimiento folicular y la secreción hormonal del cuerpo lúteo.

6) La anterior secuencia es similar en ovejas y cabras, con la diferencia principal de la duración en tiempo.

(Gutiérrez, 1978). Ver figura 1.

Proestro: ésta fase no es muy definida, dura de 2-3 días en ovinos y presenta características como la regresión del cuerpo lúteo a partir de los días 14-16 en ovejas, se inicia un aumento en los niveles de estrógenos y se presenta un descenso brusco en el nivel de progesterona un día después del inicio del proestro.

Estro: ésta es la fase donde ocurre el apareamiento de la hembra. Su duración varía entre especies y a causa de otros factores; en la mayoría de las especies domésticas la ruptura folicular (ovulación) acontece en ésta fase.

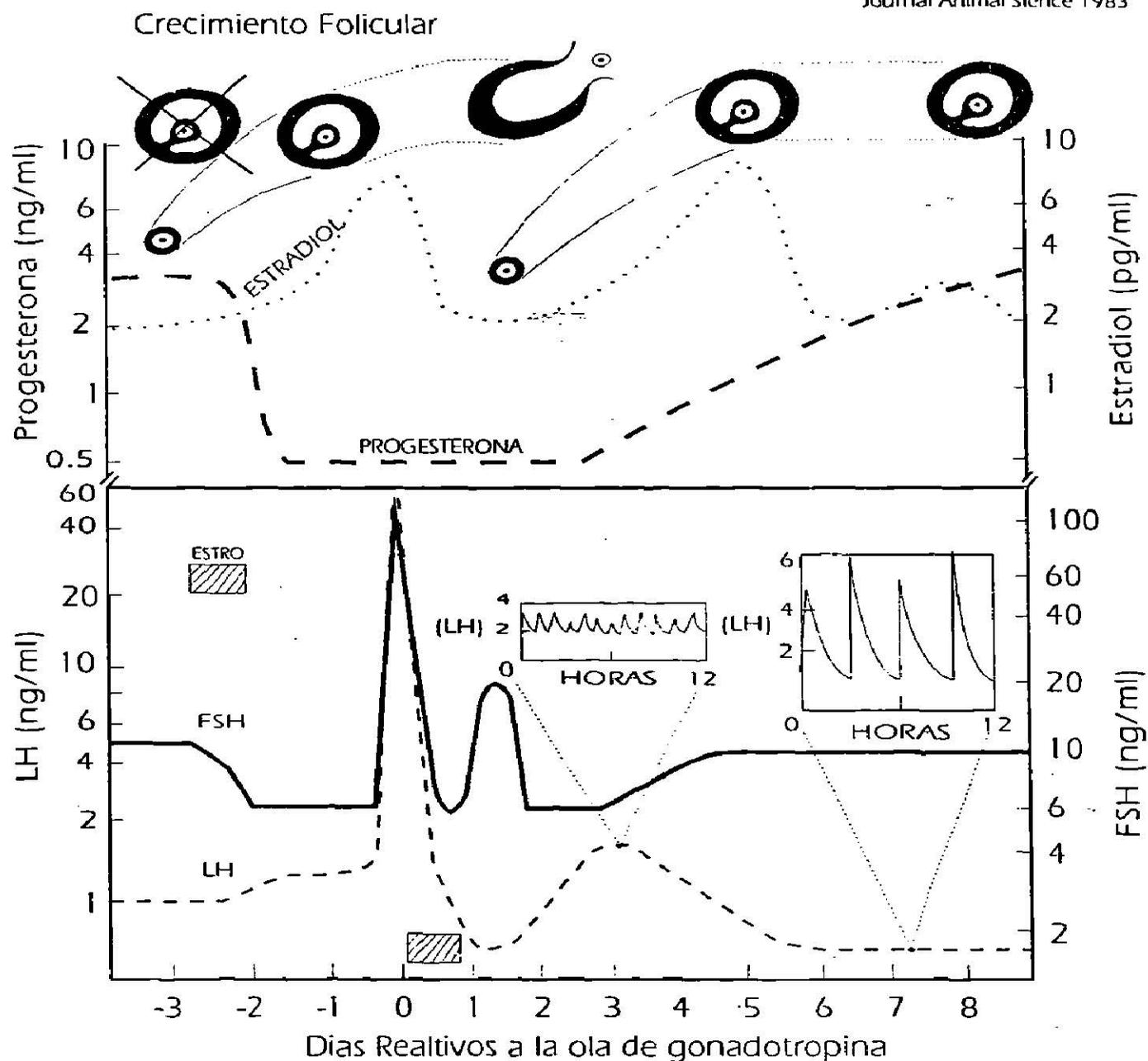


Fig. 1 Representación compuesta de los cambios foliculares y endocrinos desde la regresión lútea hasta el resurgimiento de la función lútea en vacas, borregos y cerdos. Crecimiento y regresión de los folículos estrogénicamente activos en la parte superior.

Metaestro: es una fase imprecisa que comprende la organización folicular posterior a la ruptura de éste. El folículo se transformará en una estructura diferente, productora de hormonas, el cuerpo lúteo. Este proceso dura más o menos 3 días después de los cuáles aumenta significativamente el nivel de progesterona.

Diestro: corresponde a la fase luteica o progestacional del ciclo estrual. El diestro termina cuando declina el cuerpo lúteo y la secreción de progesterona. Esta fase se caracteriza por la abundante actividad secretora de las glándulas endometriales, bajo la influencia de la progesterona. (Gutiérrez, 1978).

II.5. BASES FISIOLÓGICAS DE LA SUPEROVULACION

El aumento del número de folículos en crecimiento y su ovulación, son obtenidos con la inyección de hormonas gonadotrópicas al final de un tratamiento progestativo. Una preparación de extractos hipofisarios (FSH/LH) es actualmete utilizada en lugar de la PMSG sola, lo que limita la aparición de cuerpos lúteos de corta duración (Moore, 1987; citado por Chemineau 1992). y que aumenta la tasa de fertilización (Moore

y Eppleston, 1979; citados por Chemineau, 1992). Las modalidades de su utilización han sido definidas: dosis total, número de inyecciones por día, duración del tratamiento, y repartición de las dosis por inyección produciendo en promedio 5 embriones utilizables por cabra tratada. Sin embargo la variabilidad de las respuestas ováricas son bastante elevadas. Un exceso, así como una falta de LH, disminuye la estimulación ovárica. En la actualidad ya han sido determinadas las aportaciones óptimas produciendo un acondicionamiento separado de las dos hormonas. Este acondicionamiento permite administrar de manera secuencial la FSH en dosis decrecientes y la LH en dosis crecientes (Baril et al., 1989; citados por Chemineau, 1992).

Anticuerpos anti-FSH porcina han sido detectados después de tratamientos repetidos; una correlación negativa bastante fuerte existe en éste caso entre el título de anticuerpos y la respuesta ovárica (Rémy et al., 1991; citados por Chemineau, 1992). Anteriormente la necesidad de utilizar la cirugía, debido a la dificultad de pasar el cérvix por vía exocervical (Kraemer, 1989; citado por Chemineau, 1992), limitaba la posibilidad de repetir las colectas a causa de la aparición rápida de adherencias. La utilización reciente de la colecta por laparoscopia, permite realizar más de siete colectas sucesivas en la misma cabra, aunque la recuperación es

limitada a 60% y la variabilidad es importante entre animales (Baril et al., 1989; citados por Chemineau, 1992).

Después de una estimulación hormonal, los intervalos entre el retiro de la esponja-inicio del celo e inicio del celo-pico de LH son muy variables. Además las ovulaciones están repartidas en un período más largo de tiempo que durante las ovulaciones naturales. Para obtener una tasa alta de fecundación, es necesario conocer precisamente los tiempos de ovulación para el conjunto de la población o, preferencialmente, para cada hembra tratada. El inicio del estro no está suficientemente correlacionado con el momento de la ovulación para permitir la selección de un momento adecuado para la inseminación artificial. El intervalo entre el pico de la LH y la ovulación es menos variable, por lo que el conocimiento del momento de aparición de éste pico da una buena indicación del momento de la ovulación (Baril y Vallet, 1990; citados por Chemineau, 1992). Elevadas tasas de fecundación después de la superovulación son obtenidas con la monta natural. Estas tasas son más bajas cuando el semen se deposita al nivel del cérvix (Baril et al., 1989; citados por Chemineau, 1992). El depósito del semen por laparoscopia (I. A. intra-uterina), permite, cuando se realiza en el momento óptimo, obtener tasas de fecundación cercanas a las observadas con la monta natural (78, 71 y 60% en 61, 49 y 120 cabras

inseminadas por laparoscopia, monta natural e inseminación artificial clásica, respectivamente (Vallet y Baril, 1990; citados por Chemineau, 1992).

La producción de embriones de un tratamiento superovulatorio dado es determinado por el desarrollo folicular al tiempo del tratamiento hormonal; hay entre 2-4 curvas de foliculogénesis durante el ciclo estrual de una vaca. Cada ciclo toma aproximadamente 60 días para progresar a través de las 4 fases de desarrollo: de folículo primordial a primario, secundario, preantral y folículo de Graff. En el ciclo estrual típico, madura una oleada de folículos cada semana terminando con un solo folículo dominante al final de la primera, segunda y tercer semana del ciclo; al final de la tercer semana las vacas muestran estro o celo y el folículo dominante ovula formando el cuerpo lúteo que permanece por los próximos 17 días. El oocito degenera en los folículos que no ovulan y desaparecen del ovario. Característicamente el folículo dominante crece mientras que los demás se hacen atrésicos. La dominancia se mantiene por la secreción de estrógenos e inhibición. La inhibición que causa la supresión de la secreción de FSH es un mecanismo de control intrafolicular. El folículo dominante requiere menos FSH que los folículos más pequeños y los folículos más pequeños se vuelven menos sensibles a la FSH (Sorois y Fortune, 1988 citados por

Donaldson, 1991). Una oleada de LH causa ovulación por el folículo dominante. Esta oleada es bloqueada por la progesterona cuando hay un cuerpo lúteo en el ovario, así se evita la ovulación a mitad del ciclo. El folículo dominante es responsable de la mayoría de las secreciones por los ovarios, lo cual quiere decir que entre mayor sea el folículo dominante, menor el intervalo al estro después de la luteólisis (Donaldson, 1991).

La FSH juega un papel esencial en el crecimiento y desarrollo de los folículos ováricos por la estimulación del crecimiento de los folículos preantrales y pequeños (Monneaux et al., 1983 citados por Donaldson, 1991). La FSH revierte la atresia de los folículos de más de 1.7 mm de diámetro. La LH es responsable de la producción de andrógenos de la teca interna del folículo. Los andrógenos son precursores usados por las células granulosas para la producción de estrógenos. La producción de estrógenos es controlada por la FSH (Richards, 1980 citado por Donaldson, 1991). Este es un paso esencial en el proceso superovulatorio causando el resurgimiento del crecimiento de los folículos preantrales. La LH causa el resurgimiento de la meiosis del oocito preovulatorio (Moor et al., 1984 citados por Donaldson, 1991), por lo tanto si la oleada de LH viene antes o después va a interferir con el tiempo de desarrollo del óvulo lo cual resultará en un óvulo

fuera de fase con el ciclo, ésto puede resultar en una falta de fertilización y degeneración de los embriones fertilizados (Donaldson, 1991).

El número de folículos saludables presentes en el ovario al tiempo del tratamiento superovulatorio determina el número disponible para la producción de embriones. La FSH no es responsable de la ocurrencia del estro después de la superovulación, ésto depende de la lisis del cuerpo lúteo y la presencia de un folículo dominante. Como se explicará más adelante, algunos de los factores que influyen en la superovulación son: FSH, LH, proporción FSH/LH, edad de la donadora, raza y estado lactacional (Donaldson, 1991).

Las drogas y hormonas exógenas han producido superovulación y sincronización de estros en cabras. La PMSG es conocida por su larga vida media y su eficiencia en una sola inyección. Sin embargo, tiene la desventaja de producir un gran número de folículos sin ovular comparado con la FSH-P. La FSH-P es una hormona de vida corta y tiende a producir cuadros endócrinos de periestro, de estradiol, progesterona y LH en cabras superovuladas en comparación con las tratadas por PMSG (Armstrong et al., 1983 citado por Amoah y Geleye, 1988). PMSG ha sido asociada con baja fertilización en cabras superovuladas (Eppleston, 1982 citado por Amoah y Geleye, 1988). Tervit et

al. (1986) citados por Amoah y Geleye (1988) observaron mejor ovulación y porcentajes de concepción con FSH-P en comparación a PMSG.

En la época normal de empadre, en cabras sincronizadas, el estro puede inducirse por PMSG (Greyling et al., 1985 citados por Amoah y Geleye, 1988); FSH-P (Armstrong et al., 1983 citados por Amoah y Geleye, 1988); HAP (Eppleston, 1982 citado por Amoah y Geleye, 1988); y GnRH (Nobe y Bartlett, 1988 citados por Amoah y Geleye, 1988). Combinaciones de hormonas exógenas, que se necesitan generalmente para mejorar la estimulación de estro son PMSG + $\text{PGF}_2\alpha$ (González-Stagnaro, 1982 citados por Amoah y Geleye, 1988); $\text{PGF}_2\alpha$ + FSH-P (Nutti et al., 1987 citados por Amoah y Geleye, 1988); PMSG + HCG o PMSG + Estradiol (Emmanoulidis, 1984 citado por Amoah y Geleye, 1988).

TABLA 1. Promedio de huevos y embriones recuperados para cabras lecheras cruzadas superovuladas.

Tratamiento	n	Promedio (+-S.E.)		
		Huevos recuperados	Embriones recuperados	Embriones transferibles
PMSG	7	7.1+-2.8	0.8+-0.7	0.1+-0.1
FSH	9	7.1+-1.4	7.0+-1.4	6.7+-1.5

Small Ruminant Research, Pendleton et al. (1991)

II.6. ESTRO Y OVULACION FUERA DE LA TEMPORADA DE EMPADRE

Pendleton et al. (1991), utilizaron un implante en la oreja de Synchronate-B por 16-17 días, seguido por una inyección de gonadotropina para estimular estro y ovulación, usualmente PMSG o FSH-P. Tamanini et al. (1985) citados por Amoah y Geleye (1988) también mejoraron la inducción de estro y ovulación con una combinación de PMSG y GnRH administrados al quitar la esponja de FGA.

TABLA 2. Comparación de transferencia en borregas Lacaune durante la época de empadre y anestro.

Epoca	Cuerpos Lúteos Total	M+-SEM	# Embriones Total	Recuperados M+-SEM	# Gestaciones/ transferencia
Empadre	237	11.2+-1.4	204	9.3+-1.4	58/76, 76.3%
Anestro	126	8.4+-1.3	106	7.1+-1.1	24/29, 82.7%

Theriogenology, Torrès et al. (1986).

La hormona melatonina, secretada por la glándula pineal parece mediar el efecto supresivo de los días largos así como el efecto inductivo de los días cortos en las especies de mamíferos fotoperiódicos (Robinson et al., 1986 citados por Amoah y Geleye, 1988). Administración de melatonina exógena a

cabras expuestas a días largos (16 hrs. luz, 8 hrs. obscuridad) mantuvo una actividad sexual máxima de cabras en anestro (Chemineau et al., 1991).

El empadre se lleva a cabo cuando la cabra muestra signos de estro, 20-72 hrs. post-tratamiento de hormonas exógenas (Pandita y Rathor, 1986 citados por Amoah y Geleye, 1988). La duración del estro en las cabras es de 16 a 48 horas. El porcentaje de ovulación puede ser de 1.4 para cabras sincronizadas normalmente con hormonas exógenas (Greyling et al., 1985 citados por Amoah y Geleye, 1988), o bien sobre 18 y hasta 24.5 para cabras superovuladas (Nutti et al., 1987 citados por Amoah y Geleye, 1988). Estos rangos de la duración del estro y porcentajes de ovulación pueden ser influenciados por varios factores incluyendo el tipo de empadre (Tervit et al., 1986 citados por Amoah y Geleye, 1988), la época de tratamiento (las cabras pueden estar ciclando o en anestro profundo), método de empadre (natural o inseminación artificial), condición del animal o plan de nutrición durante la época de empadre (Shelton y Steward, 1973 citados por Amoah y Geleye, 1988).

TABLA 3. # de cabras que mostraron estro y de las que se recuperaron huevos y embriones después de la superovulación con PMSG y FSH

Hormona	#	# cabras con estro (%)	# cabras con más de 1 huevo recuperado (%)	# cabras con más de 1 embrión normal recuperado (%)
PMSG	40	37 (93)	35 (88)	31 (78)
FSH	68	67 (99)	63 (93)	51 (84)

Theriogenology, Tsunoda y Sugie (1989).

La detección de estro y el tiempo de empadre son muy importantes. Los chequeos del estro pueden hacerse dos veces diarias. Las donadoras receptoras pueden aparearse dos veces usando machos a intervalos de 12 horas. Las cabras receptoras necesitan mostrar estro normal cuando menos una vez antes de su uso (Amoah, 1982 citado por Amoah y Geleye, 1988).

La medida del tiempo es crítica para la inseminación artificial y la fertilización. La doble inseminación, 12 y 24 hrs. después del comienzo del estro (que la hembra se quede quieta), da buenos porcentajes de concepción (70%), pero teóricamente con una sola inseminación, 1, 2 ó 3 hrs. después de la muestra de estro, debe ser suficiente. Las cabras que se indujeron a la ovulación sincronizada durante la época de estro tuvieron un mejor porcentaje de concepción después de una sola inseminación que después de dos inseminaciones (Corteel et al., 1988 citados por Amoah y Geleye, 1988).

McNatty et al. (1978) trató borregas con el objeto de establecer la conveniencia del uso de un régimen de GnRH como ayuda para la estimulación del funcionamiento normal del cuerpo lúteo, la ovulación y el comportamiento de estro en la época de anestro, obteniendo resultados limitados con dosis de 250 ng/h y 125 ng/h dando 50% y 27% de los animales, respectivamente, con ovulación y funcionamiento normal del cuerpo lúteo.

II.7. TRABAJOS COMPARATIVOS CON DIFERENTES SUBSTANCIAS SUPEROVULADORAS

Donaldson (1991) evaluó 7 productos de FSH, entre los cuales ocupó SUPER-OV, la cual se encontró como la preparación de FSH más efectiva (ver Fig. 2), y se encontró que el mejor régimen fué el tratamiento de 3 días con dosis igual de SUPER-OV. La media de embriones transferibles en los estudios de SUPER-OV, fué de 6 embriones, y la mediana de 4 embriones. En el caso de embriones totales, la media fué de 9.4, la moda de 1 y la mediana de 8.

La dosis de FSH-P y SUPER-OV ha tenido efectos significativos en respuestas superovulatorias en vacas. Los folículos que respondieren a la superovulación empiezan su desarrollo más de 40 días antes de que empiece la superovulación. Esto significa que las hormonas exógenas usadas

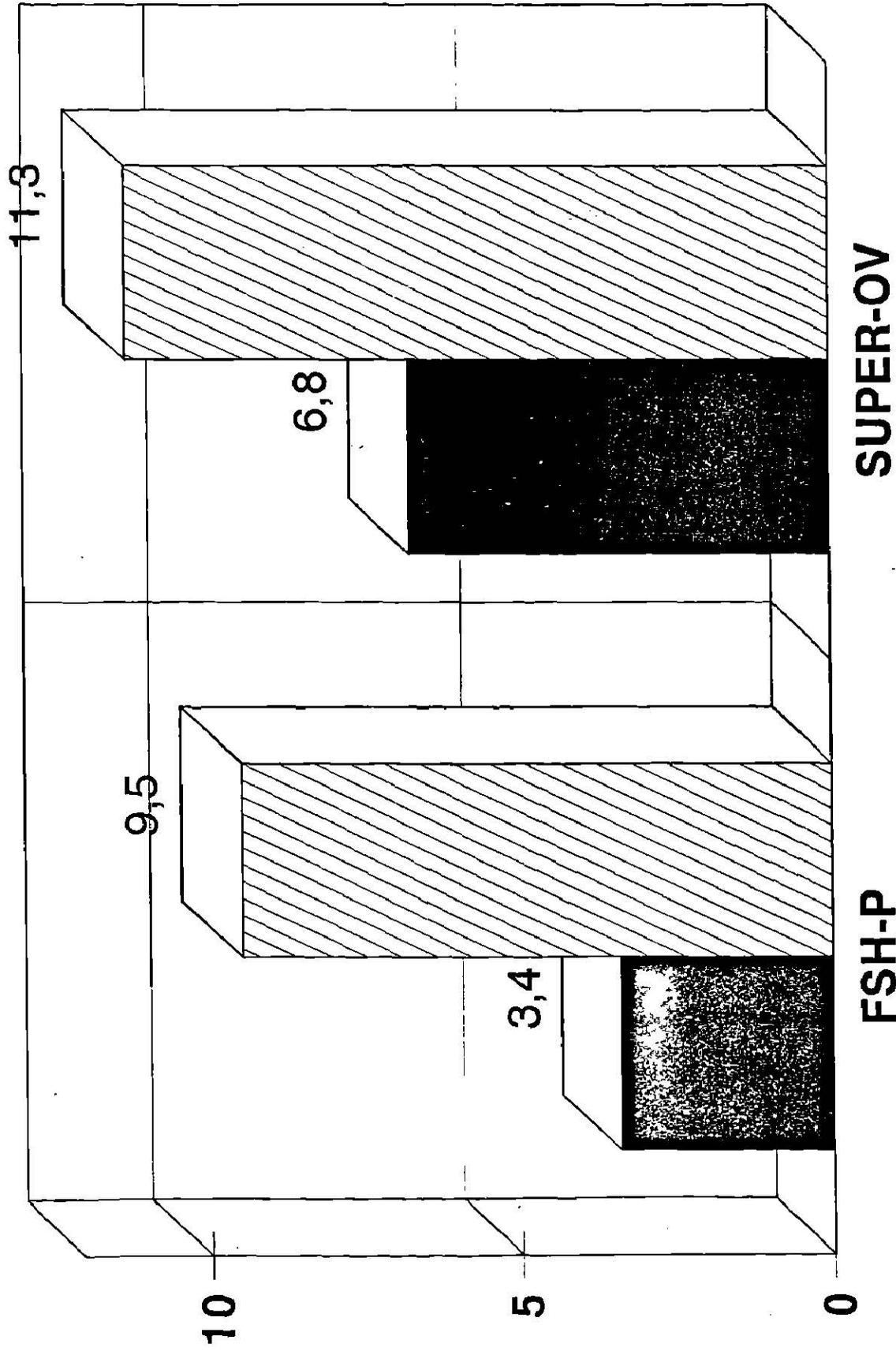
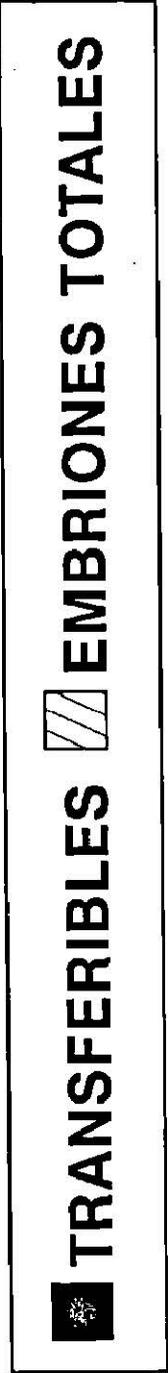


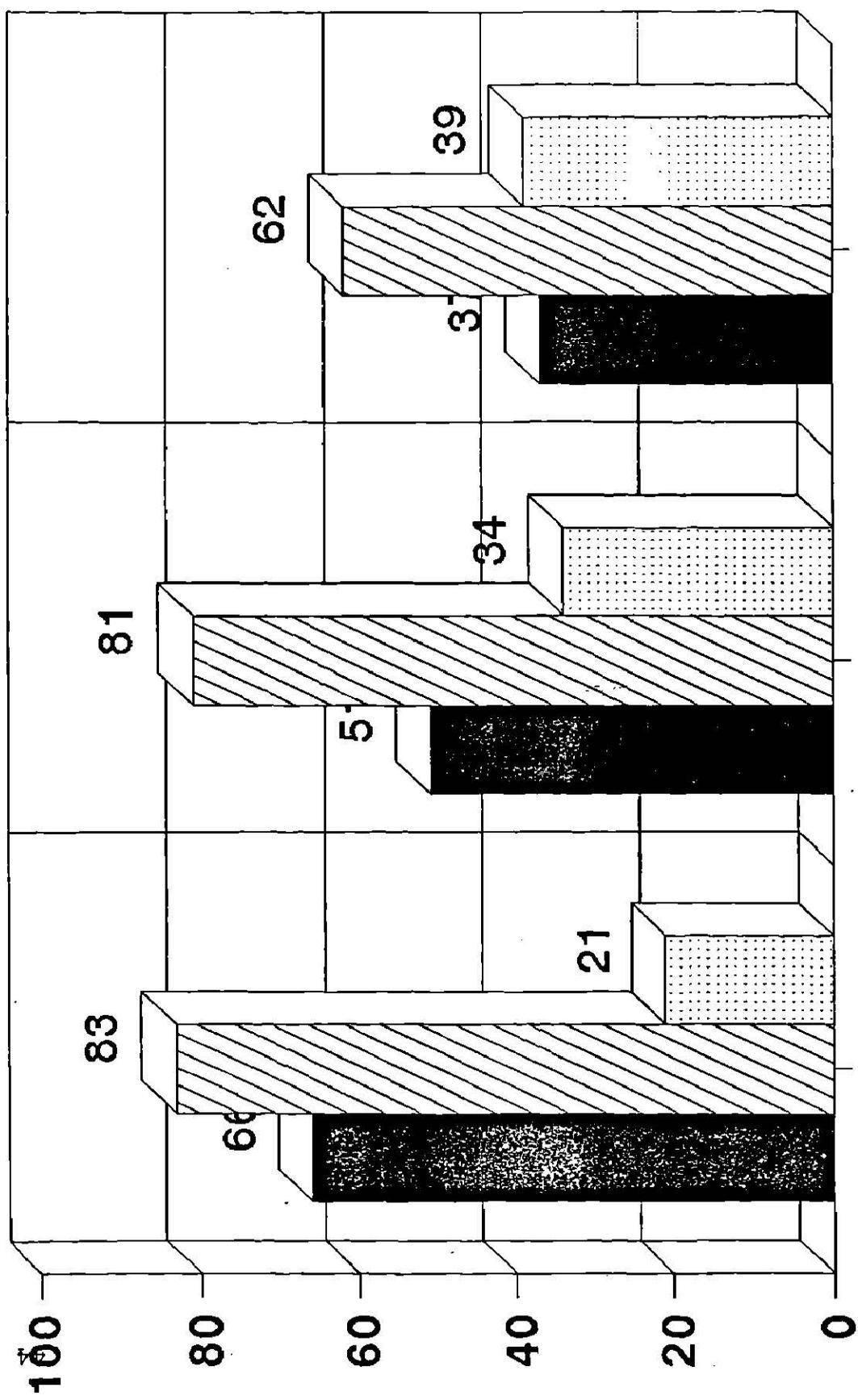
FIG. 2. PROD. DE EMBRIONES CON FSH-P



para la superovulación sólo pueden estimular y rescatar de la atresia a los folículos que ya están en medio de su ciclo de desarrollo. Solo los folículos que ya estaban presentes en el ovario responden al tratamiento con FSH, y responderán cualquiera que sea la fuente de FSH exógena. Se cree que el número de folículos atrésicos disponibles para recuperar por FSH, baja una vez que un folículo dominante se ha desarrollado. Entre el 20 y 30% de las vacas tienen un folículo dominante al momento de la superovulación (Donaldson, 1991).

Los niveles de progesterona en la sangre durante el estro en vacas superovuladas con FSH-P fueron mayores (0.88 ng/nl) que en vacas superovuladas con SUPER-OV (0.45 ng/nl). La FSH fué primeramente responsable del número de embriones producidos y la LH de su calidad, por ejemplo el número de transferibles.

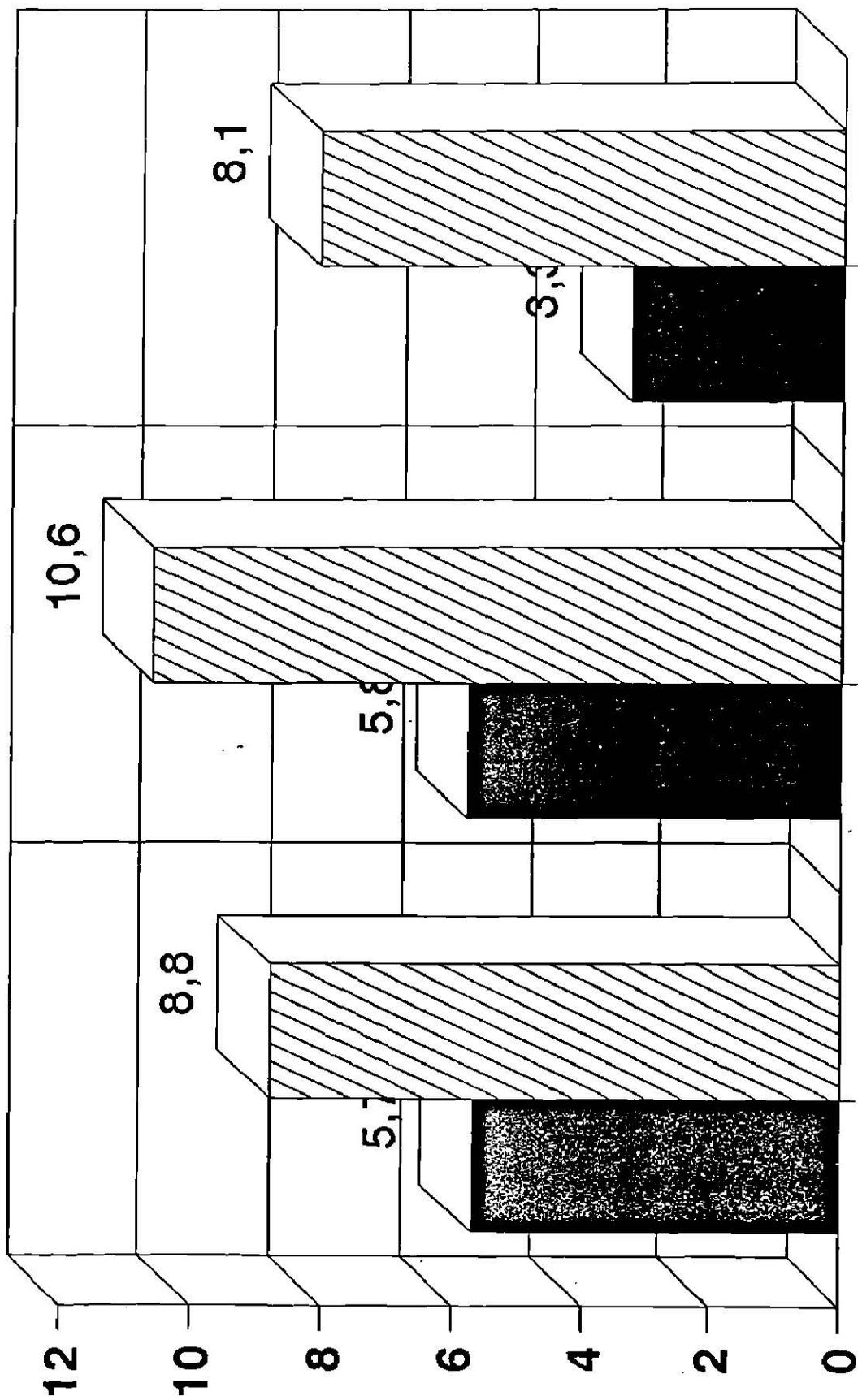
Debe haber una proporción FSH/LH óptima para superovulación. Cuando se usan preparaciones altamente purificadas de FSH para superovulación, se requieren grados de dosis mayores. A mayor proporción de LH sobre la proporción óptima, hay una inhibición dependiente con la dosis, de ovulación y problemas con la recuperación de embriones y su viabilidad (Ver figs. 3 y 4). Sin embargo hay un estudio que indica que la LH no puede ser necesaria en todos los casos (Donaldson, 1991).



FSH-Baja en LH FSH-Media en LH FSH-P comercial

FIG. 3. LA LH EN LA CALIDAD DEL EMBRION

TRANSFERIBLES
 FERTILIZADOS
 FERT. DEGENERADOS



FSH-Baja en LH FSH-Media en LH FSH-P comercial

FIG. 4. LA LH EN LA PROD. DE EMBRIONES

 TRANSFERIBLES
  EMBRIONES TOTALES

Pendleton et al. (1991), cita que los primeros experimentos utilizando PMSG para la superovulación resultaron en baja ovulación con un alto número de folículos sin ovular. Estudios posteriores revelaron que se podía aumentar el porcentaje de ovulación, porcentaje de recuperación de embriones y mejorar el número de embriones transferibles colectados usando FSH en lugar de PMSG según Tervit et al. (1985) citados por Pendleton (1991). Aunque se sabe mucho sobre el uso de gonadotropinas en el empadre controlado, la información comparativa del uso de PMSG y FSH-P es limitada (Kiessling et al., 1986, citado por Pendleton, 1991).

El experimento de Pendleton se condujo durante la época de empadre (Octubre-Noviembre). Las cabras fueron asignadas aleatoriamente según el tipo de raza dentro de 3 tratamientos. Todas las cabras recibieron un implante de 6 mg. de Norgestomet en la oreja por 11 días. Las cabras en el tratamiento A (n=10) recibieron una sola inyección i. m. de 750 U. I. de PMSG al momento de quitar el implante. Las cabras en el tratamiento B (n=10) se les administraron 2 inyecciones diarias i. m. de dosis decrecientes de 4, 3, 2 y 1 mg. de FSH-P (dosis total=20 mg.) dadas a intervalos de 12 hrs. durante 4 días consecutivos comenzando 48 hrs. antes de quitar el implante. Las cabras testigo sólo recibieron el implante de Norgestomet (Pendleton et al., 1991).

Se detectó el celo dentro de las 48 hrs. siguientes a quitar el implante en 9 de 10 cabras para los tratamientos A y B; en los días 5-7 del ciclo estrual se recuperaron, quirúrgicamente, los embriones de las cabras en los tratamientos A y B. La sincronización de estros y la respuesta ovárica se resúmen en la tabla 5. El tiempo en promedio al estro fué similar para las cabras en los tratamientos A y B, de cualquier manera mostraron celo antes que las testigos ($P < 0.05$) (Pendleton et al., 1991). 7 de las 9 cabras tratadas con PMSG (78%) se les descubrieron cuerpos lúteos anormales, sin embargo 2 tuvieron al menos 2 cuerpos lúteos normales. Sólo 4 de las 9 cabras tratadas con PMSG (44%) tuvieron algún cuerpo lúteo normal al momento de ovular. En comparación, sólo 2 de las 9 (22%) cabras tratadas con FSH tuvieron cuerpos lúteos tanto normales como anormales; mientras que las 9 (100%) tuvieron cuando menos 5 cuerpos lúteos normales (Pendleton et al., 1991).

El número promedio de cuerpos lúteos normales para las cabras en el tratamiento B fué mayor ($P < 0.05$) que para el tratamiento A y las testigo. Más ($P < 0.05$) cuerpos lúteos anormales se encontraron en el tratamiento A que en el tratamiento B y en las testigo. Así pues, cuando el número total de cuerpos lúteos normales y anormales se combinaron, no se vió diferencia entre las cabras tratadas con PMSG y FSH.

Ambas gonadotropinas produjeron un número mayor de cuerpos lúteos que las testigo. El número de folículos mayores (>5mm) fué similar entre los grupos (Pendleton et al., 1991).

TABLA 4. Sincronización de estros y respuesta ovárica en cabras lecheras cruzadas.

Trata- miento	n	Horas al estro	C. L. total	Folículos mayores	C. L. normal	C.L. anormal
PMSG	9	33.3+-2.7	12.5+-1.8	3.1+-1.8	4.1+-2.4	8.4+-2.4
FSH	9	32.0+-3.5	14.7+-2.5	0.9+-0.8	12.7+-2.6	2.0+-1.6
Testigo	9	48.0+-5.3	1.8+-0.3	0.0+-0.0	1.8+-0.3	0.0+-0.0

Small Ruminant Research, Pendleton et al. (1991).

El número promedio de huevos recuperados de las cabras tratadas con PMSG y FSH fué similar. De cualquier modo sólo 2 de los 7 animales tratados con PMSG produjeron huevos fertilizados, mientras que los 9 animales tratados con FSH produjeron huevos fertilizados. El número de embriones recuperados por donadora en el tratamiento A fué menor ($P < 0.01$) que en el tratamiento B. De igual manera, sólo una cabra del tratamiento A produjo un solo embrión de calidad transferible, mientras que todas las cabras en el tratamiento B produjeron 2 o más embriones de calidad transferible. El número de embriones de calidad transferible fué menor en el tratamiento A ($P < 0.01$) que en el tratamiento B (Pendleton et al., 1991).

Ya que el tipo de cuerpos lúteos anormales que se observaron se debió a la regresión prematura, hay evidencia de una liberación prematura de $\text{PGF}_2\alpha$ como la causa de la regresión lútea prematura en cabras superovuladas, aunque el mecanismo a través del cual la PMSG induce a la liberación prematura de $\text{PGF}_2\alpha$ no es bien conocida, la insuficiencia lútea ocurre más a menudo en cabras tratadas con PMSG que en animales tratados con FSH y se ha asociado con bajos porcentajes de recuperación de huevos (Battye et al., 1988 citados por Pendleton et al., 1991). La respuesta ovulatoria fué similar, difiriendo de los estudios de Tervit et al. (1985) y Selgrath (1990) en los que se obtuvo un mayor grado de ovulación de los tratamientos con FSH que de los tratamientos con PMSG. De cualquier modo, ésto indica que una proporción constante de FSH/LH como la que se utilizó en el estudio, disminuye los embriones con calidad transferible en comparación a las preparaciones de FSH conteniendo proporciones decrecientes de FSH/LH (Baril et al., 1989 citados por Pendleton et al., 1991). Aunque el número de huevos recuperados fué similar para los tratamientos, las cabras tratadas con FSH produjeron más embriones fertilizados y más embriones de calidad transferible por donadora que las cabras tratadas con PMSG. El número de embriones viables obtenidos de las cabras tratadas con PMSG fué muy bajo como para transferencia de embriones comercial. Estos resultados indican que la FSH es más ventajosa que la PMSG para la

superovulación de cabras lecheras secas (Pendleton et al., 1991).

Aparte de las hormonas exógenas hay factores que pueden afectar las respuestas superovulatorias de los animales. Ruttle et al. (1988), reportaron que la respuesta a la superovulación por FSH-P no difirió ($P > 0.05$) entre grupos de borregas por edades cuando se contó el número de cuerpos lúteos (ver tabla 5). De cualquier modo el número de embriones lavados y embriones buenos fué menor ($P < 0.05$) dentro de las borregas mayores (7 años).

TABLA 5. Respuesta ovárica de borregas donadoras al tratamiento con Norgestomet-B y FSH-P.

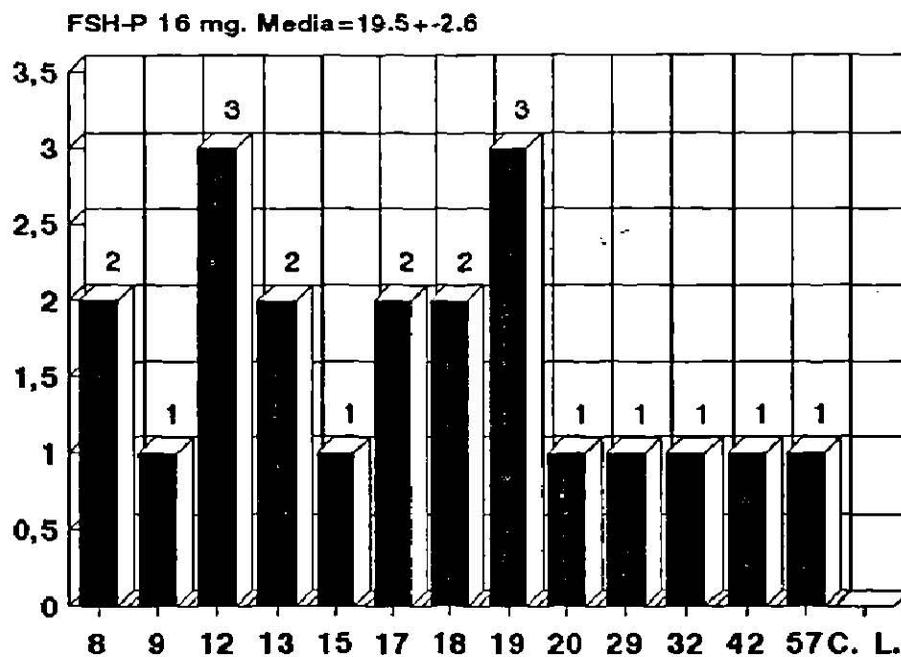
Edad	#	C. L.	Embriones total	Embriones transferibles
3	7	14.8+-1.9	7.5+-2.30	7.4+-2.2
4	11	12.8+-2.3	7.4+-1.6	5.9+-1.8
5	8	8.0+-1.5	5.1+-1.4	2.5+-0.8
6	7	14.2+-0.9	1.7+-0.9	1.7+-0.9

Theriogenology, Ruttle et al. (1988).

Torres et al. (1986), encontró que la misma dosis de FSH-P inducía superovulación significativamente mayor en razas prolíficas y encontraron que ovejas Romanov x Préalpes, con 16 mg de FSH-P dieron una media de 19.5 ± 2.6 ovulaciones, mientras que en la raza Lacaune, la media fué de 12 ± 1.5 ; la diferencia fué significativa (ver figura 5).

Sin embargo, Nuti et al. (1987) reportaron que no había diferencia significativa entre razas con respecto al número de folículos, cuerpos lúteos o en la respuesta ovárica total cuando se usó una dosis de 15 mg de FSH-P en cabras lecheras Nubias y Alpinas (ver tabla 6).

Donaldson (1991) hizo ver también el efecto del estrés en éste tipo de experimentos, mencionando que los factores de estrés interfirieron con la presencia del estro, estrés por altas o bajas temperaturas ambientales, mal tiempo, mal trato o trato continuo de la donadora o cambio repentino del régimen alimenticio de la donadora pueden dar cambios endócrinos y anestro. Uno de los cambios endócrinos medidos después del estrés fué la ausencia de oleada de LH al momento en que debía ser el estro. Las vacas que no tenían oleada de LH no mostraron estro, no ovularon y no produjeron embriones.



RAZA: ROMANOV x PREALPES

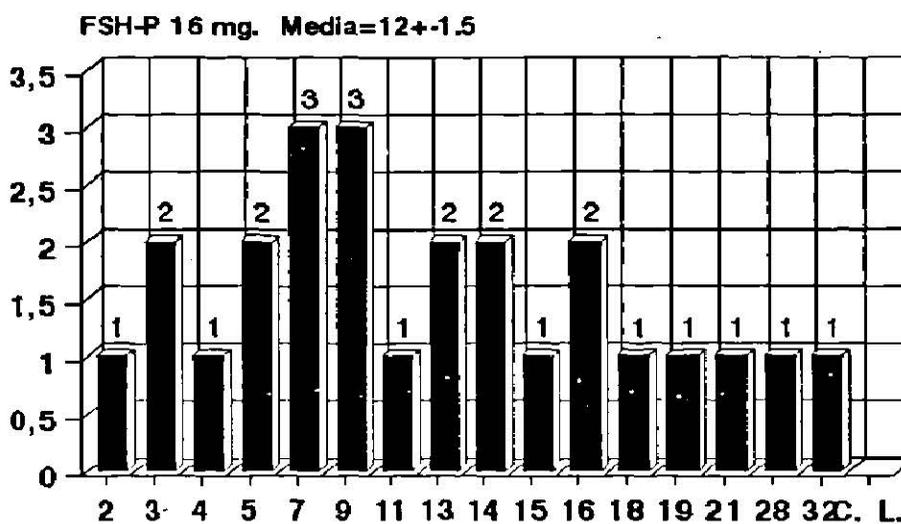


FIG.5.SUPEROVULACION EN RAZAS PROLIFICAS

■ No. DE CABRAS

RAZA: LACAUNE
THERIOGENOLOGY, TORRES ET AL., 1986.

TABLA 6. Respuesta ovárica total a FSH-P y a esponjas vaginales de 60 mg. MAP (11 d) para cabras lecheras Alpinas y Nubias

Raza	Folículos	C. L.	Total	Promedio+SEM
Alpinas	79	167	246	24.6+-8.7
Nubias	286	293	579	25.2+-8.9
Totales	365	460	825	25.0+-8.7

Theriogenology, Nuti et al. (1987).

En sus experimentos Donaldson estimó la respuesta superovulatoria contabilizando el número de cuerpos lúteos y tomando en cuenta el tamaño del ovario, el cual fué un compuesto del número y tamaño de cuerpos lúteos y número y tamaño de los folículos no ovulados; los ovarios de vacas estimuladas con FSH-P, fueron en promedio más grandes que los estimulados con SUPER-OV. El número promedio de cuerpos lúteos fué el mismo para los dos tipos de ovarios pero hubo más folículos y luteinización de folículos en los ovarios estimulados con FSH-P, pero la incidencia de cero colectados fué mucho mayor en vacas superovuladas con FSH-P que con SUPER-OV (ver figura 6).

Donaldson en sus pruebas comparó varios regímenes de superovulación (3 y 4 días con 1 y 2 inyecciones diarias), y el tratamiento de 3 días produjo más cuerpos lúteos (19.3+-7.9, P=0.026) que el tratamiento de 4 días (9.4+-7.9) y más embriones (10+-9, P=0.049) que el tratamiento de 4 días

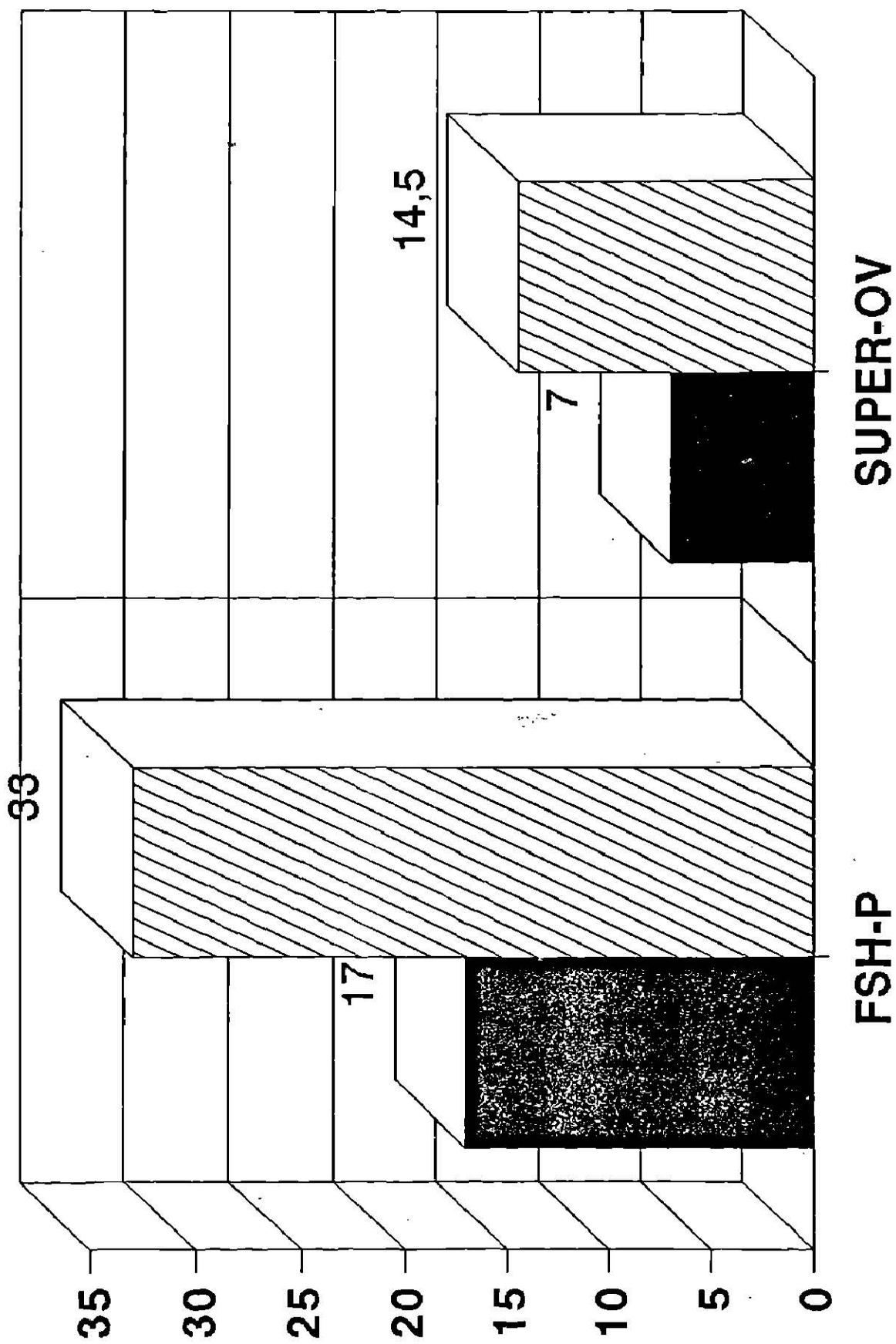


FIG. 6. INCIDENCIA DE CERO COLECTADOS

 EMBRIONES TOTALES
  TRANSFERIBLES

(6+-6.5). El porcentaje fué menor en un tratamiento por día (35.7+-39.9%, $P=0.035$), que en el tratamiento de dos veces por día (55.5+-37.5%).

Una gran cantidad de datos se han acumulado indicando que la FSH-P es superior a la PMSG y a la PMSG neutra para superovular ganado.

Donaldson (1991) condujo 6 experimentos en 5 centros comerciales de transferencia de embriones y en una universidad para comparar la eficiencia de SUPER-OV y FSH-P para la superovulación del ganado. Las vacas se asignaron aleatoriamente a los tratamientos, ya sea de 75 unidades de SUPER-OV o 30 mg FSH-P. Se inyectaron las hormonas 2 veces al día durante 4 días. El SUPER-OV en 8 inyecciones iguales y FSH-P en un régimen decreciente de dosis.

El estro se indujo con una prostaglandina al momento de la quinta inyección de hormona. Las vacas se detectaron en celo y se inseminaron con una pajilla de semen una sola vez las tratadas con SUPER-OV, y dos veces, a intervalos de 12 horas las tratadas con FSH-P. Se colectaron, contaron y evaluaron embriones y óvulos. SUPER-OV y FSH-P produjeron el mismo número de óvulos y embriones (media+-SE: 11.3+-0.35 y 9.5+-0.33, respectivamente).

De cualquier manera, SUPER-OV produjo más embriones transferibles (6.8 ± 0.24) que FSH-P (3.4 ± 0.19). En cada experimento SUPER-OV produjo más embriones transferibles ($P > 0.01$) que FSH-P (ver tabla 7). Las pruebas con OVAGEN (preparación de FSH ovina con bajos niveles de LH) no han sido tan eficientes como las de SUPER-OV (Donaldson, 1991).

TABLA 7. Producción de embriones con SUPER-OV y FSH-P.

#	F. S. H. - P.		SUPER - OV.	
	Transferibles	Totales	Transferibles	Totales
60	3.9	10.1	7.0	13.8
80	2.9	11.1	6.3	12.1
179	3.3	8.1	5.8	10.6
12	2.8	8.7	6.6	8.4
14	4.3	10.0	12.0	15.0
78	3.5	10.5	8.5	10.0
423	3.4	9.5	6.1	11.3

Superovulation on trial, Donaldson (1991).

Tsunoda y Sugie (1989), trabajaron con cabras nativas japonesas no estacionales con tratamientos para superovulación con PMSG y FSH, la proporción de hembras que entraron en estro (93 y 99%) y el intervalo entre la administración de PGF2 α y estro (1.5 y 2 días) no cambió. El número de embriones normales recuperados fué significativamente más alto ($P < 0.01$) en las tratadas con FSH (9.4 ± 5.6) que en las tratadas con PMSG

(5.7±4.4). Se utilizaron 40 cabras con una sola inyección de 1000 U. I. de PMSG y 68 con FSH 2 veces diarias por 4 días, una dosis total de 14.5-15.5 mg. Los tratamientos de gonadotropinas se empezaron de 6- 14 días después del ciclo anterior. El estro se indujo por 2 inyecciones de 12 y 6 mg de PGF₂α, 48 y 60 hrs. después de la primera inyección de gonadotropina. El promedio del número de embriones normales recuperados fué 9.4 en las hembras con FSH y sólo 5.7 con las de PMSG (ver tabla 8).

TABLA 8. # de ovulaciones, huevos y embriones recuperados en cabras después de la superovulación con PMSG y FSH

Hormona	#	# ovulaciones/ donadora	# huevos recup./ donadora	# embriones nor- mal recup/donadora
PMSG	31	10.0±4.5	7.5±4.7	5.7±4.4
FSH	51	16.2±7.8	11.5±6.1	9.4±5.6

Theriogenology, Tsunoda y Sugie (1989).

Smith (1984), citado por Rexroad y Powell (1991), estableció que la dosis óptima de FSH cruda para superovulación en borregas es de aproximadamente 20 mg, aunque no se ha establecido un protocolo óptimo para su administración; en el experimento de Rexroad y Powell (1991), las borregas fueron inyectadas con una dosis de 20 mg. de FSH cruda en diferentes

protocolos (dosis repartidas en 5 y 7 inyecciones, con o sin inyección de $\text{PGF}_2\alpha$). Los resultados indicaron que 5 inyecciones de FSH eran suficientes para una superovulación aceptable. En realidad desde que éstos estudios se han completado, Robinson et al. (1989) citados por Rexroad y Powell (1991) han reportado superovulación aceptable con 4 inyecciones de FSH porcino, con una dosis total de 16 mg. en dos días.

Ruttle et al. (1988) administraron FSH-P a borregas donadoras con el siguiente protocolo: 10 días después del implante 4 mg de FSH-P 2 veces al día; el día 11, 3 mg de FSH-P 2 veces al día; y el día 12, 2 mg de FSH-P 2 veces al día (total = 18 mg.). 5 días después del estro, las borregas donadoras se lavaron quirúrgicamente por laparatomía media ventral, durante ésta el número de cuerpos lúteos en cada ovario se registro. Los folículos presentes en cada ovario se midieron y se registraron como de 2 mm, 3 a 4 mm y mayores de 4 mm. La respuesta ovárica en borregas indica que el uso de 3 mg. en implantes de progestágeno e inyecciones de 18 mg. de FSH-P puede lograr la superovulación en borregas de 3 a 6 años de edad.

Nuti et al. (1987), citan que las dos preparaciones de gonadotropinas mas usadas en la actualidad para la superovulación son PMSG y FSH-P. En su experimento las cabras

recibieron inyecciones luteolíticas de Cloprostenol (análogo de $\text{PGF}_2\alpha$). Diez días después todos los animales comenzaron un programa de inyecciones en la mañana y en la tarde usando 2.5 mg. de FSH-P i. m. y recibieron un total de 6 inyecciones (total= 15 mg. de FSH-P) en 3 días. Nuti et al. (1987) no obtuvieron diferencia significativa en 3 razas con respecto al número de folículos, cuerpos lúteos, o respuesta ovárica total. A 50 horas de iniciar el apareamiento, 20 de 22 cabras habían ovulado (91%).

Cabras lecheras Angora y Saanen produjeron 5.3 y 29.3 cuerpos lúteos cuando se trataron con 21 mg. de FSH-P por 4 días. Pendleton et al. citados por Nuti et al. (1987) usaron implantes de Norgestomet en la oreja y dosis decrecientes 2 veces al día de 4, 3, 2 y 1 mg. de FSH-P en cruza de cabras lecheras y consiguieron una media de 10.1 cuerpos lúteos. En el estudio de Nuti usando una dosis constante de 2.5 mg. de FSH-P, 2 veces al día, durante 3 días (Total= 15mg.), se obtuvo una media de 17.7 cuerpos lúteos por ciclo de tratamiento.

Torres et al. (1986), encontraron que la inyección de 16 mg. de FSH-P al final del tratamiento con progestágenos dió resultados de 9 ± 1.5 , 12 ± 1.5 y 19.5 ± 2.6 cuerpos lúteos en las razas Préalpes, Lacaune y Romanov X Préalpes, respectivamente, ésta última raza es particularmente prolífica. Durante el

anestro el porcentaje medio de ovulación bajó de 11.2 a 8.4, 40.6% de los embriones recuperados eran de calidad transferible vs. 74.5% durante la época normal de empadre. Torres et al. recomiendan una técnica mejorada de superovulación basada en el uso de FSH-P con una FSH con proporción conocida a LH (FSH/LH) que nos de embriones de buena calidad. Este tratamiento debe ser adaptado a la estación.

La maduración del folículo fué estimulada por 12 ó 16 mg. de FSH-P administradas en 4 inyecciones i. m. en dosis iguales o decrecientes (6, 5, 3 y 2 mg.), como se indica en la tabla 9, en la mañana y en la noche (-24, -12, 0, +12hrs; 0 hrs. se retiró la esponja.). La proporción de FSH/LH usada fué de 0.8. La superovulación y el número de embriones transferibles de buena calidad varían dependiendo del intervalo entre el retiro de la esponja y el estro. En un intervalo de 24 hrs. el número promedio de cuerpos lúteos y el porcentaje de mórulas fué mayor que el obtenido en un intervalo de 36 hrs. El intervalo de 48 hrs. no fué favorable. El número promedio de folículos no cambió marcadamente. Como se muestra en la figura 7 en la misma raza, la dosis de FSH-P usada afecta el grado de ovulación (Torres et. al., 1986).

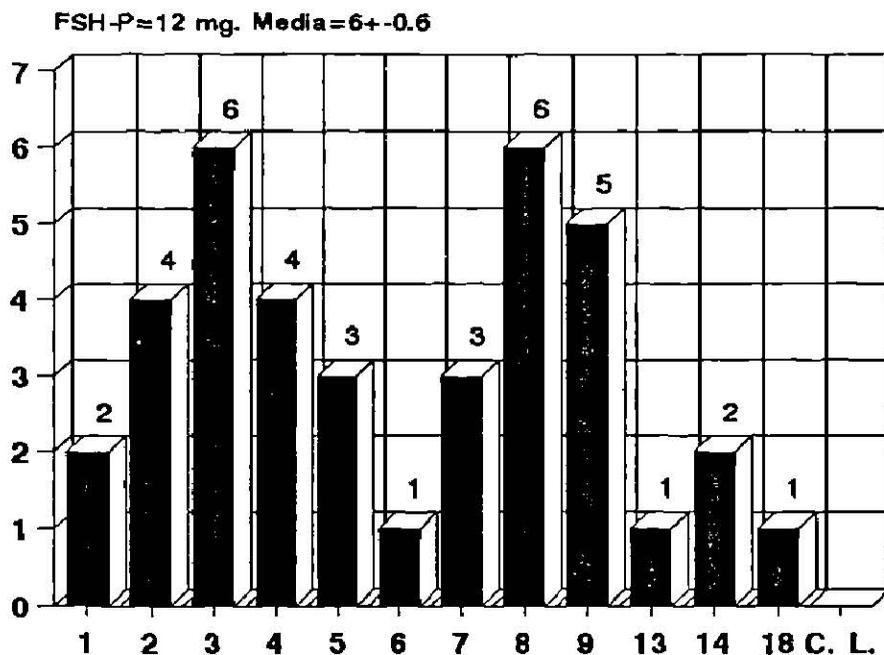
TABLA 9. Superovulación de borregas Ile-de-France.

Tratamiento de FSH-P	#	Intervalo retiro/estro (hrs).	Grado de ovulación
Constante	17	34.0+-6.8	6.7+-3.6
Decreciente	16	32.0+-5.4	10.1+-6.4

Theriogenology, Torrès et al. (1986).

La substitución de la PMSG por la FSH-P ha permitido un progreso considerable al obtener un tratamiento superovulatorio que de embriones de buena calidad. El prolongado efecto de la PMSG, debido a su vida media, causa con frecuencia extenso desarrollo folicular. Los embriones recuperados después de éste tratamiento muestran un alto porcentaje de degeneración. (70% aprox. a los 18 días). Cuando la PMSG es reemplazada por FSH, se obtienen 70 y 80% de embriones transferibles respectivamente (Torres et al., 1986).

Moor et al. (1985) citados por Nuti et al. (1987) reportaron que el desarrollo y la esteroidogénesis fueron anormales en la mayoría de los folículos de borregas estimuladas con 1250 U. I. de PMSG, pero no así cuando se trataron con extractos pituitarios. Más aún, Armstrong y Evans (1983) citados por Nuti et al. (1987) enfatizaron el efecto desfavorable del desarrollo de folículos mayores que no ovulan después del tratamiento de PMSG. También se cita que dosis



RAZA: PREALPES

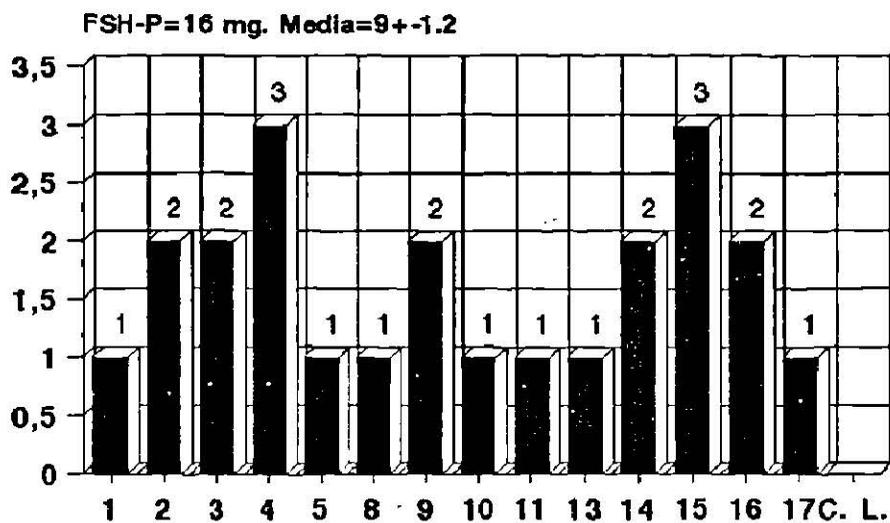


FIG.7.DOSIS DIFS. DE FSH-P EN UNA RAZA

■ No. DE CABRAS

decrecientes de FSH-P dan mayores grados de superovulación que las dosis constantes. Nuti et al. (1987) utilizaron 35 cabras lecheras de raza pura (18 Alpinas y 17 Nubias) para un programa de hormonas superovulatorias, después de la sincronización, con una inyección 2 veces al día de 2.5 mg. de FSH-P i. m. por 3 días empezando el día 9. De los 40 ciclos superovulatorios iniciados, 33 cabras respondieron con un promedio de 17.8 ovulaciones. Un total de 242 huevos ovulados fueron cosechados (63%), de los cuales 199 fueron fertilizados (82%), ésta proporción de superovulación, fertilización y recuperación de embriones nos hace creer en esta técnica como objetivo final de incrementar rápidamente el número de nacimientos de animales superiores.

La producción de crías lograda con un programa eficiente de superovulación y transferencia de embriones puede potenciarse con el uso de técnicas como la bisección de embriones como mostró Chesné et al. (1987) al obtener un 118% de producción total (número de crías producidas en relación al número de embriones utilizados).

MATERIALES Y METODOS

El presente trabajo se realizó con animales y fondos del "Proyecto Caprino para el Norte del Estado de Nuevo León" en el Campo Experimental "Marín" de la Facultad de Agronomía de la U. A. N. L. localizado en el km. 17 de la carretera Zuazua-Marín, N. L., la ubicación geográfica corresponde a 25° 53' latitud norte y 100° 03' oeste del meridiano de Greenwich, y con 367 mts. s.n.m. La temperatura media anual fluctúa entre los 20-25°C, con una precipitación de 250-500 mm., el clima es de tipo II según la clasificación de Koppen modificada por García (1973).

El día 20 de Noviembre se seleccionaron un total de 22 cabras para comenzar el tratamiento de sincronización para su posterior superovulación; el día 26 de Noviembre se aplicó una inyección vía intravaginal de 1 ml. de PGF₂α (Lutalyse), una aplicación en la mañana, y se checaron los celos de los animales del día 28 de Noviembre al 1º de Diciembre utilizando machos enteros para detectar el celo, sin permitirles montar, y se agruparon por fechas de celo sincronizado.

Contando 8 días a partir del día 28 de Noviembre se iniciaron los tratamientos superovulatorios a 15 animales sincronizados:

Día 9 de Diciembre a dos grupos de 5 cabras cada uno se les aplicó 2.5 mg. (0.5 ml.) de FSH-P y SUPER-OV, respectivamente. La administración fué por vía intra-muscular a las 7:00 hrs. y 19:00 hrs.

Día 10 de Diciembre, a los mismos grupos de cabras, se les aplicó 2.0 mg. (0.4 ml.) de FSH-P y SUPER-OV por vía intra-muscular a las 7:00 hrs. y 19:00 hrs.

Día 11 de Diciembre, a los mismos grupos de cabras, se aplicó 1.5 mg. (0.3 ml.) de FSH-P y SUPER-OV por vía intra-muscular a las 7:00 hrs. y 19:00 hrs. También se aplicó una inyección intra-muscular de 5 ml. de PMSG a otro grupo de 5 cabras.

La dosis total fué de 12 mg. para las preparaciones de FSH-P y SUPER-OV, y 1000 U.I. de PMSG. 48 hrs. después de las últimas aplicaciones se pasaron , las cabras fueron pasadas, una a la vez, a ser servidas por los machos. A los animales que aceptaron al macho se les hizo una aplicación de promotores de la ovulación de la siguiente manera:

TABLA 10. Tratamiento para desarrollo folicular y ovulación.

#	SUPEROVULADOR	PROMOTOR	DOSIS
325	FSH-P	Naloxona	0.5 ml.
355	FSH-P	Naloxona	0.5 ml.
274	FSH-P	HCG	0.5 ml.
329	FSH-P	HCG	0.5 ml.
381	FSH-P	GnRH	0.4 ml.
166	SUPER-OV	Naloxona	0.5 ml.
388	SUPER-OV	HCG	0.5 ml.
297	SUPER-OV	HCG	0.5 ml.
168	SUPER-OV	GnRH	0.4 ml.
338	SUPER-OV	GnRH	0.4 ml.
70	PMSG	Naloxona	0.5 ml.
271	PMSG	Naloxona	0.5 ml.
378	PMSG	HCG	0.5 ml.
105	PMSG	HCG	0.5 ml.
273	PMSG	GnRH	0.4 ml.

Se aplicaron 1.5 ml. de $\text{PGF}_2\alpha$ (Lutalyse) para las cabras tratadas con PMSG a las 48 hrs. (19:30 hrs.) después de aplicada ésta.

Los promotores de ovulación y el servicio de monta se hicieron cada 6 hrs. El día 15 de Diciembre se checaron los celos de los animales tratados con PMSG. Los demás animales recibieron tantos servicios como permitieron a intervalos de 12 hrs. desde el día 13 hasta el día 17 de Diciembre.

Laparatomía ventral.

Antes de la cirugía para el conteo de cuerpos lúteos, se dietó de alimento a los animales por 24 hrs. y de agua por 12 hrs. para evitar problemas durante la intervención y después de la misma.

El día 22, 23 y 24 de Diciembre se practicó laparoscopia ventral a 15 cabras tratadas (aunque una hembra no se registró por presentar adherencias en el aparato reproductor). Una lista de los materiales y substancias utilizadas se da a continuación:

Bisturí de hoja cambiable del No. 4

Hojas del No. 20

Tijeras de punta roma

Pinzas dientes de ratón de 14 cm.

Pinzas de Rochester "Péan" rectas de 16 cm.

Porta-agujas Mayo "Hegar" de 18 cm.

Agujas semicurvas de ojo automático de punta triangular

Agujas hipodérmicas

Jeringas desechables

Gasa para torundas

Hilo para sutura interna "Catgut"

Hilo de nylon para sutura externa

Mesa para cirugía
Rompum (anestésico general)
Xilocaína (anestésico local)
Sulfato de Atropina (preanestésico)
Suero salino
Azul de metileno
Iodo
Antibiótico
Algodón
FSH-P
SUPER-OV
PMSG
Ovalise (GnRH)
Naloxana
HCG
Lutalyse (PGF_{2α})
Vaselina
Espéculos

Para la operación se inyectó 1 ml. de Rompum i. v. como anestésico general (en caso de ser necesario se agregaba en dosis de 0.25 ml.), al surtir efecto se trasladó al animal a la mesa de operaciones sujetando las 4 extremidades y se rasuró la parte ventral para después lavar con agua y jabón abundantes,

en seguida se desinfectó el area de incisión con iodo para aplicar de 7-8 ml. de Xilocaina como anestésico local, y se hizo un corte de aprox. 15-20 cm. a lo largo de la línea alba para cortar la piel sin atravesar peritoneo, después se hizo un pequeño corte en el peritoneo y con las tijeras de punta roma se cortó el mismo hasta poder extraer los ovarios para el conteo de cuerpos lúteos y folículos presentes.

Una vez registrados los resultados se desinfectó con una preparación antiséptica de suero y se procedió a suturar la herida, el peritoneo se suturó con "catgut" en sutura continua, y para la piel se utilizó hilo de nylon con puntos discontinuos en cruz. Al cerrar la herida se aplicó desinfectante en el área y se administró antibióticos por 72 hrs.

IV. RESULTADOS

Los datos obtenidos de las 15 hembras tratadas con FSH-P, SUPER-OV y PMSG con objeto de superovularlas se concentran en la tabla 11.

TABLA 11. No. DE EMBRIONES OBTENIDOS EN CABRAS TRATADAS CON FSH-P, SUPER-OV Y PMSG.

SUPER- OVULADOR	PROMOTOR	No. DE EMBRIONES/OVARIO	
		IZQUIERDO	DERECHO
FSH-P	NALOXONA	6	4
	NALOXONA	7	8
	HCG	5	6
	HCG	4	4
	GnRH	4	3
SUPER-OV	NALOXONA	7	6
	HCG	5	4
	HCG	4	4
	GnRH	7	6
	GnRH	8	5
PMSG	NALOXONA	6	5
	NALOXONA	5	4
	HCG	8	6
	GnRH	2	1
	GnRH	-	-

En la tabla anterior se muestra que las cabras tratadas con FSH-P, tuvieron en promedio 10 embriones, variando desde 7 hasta 15 por animal; para las hembras tratadas con SUPER-OV se obtuvieron 11 embriones en promedio, con un rango desde 8 hasta 13 embriones; los animales que se superovularon con PMSG, dieron en una media de 9 embriones cada cabra con una variación de 3 a 14 embriones (ver figuras 8 y 9).

Para el análisis estadístico de los datos de éste experimento se utilizó un análisis de chi-cuadrado con los resultados que se muestran en las tablas 12, 13 y 14, donde se observa que no se encontró diferencia significativa ($P < 0.05$) entre FSH-P y SUPER-OV, ni entre FHS-P y PMSG, sin embargo sí hubo diferencia significativa ($P < 0.05$) entre SUPER-OV y PMSG a pesar de haber utilizado dosis por debajo de las recomendaciones usuales, logrando tal vez con ésto, bajar el porcentaje de embriones de calidad no transferible que se obtienen en los lavados de animales superovulados con dosis de 18-20 mg de FSH-P.

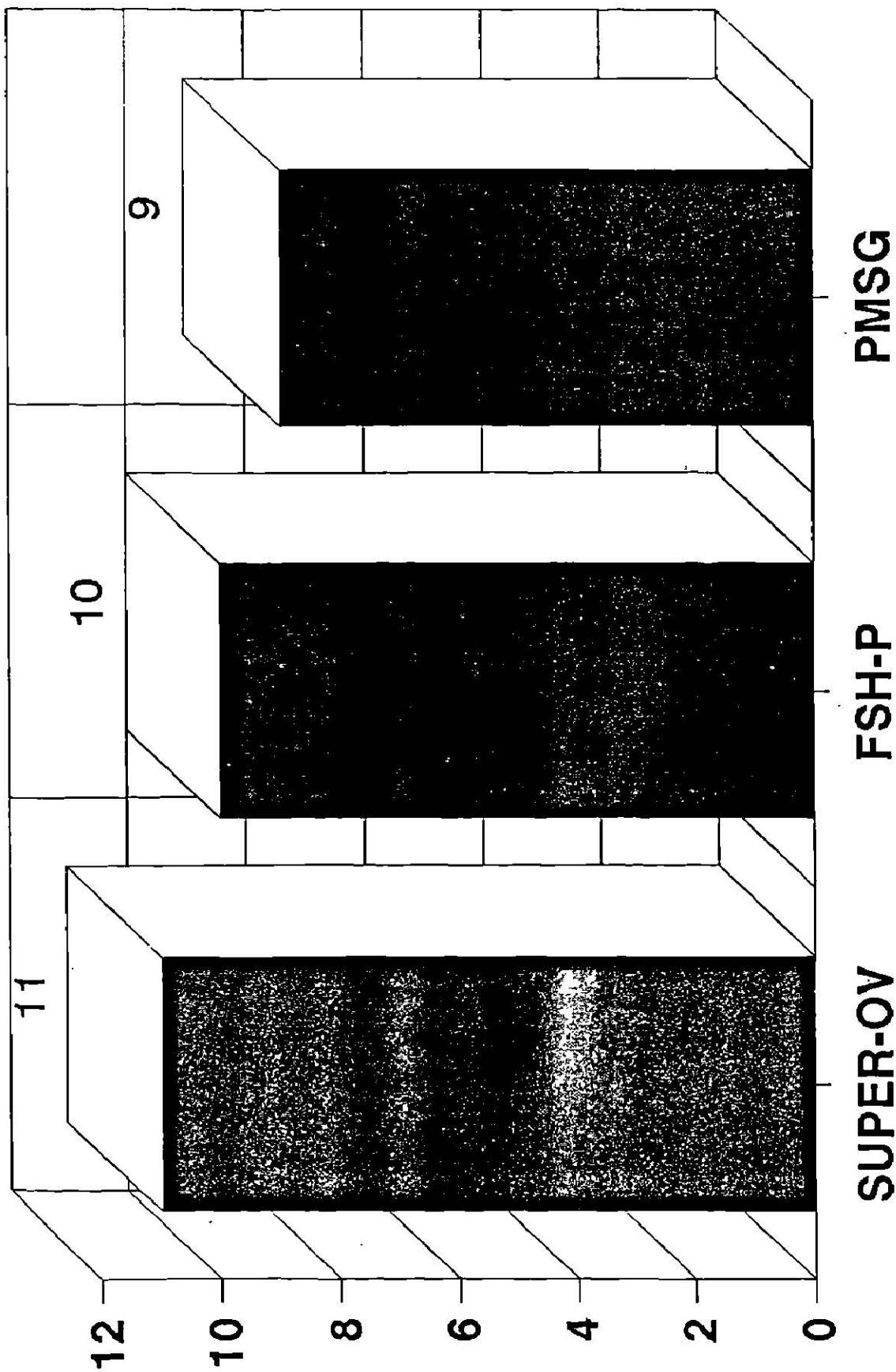
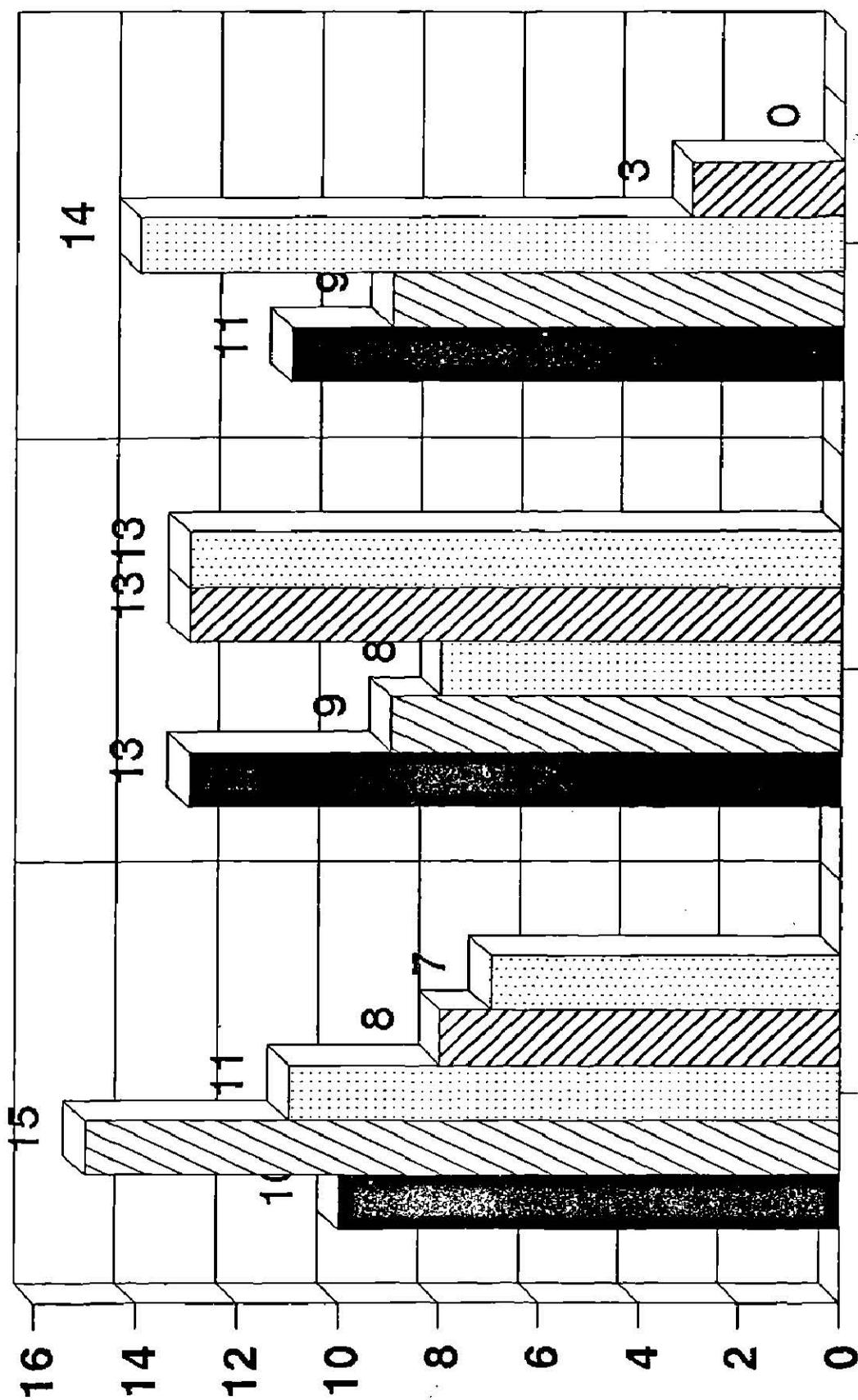


FIG. 8. PRODN. PROMEDIO DE EMBRIONES

EMBRIONES TOTALES



FSH-P (51) SUPER-OV (56) PMSG (37)
 FIG. 9. PRODN. INDIVIDUAL DE EMBRIONES

No. DE EMBRIONES

TABLA 12. COMPARACION ESTADISTICA DE CABRAS SUPEROVULADAS CON FSH-P Y PMSG

		FSH-P	PMSG	
NALOXONA	o	13	10	23
	e	12	11	
HCG	o	10	14	24
	e	13	11	
GnRH	o	7	3	10
	e	5	5	
		30	27	57

$$X^2_{cal} = 3.28^{n.s.}$$

n.s. = no significativo.

TABLA 13. COMPARACION ESTADISTICA DE CABRAS SUPEROVULADAS CON FSH-P Y SUPER-OV

		FSH-P	S-OV	
NALOXONA	o	13	11	24
	e	11	13	
HCG	o	10	9	19
	e	9	10	
GnRH	o	7	13	20
	e	10	10	
		30	33	63

$$X^2_{cal} = 2.68^{n.s.}$$

n.s. = no signifocativo.

TABLA 14. COMPARACION ESTADISTICA DE CABRAS SUPEROVULADAS CON SUPER-OV Y PMSG

		S-OV	PMSG	
NALOXONA	o	11	10	21
	e	12	9	
HCG	o	9	14	23
	e	13	10	
GnRH	o	13	3	16
	e	9	7	
		33	27	60

$$X^2_{cal} = 6.54 (*)$$

($P < 0.05$).

Al hacer el análisis estadístico se encontraron los siguientes valores de chi-cuadrado tanto calculado como de tablas:

- comparación de FSH-P y PMSG (no hubo diferencia significativa).

X^2 calculada 3.28

X^2 tablas (0.05) 5.99

- comparación de FSH-P con SUPER-OV (no hubo diferencia significativa).

X^2 calculada 2.68

X^2 tablas (0.05) 5.99

- comparación de SUPER-OV con PMSG (si hubo diferencia significativa).

X^2 calculada 6.54 (*)

X^2 tablas (0.05) 5.99

Basados en los resultados obtenidos se procedió a sacar las conclusiones del experimento.

V. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en éste trabajo concuerdan con los reportados por Pendleton (1991) donde con un régimen decreciente de inyecciones de FSH-P para una dosis total de 20 mg. se logro un promedio de 10.0 C. L.; también son parecidos a las producciones de Torres et al. (1986), donde con dosis constantes de FSH-P (total = 16 mg.) se obtuvieron promedios de 9 ± 1.5 y 12 ± 1.5 embriones por hembra, sin contar las producciones de la craza Romanov x Préalpes ya que es muy prolífica.

Sin embargo, los resultados de éste experimento están por debajo de las conseguidas en los trabajos de Pendelton (1991) donde con 750 U. I. de PMSG y 20 mg. de FSH se obtuvieron 12.5 ± 1.8 y 14.7 ± 2.5 respectivamente. Tsunoda y Sugie (1989) obtuvieron superovulaciones de 10 ± 4.5 usando 1000 I.U. de PMSG y 16.2 ± 7.8 usando 14.5-15.5 mg. de FSH.

Basándonos en los resultados de éste experimento se puede decir que:

- 1).- No se encontró diferencia significativa entre el uso de las preparaciones de FSH-P y PMSG, por lo que se concluye que es indiferente utilizar una u otra para superovular cabras, sin embargo, hay que tomar en cuenta la diferencia en el costo de los productos.
- 2).- No hubo diferencia significativa en el uso de FSH-P y SUPER-OV como superovuladores para cabras, por lo tanto se concluye que en la dosis utilizada es tan eficiente una substancia como la otra.
- 3).- Hubo diferencia significativa al comparar la producción de embriones con SUPER-OV y PMSG, teniendo en promedio una producción mayor la preparación de SUPER-OV, aunque habría que estudiar, si en la dosis utilizada, el mejor rendimiento de SUPER-OV compensa la diferencia en el precio de los superovuladores.

- 1).- No se encontró diferencia significativa entre el uso de las preparaciones de FSH-P y PMSG, por lo que se concluye que es indiferente utilizar una u otra para superovular cabras, sin embargo, hay que tomar en cuenta la diferencia en el costo de los productos.

- 2).- No hubo diferencia significativa en el uso de FSH-P y SUPER-OV como superovuladores para cabras, por lo tanto se concluye que en la dosis utilizada es tan eficiente una substancia como la otra.

- 3).- Hubo diferencia significativa al comparar la producción de embriones con SUPER-OV y PMSG, teniendo en promedio una producción mayor la preparación de SUPER-OV, aunque habría que estudiar, si en la dosis utilizada, el mejor rendimiento de SUPER-OV compensa la diferencia en el precio de los superovuladores.

VI. RECOMENDACIONES

Aunque Tervit et al. (1985) citados por Pendleton (1991) concluye que es mejor el uso de FSH-P sobre PMSG, ésto no se reflejó en nuestro experimento, lo cual puede deberse a las dosis utilizadas, por lo que se recomienda investigar diferentes dosis y regímenes hormonales para superovulación en cabras. También se recomienda hacer trabajos para medir la influencia de la PMSG sobre el número de embriones de calidad no transferibles, donde puede presentarse una diferencia significativa contra el uso de FSH-P.

Donaldson (1991), citó que SUPER-OV resultó mejor que FSH-P en vacas, sin embargo, en éste experimento con cabras no se encontró diferencia significativa, pero no se han establecido dosis ni protocolos óptimos de superovulación utilizando SUPER-OV en ésta especie, por lo que se recomienda hacer más pruebas en cabras.

Se recomienda hacer una comparación económica del uso de SUPER-OV en comparación con PMSG para establecer la conveniencia de utilizar el producto con mejor producción o el más económico.

Por último se recomienda hacer evaluaciones en cuanto al efecto de la edad, época de tratamiento, régimen y raza en la producción de embriones de cabras superovuladas.

R E S U M E N

En los últimos años las técnicas reproductivas en animales han avanzado enormemente, y han permitido un incremento en la cantidad y calidad de la producción, dentro de estas técnicas, la superovulación (como parte de la transferencia de embriones), ha cobrado interés en investigadores para tratar de utilizar al máximo el potencial genético de hembras de calidad reconocida. Actualmente se utiliza para superovular una preparación de extractos hipofisarios (FSH / LH) en lugar de PMSG sola, lo que limita la aparición de C.L. de corta duración y aumenta la tasa de fertilización. Para obtener una tasa alta de fecundación es necesario conocer precisamente los tiempos de ovulación para el conjunto de la población, pero el inicio de esto no está suficientemente correlacionado con ésta para permitir la selección de un momento adecuado para la I.A., pero el intervalo entre el pico de la LH y la ovulación sí es constante. La tasa más elevada de fecundación se obtiene con monta natural (Chemineau, 1992). Donaldson (1991) evaluó 7 productos de FSH y encontró a SUPER-OV como la preparación más efectiva en un tratamiento de tres días con dosis iguales. debe haber una proporción óptima de FSH/LH para la superovulación. El número promedio de C.L. para los ovarios tratados con FSH-P y SUPER-OV fué igual pero hubo más folículos y luteinización de folículos en los tratados con FSH-P, y la incidencia de cero colectados fué mayor en éstos.

El objetivo de éste trabajo es establecer el mejor producto para superovular cabras en la región, así como el régimen más eficiente para aplicar el superovulador.

El presente trabajo se realizó en el "Proyecto Caprino" del Campo Experimental Marín de la UANL. El 20 de noviembre se seleccionaron 22 animales para sincronización y el día 26 se aplicó 1ml. de PGF2 α para checar celos del 28 al 1 de diciembre. Los animales se agruparon por fecha de celo sincronizado. El día 9 se aplicó vía i.m. 2.5 mg de FSH-P y SUPER-OV 2 veces al día a 10 animales; el día 9 se aplicó 2.0 mg y el día 11 se usó 1.5 mg. así como 5 ml. de PMSG para otros 5 animales (aplicando PGF2 α 48 Hrs. después). Los animales recibieron tantos servicios como permitieron desde el día 13 al 17 de diciembre. Se retiró el alimento 24 Hrs. antes de la operación y el agua 12 Hrs. Los días 22, 23 y 24 se practicó laparoscopia media ventral utilizando 1 ml. de Rompum i.v., 7-8 ml. de lidocaína en la zona de la incisión y 2 ml. de Sulfato de Atropina; se hizo la operación para exponer los ovarios y se registró el número de C.L. y folículos.

Las cabras tratadas con FSH-P tuvieron en promedio 10 embriones, los animales tratados con SUPER-OV 11 y los tratados con PMSG 9. Para el análisis estadístico de los datos se utilizó un modelo de chi-cuadrado (χ^2 tab=5.99) y no se obtuvieron diferencias significativas entre el uso de SUPER-OV y FSH-P (χ^2 =2.68) ni entre el uso de FSH-P y PMSG (χ^2 =3.28), pero si hubo diferencia significativa al comparar SUPER-OV con PMSG (χ^2 =6.54).

VII. BIBLIOGRAFIA

- Amoah E. y S. Geleye. 1988. Superovulation, synchronization and breeding of does. *Small Ruminant Research*, Vol. 3 (1): 63-72.

- Chemineau P., G. Baril, J. Delgadillo. 1992. Control hormonal de la reproducción en el caprino. *Memorias del IX Congreso Nacional Caprino*. F. A. U. A. N. L. pp. 143-164.

- Chemineau P. y Y. Cagnié. 1991. Training manual on artificial insemination in sheep and goats. Ed. FAO. Italia. pp. 44-45, 52-56, 171-178.

- Chesné P., G. Colas, Y. Cagnié, Y. Guérin, C. Sévellec. 1987. Lamb production using superovulation, embryo bisection and transfer. *Theriogenology*, Vol. 27 (5): 751-757.

- Crighton D., N. Haynes, G. Foxcroft, G. Lamming. 1978. Control of ovulation. Editado por "Department of Agriculture and Horticulture", University of Nottingham. Inglaterra. pp. 237- 263.

- Donaldson L. 1991. Superovulation on trial. Ed. AUSA Intl. Inc. E. U. A. PP. 1-20.

- Hansel W. y E. Convey. 1983. Physiology of the oestrus cycle. *Journal of Animal Science*, Vol. 52 (Supl. 2): 404-418.
- García E. 1973. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Koppen (para adaptarlo a las condiciones de la República Mexicana). U. N. A. M. México. pp. 47-51.
- Gutiérrez J. 1978. Fisiología de la reproducción y fisiología animal aplicada. U. A. CH. pp. 33-68.
- McNatty K., N. Hudson, K. Ball, S. Forbes. 1988. Treatment of seasonally anestrous Romney ewes with continuous infusion of low doses of GnRH: effects on estrus, ovulation and plasma progesterone concentration. *Theriogenology*, Vol. 30 (5): 953-960.
- Nuti L., B. Minhas, W. Baker, J. Capehart, P. Marrack. 1987. Superovulation and recovery of zygotes of Nubian and Alpine dairy goats. *Theriogenology*, Vol. 28 (4): 481-490.
- Opel H. 1979. The hypothalamus and reproduction in the female. *Poultry Science*, Vol 58 (5): 1607-1618.

- Pendleton R., C. Youngs, R. Rorie, S. Pool, M. Memon, A. Godke. 1991. Follicle Stimulating Hormone versus Pregnant Serum Gonadotropin for superovulation of dairy goats. *Small Ruminant Research*, Vol. 8 (3): 217-224.
- Rexroad C. y A. Powell. 1991. FSH injections and intrauterine insemination in protocols for superovulation on ewes. *Journal of Animal Science*, Vol. 69 (1): 246-251.
- Ruttle J., S. Luceros, S. Key, M. Daniels, F. Rodríguez, H. Yim. 1988. Ovine estrus synchronization and superovulation using Norgestomet-B and Follicle Stimulating Hormone-Pituitary. *Theriogenology*, Vol. 30 (2): 421-427.
- Schottelius B. 1975. *Fisiología*. Ed. Interamericana. México. pp. 467-484.
- Sorensen A. 1982. *Reproducción animal; principios y prácticas*. Ed. McGraw Hill, México. pp. 63-88, 193-215, 239-247, 287-297.
- Torrès S., Y. Cognié, G. Colas. 1986. Transfer of superovulated sheep embryos with different FSH-P. *Theriogenology*, Vol. 27 (2): 407-419.

- Tsunoda Y. y T. Sugie. 1989. Superovulation in nonseasonal japanese native goats with special reference to the developmental progression of embryos. *Theriogenology*, Vol. 31 (5): 991-996.

