

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
UNIDAD LAGUNA**

**DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**



**“CALIDAD EMBRIONARIA DE CABRAS  
SUPEROVULADAS CON FSH Y PREESTIMULADAS CON  
PMSG”**

**POR:**

**PEDRO INOCENTE LUNA GALLARDO**

**TESIS**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA  
OBTENER EL TÍTULO DE:**

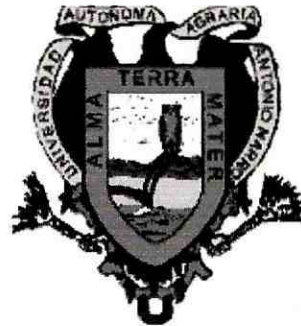
**MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO.**

**FEBRERO 2002**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
UNIDAD LAGUNA**

**DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**



**“CALIDAD EMBRIONARIA DE CABRAS  
SUPEROVULADAS CON FSH Y PREESTIMULADAS CON  
PMSG”**

**POR:**

**PEDRO INOCENTE LUNA GALLARDO**

**ASESOR PRINCIPAL**

**M.C. JORGE ITURBIDE RAMÍREZ**

**TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO.**

**FEBRERO 2002**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
UNIDAD LAGUNA**

**DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**

**“CALIDAD EMBRIONARIA DE CABRAS  
SUPEROVULADAS CON FSH Y PREESTIMULADAS CON  
PMSG”**

**POR:**

**PEDRO INOCENTE LUNA GALLARDO**

**ASESOR PRINCIPAL**

**M.C. JORGE ITURBIDE RAMÍREZ**

**COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL  
DE CIENCIA ANIMAL**

**M.C. JORGE ITURBIDE RAMÍREZ**



**Coordinación de la División  
Regional de Ciencia Animal  
UAAAN - UL**

**TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO.**

**FEBRERO 2002**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
UNIDAD LAGUNA**

**DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**

**PRESIDENTE DEL JURADO**

  
\_\_\_\_\_  
**M.C. JORGE ITURBIDE RAMÍREZ**

**VOCAL**

  
\_\_\_\_\_  
**M.V.Z. ERNESTO MARTÍNEZ ARANDA**

**VOCAL**

  
\_\_\_\_\_  
**M.V.Z. CARLOS MARTÍN DEL CAMPO RODRÍGUEZ**

**VOCAL SUPLENTE**

  
\_\_\_\_\_  
**M.V.Z. ESEQUIEL CASTILLO ROMERO**

**TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO.**

**FEBRERO 2002**

## **AGRADECIMIENTOS**

Gracias papá, mamá por darme la oportunidad de ser alguien en la vida, ya que con su ayuda incondicional hoy su hijo culminó una de sus metas en el campo profesional.

Felipe, Miguel, Humberto, Guillermina y Silvia gracias por darme todas esas palabras de motivación para seguir adelante.

A mi cuñado Faustino Aldaba C. por darme su ayuda económica que más que el dinero fue un gesto de tu parte muy hermoso y sincero, gracias tino.

A mi novia, que me soporto, y sobre todas las cosas creyó en mi, en un cambio y ese cambio se dio; me ayudaste en muchos momentos con mis estudios, y ahora eres mi querida esposa gracias Ilene B.

A mi asesor el médico Iturbide, que más que mi mentor fue mi amigo en los momentos más difíciles de mi vida, como estudiante y personal, gracias por creer en mi cuando los demás me dieron la espalda, por todos los detalles que tuvo hacia mi se lo agradezco de todo corazón.



## RESUMEN

Este trabajo pretendió evaluar la calidad de los embriones en cabras superovuladas con FSH/LH y preestimuladas con PMSG y recuperados con el método quirúrgico.

La colección de los embriones se realizó 6 días después de detectado el celo e introducir a los sementales. La cirugía se realizó siguiendo la técnica descrita por Córdova, una vez que el útero y los ovarios fueron expuestos y después de registrar el número de cuerpos lúteos y de folículos, se realizó una pequeña incisión cerca de la bifurcación del útero y a través de ella se introdujo una sonda de Foley del número 12 y se administró solución buferada de suero fetal bovino y se recolectaron los embriones con ayuda de una jeringa.

Para la búsqueda de embriones se usó un microscopio estereoscópico, una vez localizados se recolectaron y se colocaron en una caja de Petri, y estos se separaron de acuerdo a su estado y calidad.

A pesar que el número de embriones fue muy distinto ( 20 FSH-P / 9 PMSG/FSH-P), la calidad resultó similar. El 100 % de los ovocitos en el grupo preestimulado estaban fertilizados, mientras en el otro grupo sólo el 75 %. Se hallaron folículos de mayor tamaño en el grupo preestimulado, debido posiblemente a la prolongada vida media en la sangre de la PMSG.

El porcentaje menor de recolección de embriones obtenido con el uso de PMSG pudo deberse a que esta hormona provoca mayor grado de luteinización folicular que la FSH y algunos folículos pudieron confundirse con cuerpos lúteos.

Sería conveniente seguir investigando nuevas técnicas de recolección embrionaria por vía endoscópica y transcervical.

## ÍNDICE DE CONTENIDO

RESUMEN.....	i
ÍNDICE DE GRÁFICAS.....	ii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
2.1. Selección y preparación de hembras donantes y receptoras	
2.2. Tratamientos hormonales	
2.3. Superovulación en las donantes	
2.4. Evaluación de embriones	
III. MATERIAL Y MÉTODOS.....	14
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	18
V. LITERATURA CITADA.....	21

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1 Desarrollo embrionario.....	10
Cuadro 2. Recolección de embriones y porcentaje de ovocitos fertilizados.....	18
Cuadro 3. Porcentajes de recolección embrionaria.....	19



## I. INTRODUCCIÓN.

Desde los orígenes de la domesticación animal, los criadores han tratado de mejorar la calidad genética de sus animales con el fin de incrementar la productividad de su ganado. El objetivo principal de la selección animal es, por lo tanto, de orden económico. Para racionalizar la selección y difundir reproductores de las mejores condiciones genéticas, se han elaborado métodos de selección y reproducción cada vez más completos (Mellado, 1991).

La transferencia de embriones (TE) representa un método revolucionario de reproducción artificial. Esta tecnología, bien conocida en el caso del ganado bovino, es aplicable en pequeños rumiantes, con las correspondientes variaciones (Baril *et al.*, 1995).

En la Comarca Lagunera, son escasos los reportes sobre la transferencia de embriones y por lo tanto de calidad embrionaria en ganado caprino, ya que en la región poco o casi nada se realiza sobre técnicas avanzadas de reproducción para la mejoría genética en esa especie animal, como son la sincronización de estros, la inseminación artificial y la misma transferencia de embriones.

Dentro de las limitantes de la transferencia de embriones está la imposibilidad de predicción de la respuesta superovulatoria y existe por lo tanto elevada variabilidad en la cantidad de embriones obtenidos. Goulding *et al.* (1996) consideran que la correcta respuesta superovulatoria requiere de la administración de gonadotropina en una determinada fase del ciclo estral, del control de la luteólisis, de la sincronización de la ovulación, del adecuado nivel de fertilización y de un desarrollo embrionario precoz.

Mellado (1991) reporta que la mayoría de los tratamientos prácticos para sincronizar el celo de las hembras se basa en la administración de progesterona pura, de progestágenos y de prostaglandinas, mientras que para la superovulación se utilizan la gonadotropina sérica de yegua preñada (PMSG) y la hormona folículo estimulante (FSH).

Algunos autores reportan mejores resultados utilizando FSH, ya que se logra superior calidad embrionaria, dado que la PMSG está formada por macromoléculas difíciles de metabolizar y es mayor su vida media en la sangre. Esto causa que haya una liberación prolongada de estradiol que va a ocupar los receptores a la occitocina en el útero, provocando que aumenten los niveles de prostaglandinas  $F2\alpha$  ( $PgF2\alpha$ ) que, a su vez, inician la lisis del cuerpo lúteo, lo cual perjudica la gestación. Leyva *et al.* (1995) han realizando investigaciones sobre la acción de la anti-PMSG con la finalidad de contrarrestar esta acción.

Con cabras de Angora y con ovejas Suffolk la respuesta superovulatoria fue aceptable con diversas dosis de FSH y de PMSG (Armstrong y Evans, 1983). En algunos trabajos recientes se ha demostrado un aumento en la fertilidad con el uso de progestágenos y de PMSG (Leboeuf *et al.*, 1996 a). Sin embargo, el uso de progestágenos y PMSG en diferentes dosis para la producción de embriones no han sido del todo concluyentes en cabras Alpinas y Saanen (Leboeuf *et al.*, 1996 b). Alessandro *et al.* (1996) utilizaron PMSG y FSH, con un tratamiento único y con dosis repetidas, encontrando una mejor respuesta con esta última forma de dosificación. En otros trabajos se reporta la eficacia de la combinación de FSH y hormona luteinizante (LH) en la superovulación en cabras (Martemucci *et al.*, 1996).

Debido a que la disponibilidad de hormonas folículo estimulantes es muy variable y que se siguen introduciendo nuevos preparados comerciales, es importante determinar su mejor esquema de aplicación. Existen artículos científicos que describen las dosis y esquemas de administración para otras

especies animales, sin embargo, para los pequeños rumiantes, es reducida la información sobre la FSH de origen porcino, de otras hormonas para provocar la superovulación y de las hormonas que se pueden utilizar como tratamiento progestativo (Mejía *et al.*, 1998).

Es conocido que otras hormonas, como la PMSG, se han utilizado para la superovulación, pero también se sabe que por su efecto biológico residual, puede ocasionar desarrollo folicular y aumento en la producción de estrógenos, que crean un ambiente perjudicial para la fertilización y el desarrollo embrionario. Córdova *et al.* (1992b) señalan que esta desventaja pudiera ser atenuada utilizando dosis mínimas o con antisuero contra esta hormona.

En la superovulación de las cabras es elevado el porcentaje de regresión de los cuerpos lúteos inmaduros, los cuales dejan de producir progesterona (P4), de tres a cinco días después de la ovulación, provocando que los embriones sean de insuficiente calidad al momento de la recolección. Para Saharrea *et al.* (1995) la regresión temprana de los cuerpos lúteos puede deberse a las altas cantidades de 17- beta estradiol secretadas por los folículos anovulatorios que permanecen en el ovario durante el periodo superovulatorio y la fase lútea temprana. Una alternativa para evitar la regresión prematura del cuerpo lúteo es la utilización de hormonas exógenas, principalmente hormonas gonadotrópicas, para tratar de lograr la ovulación de todos los folículos (Baril *et al.*, 1989).

Como es necesario realizar más investigaciones con hormonas preestimulantes para lograr mejor respuesta superovulatoria, surgió la inquietud para la realización de este trabajo de investigación, administrando dosis pequeñas de PMSG.

### 1.1. Objetivo general.

Evaluar la calidad de los embriones en cabras superovuladas con FSH / LH y preestimuladas con PMSG y recuperados con el método quirúrgico.

### 1.2. Hipótesis.

La calidad embrionaria es mejor por medio de la preestimulación con PMSG.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA.

### 2.1. Selección y preparación de hembras donantes y receptoras.

Se requiere la selección de un grupo de animales denominado "donadoras" el cual debe estar constituido por animales con características productivas y reproductivas superiores, en comparación con el resto de los animales del rebaño. También es necesario seleccionar un grupo de hembras denominadas "receptoras" las cuales no necesariamente tienen que ser de alto valor genético. Los animales seleccionados en ambos grupos deben estar clínicamente sanos, en buena condición corporal y libres de enfermedades de importancia reproductiva. También se deben considerar los aspectos de la identificación de los animales, así como de la alimentación, de suplementación de minerales y de programas de desparasitación (Rangel, 1996).

### 2.2. Tratamientos hormonales.

Los tratamientos hormonales son para inducir o sincronizar el estro y provocar la superovulación.

La hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) o gonadoliberina es un decapeptido producido por ciertas neuronas secretoras del sistema nervioso central. La secreción de esta neurohormona en la circulación porta-hipofisaria varía bajo el efecto de factores externos e internos. Como factores externos se mencionan la fotoperiodicidad, los olores y el estrés, y como factores internos a los retrocontroles endocrinos, excitados por los estrógenos o por la progesterona. La GnRH secretada llega directamente a las células gonadotropas de la hipófisis, donde estimula la actividad de síntesis y liberación de hormona folículo estimulante y de hormona luteinizante. Se han elaborado



productos farmacéuticos análogos a la GnRH que poseen una actividad superior a la del péptido natural y que se emplean tanto en medicina humana, como en medicina veterinaria, para controlar la ovulación (Brebion y Cognié, 1989).

Las hormonas folículo estimulante y la hormona luteinizante, también llamadas gonadotropinas, son dos glucoproteínas sintetizadas en la hipófisis anterior, que regulan la función ovárica. La FSH favorece el crecimiento y la maduración de los folículos y de los ovocitos, induce en el folículo la aparición de receptores de la LH y mantiene la secreción de estrógenos. La secreción de FSH, más o menos continua, presenta dos picos en su intensidad: El primero de mayor intensidad, que ocurre simultáneamente a la descarga preovulatoria de LH y el segundo que sucede dos o tres días más tarde, pero que suele ser más débil (Chemineau *et al.*, 1992a). La LH no es secretada en forma continua sino periódica, su concentración plasmática se eleva durante un corto periodo, que se conoce como pulso, para después descender progresivamente hasta el nivel basal, donde permanece sin incrementarse hasta el siguiente pulso. La frecuencia de los pulsos varía según la estimulación por la GnRH de las células hipofisarias. Cada pulso de LH corresponde a un pulso de GnRH. Durante la fase preovulatoria, el aumento de la concentración de estrógenos secretados por los folículos ejerce una retroalimentación positiva sobre el eje hipotálamo-hipofisario. Esta estimulación aumenta la frecuencia de los pulsos de LH provocando un incremento importante de su concentración plasmática llamada pico preovulatorio de LH. Esta hormona, junto con la FSH, participan en la maduración final del folículo, después de lo cual el aumento masivo de su concentración (pico preovulatorio) produce la liberación del ovocito (ovocitación) y la transformación del folículo en cuerpo lúteo (luteinización). Después de la ovulación la LH estimula el desarrollo del cuerpo lúteo y por consiguiente, la síntesis de la progesterona.



La gonadotropina de yegua preñada (PMSG) es una gonadotropina extraída del suero de yeguas grávidas que posee una doble actividad, tanto de FSH, como de LH y es utilizada en la inducción de la ovulación en la oveja y la cabra (Baril *et al.*, 1995). Las acciones biológicas semejantes a la FSH incluyen la estimulación del crecimiento ovárico y el aumento de los niveles de estradiol en la sangre, producto de la reacción folicular, mientras que como LH estimula las células intersticiales del ovario, la inducción de la ovulación y la luteinización de las células de la granulosa (Cole y Cupps, 1984).

Es necesario considerar aspectos importantes como son la alimentación, el clima, el tipo y la dosis hormonal, el momento del ciclo estral, la fecha del parto anterior, la producción láctea y la manipulación adecuada de las hormonas. Para provocar la superovulación se emplea FSH porcina (FSH-P), en dosis de hasta 500 U.I. o PMSG, en dosis que varían de 1500 a 3000 U.I. (Mellado, 1991).

Aké *et al.* (1995) reportan que en bovinos sólo es posible el éxito si las hembras genéticamente superiores, que van a ser las donadoras, son seleccionadas adecuadamente y si los resultados de la TE son satisfactorios, es decir, si hay adecuada respuesta superovulatoria con la máxima recolección de embriones y con altos porcentajes de preñez al ser transferidos, lo que puede estar influido por características tanto de las donadoras, como de las receptoras.

El agente gonadotrópico más utilizado para estimular el crecimiento folicular suplementario es la hormona folículo estimulante, ya que parece que con su empleo se obtiene un mayor número de embriones transferibles. Al contrario de la PMSG, la FSH tiene una vida media demasiado corta en el torrente sanguíneo, que es de tan sólo cuatro horas, por lo que tiene que aplicarse cada doce horas durante cuatro a cinco días (Martínez *et al.*, 1995).

Hafez (1996) señala que el mayor problema en la superovulación es el alto grado de variación de la respuesta entre individuos de la misma especie.

### 2.3 Superovulación en las donantes.

La estimulación del crecimiento folicular por medio de la inducción de la superovulación de las donantes o de la ovulación de las receptoras, tiene lugar normalmente al final del tratamiento progestativo y se realiza mediante inyección intramuscular de gonadotropinas coriónicas (PMSG) o hipofisarias (FSH). El tratamiento gonadotrópico para la inducción a la superovulación puede efectuarse en el curso del ciclo natural, comenzando la estimulación cuarenta y ocho horas antes del momento supuesto de la luteólisis espontánea, pero este método resulta por una parte ineficaz en el periodo anovulatorio y por otra parte es muy difícil de aplicar en casos de tratamiento conjunto de varias hembras que no han sido previamente sincronizadas. Por esta razón, la administración masiva de gonadotropinas tiene lugar generalmente al final del tratamiento progestativo, que corresponde a la fase folicular del ciclo estral, que conlleva a un aumento del número de los folículos preovulatorios y consecuentemente, un número más elevado de ovulaciones (Baril *et al.*, 1995). La respuesta superovulatoria depende del origen de la hormona utilizada. Baril (1992) utilizando FSH de origen porcino y ovino, en cinco tratamientos consecutivos en ganado caprino, con cuarenta y siete días de intervalo, encontró que la respuesta superovulatoria fue superior con la FSH de origen porcino.

Boland (1996) trabajando con ganado de carne, comparó hormonas foliculo estimulantes de origen porcino, como el Pluset y el Folltropin, encontrando una mejor respuesta con el primer preparado comercial, tanto en la superovulación, como en la calidad embrionaria. En un segundo experimento fueron mejores los resultados, utilizando inyecciones múltiples, que con una

sola aplicación. En un tercer experimento, trabajando con ovejas cruzadas de la razas Cheviots, Suffolks, Texels y Dorset Horns, reporta una respuesta mejor y superior calidad de los embriones con dosis decrecientes y en el cuarto experimento no hubo diferencia estadísticamente significativa entre seis y cuatro aplicaciones. Wierzchos *et al.* (1992) reportan en ovejas Polish Mountain aceptables respuestas con Pluset, en dosis de 500 U.I.

Cremonesi (1996) trabajando con bovinos de la raza Maremmana en Italia, logró con FSH-P respuestas de hasta 13 cuerpos lúteos y 10 embriones recuperados y transferidos, con dosis decrecientes en cuatro días.

En un trabajo semejante, Dixon y Hupkins (1996) reportan en un total de 22 donadoras, encontrando 301 cuerpos lúteos, de los cuales 212 fueron recuperados y transferidos con éxito.

En otros estudios con ganado lechero, al comparar la FSH-P con la gonadotropina menopáusica humana (hMG), se encontró mejor respuesta con el primer preparado (Mantovani *et al.*, 1996).

Es con base a estas investigaciones que resulta de interés la utilización de la FSH-P en el ganado caprino criollo, para la superovulación y para lograr mejor calidad embrionaria.

El tratamiento de superovulación de corta duración (dos días) es inferior a la obtenida después de tres días de estimulación ovárica (2 días:  $5.8 \pm 2.7$ ; 3 días:  $8.8 \pm 5.1$  cuerpos lúteos).

2.4. Evaluación de embriones. Según Leyva (1995) el desarrollo embrionario evoluciona de la siguiente manera:

Cuadro 1. Desarrollo embrionario

TIEMPO	No. DE CÉLULAS
36 a 48 horas	2 células
3er. Día	4 a 8 células
4º día	8 a 16 células
4º al 5º día	mórula temprana (16 cel.)
5º al 6º día	blastocito temprano (160 cel.)
6º al 7º día	blastocito temprano y blastocito expandido (200 células)
8º al 9º día	blastocitos en eclosión (+200 cel.)

Mórula temprana:

Es una agrupación o masa de células, que tienden a ser esféricas, la cual se pueden observar individualmente los blastómeros. La masa celular ocupa el 80% del espacio.

Mórula madura.

En este estadio la masa celular es compacta y los blastómeros tienen una forma poligonal en la periferia, las células son esféricas la masa celular ocupa un 60 a un 70% del espacio perivitelino.

Blastocito temprano.

En esta fase se empieza a formar una cavidad fluídica llamada blastocele el blastocito asemeja un anillo y ocupa del 70 al 80% del espacio perivitelino, se puede diferenciar el trofoblasto y la masa celular, el blastocele abarca menos del 50% de la masa celular del embrión.

### Blastocito maduro.

Existe una marcada diferenciación entre las células del trofoblasto del cual se alarga y se extiende en toda la periferia del embrión, el blastocele abarca más del 50% de la totalidad del embrión y este ocupa más del 90% del espacio perivitelino.

### Blastocito expandido.

En este estadio aumenta considerablemente el diámetro del embrión y se adelgaza en la zona pelúcida del embrión ocupa un 100% de espacio perivitelino.

### Blastocito en eclosión.

En esta fase el embrión tiene fisurada la zona pelúcida por donde eclosiona hasta salir totalmente de ella. El embrión puede tener la forma esférica de un blastocito expandido o bien estar colapsado.

## 2.5. Búsqueda de embriones.

Se utilizó un microscopio estereoscópico con capacidad de 10 y 12 aumentos. Se necesitan cajas de Petri para la búsqueda y se realiza en forma rápida y ordenada de arriba abajo y de izquierda a derecha, se puede utilizar una jeringa para insulina con aguja hipodérmica de calibre 22x32 para mover los detritos y buscar embriones ocultos entre ellos. Una vez que se localiza el embrión se introduce una pipeta Pasteur con un diámetro de 250 a 500 mm con la punta redondeada y así poder extraerlos y depositarlos en una caja de Petri de 35 a 10 (Leyva, 1995). Se realizó el día 6 después de la monta, por método quirúrgico.



Manipulación de los embriones para evaluarlos.

Se depositan en una caja de Petri de 35x10 y se reúnen en el centro de la caja cuidando de no dejarlos en la orilla.

Los embriones transferibles se separan de acuerdo a su estadio y calidad para la congelación o transferencia.

La evaluación se deberá de hacer en un microscopio estereoscópico con un aumento de 40 a 50 x.

Clasificación de los embriones:

Excelente o Calidad 1.

Es compacto, esférico, tiene un desarrollo adecuado a su edad, pocas vesículas, sin desecho celulares, sin blastómeros obstruidos, su color debe ser ambar uniforme.

Bueno o Calidad 2.

Es compacto o con leve descompactación, poco irregular, presenta vesículas pero no en abundancia con algunos blastómeros extruídos con pocos desechos celulares y con un color uniforme.



Regular o calidad 3.

Presenta una descompactación marcada, desechos celulares, blastómeros extruídos y color oscuro ó con zonas claras y oscuras, presencia de vesículas presenta masa pequeña pero no menor al 50% de lo normal. Esto debe transferirse en frascos puestos que no son congelables.

No transferibles o calidad 4.

Presentan una marcada degeneración, mas a menudo el 50% de lo normal, descompactación y retraso en el desarrollo, de irregularidades en el color y en el blastómero (Linder y Wright 1983).

### III. MATERIAL Y MÉTODOS.

#### Localización del trabajo experimental.

Este trabajo se llevó a cabo en la posta caprina de la Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro", Unidad Laguna, durante los meses de septiembre y noviembre de 1997, en los que las temperaturas de la región no se consideran extremas y los animales se encuentran en actividad reproductiva.

El lugar del experimento está ubicado en la Comarca Lagunera, que se encuentra a 26° N y 102° y 104° O. Con una altitud media sobre el nivel del mar de 1100 a 1400 m. La precipitación pluvial anual promedio oscila entre los 200 y 250 milímetros. La temperatura media anual es de 18 grados centígrados. El clima de la región se clasifica como seco extremoso (Schmidt, 1989).

#### Material de laboratorio, reactivos y hormonas.

Instrumental de cirugía general.

Sondas de Foley del No. 12.

Jeringas hipodérmicas desechables de 10.0, 5.0 y 2.0 ml.

Jeringas de insulina de 0.5 ml.

Pipetas volumétricas graduadas de 1.0 ml.

Pipetas Pasteur.

Cajas de Petri desechables pequeñas de 35x 10.

Acrodisco de 22 micras.

Microscopio estereoscópico binocular de fibra óptica de 90x.

Suero fetal bovino al 2 %.

Hidrocloruro de xilazina al 2.0 %.

Clorhidrato de lidocaína al 2.0 % con epinefrina.

Solución fosfatada buferada de suero fetal bovino de Dulbeco al 2 %.

Esponjas intravaginales y aplicadores.

Hormona folículo estimulante de origen porcino.

Gonadotropina sérica de yegua preñada.

#### Animales experimentales.

Se utilizaron diez cabras criollas, de entre once y veinticuatro meses de edad, con un peso corporal promedio de veintiocho kilogramos. Todas las hembras eran nulíparas y con su aparato genital clínicamente sano. A las cabras se les provocó digitalmente la ruptura de la membrana himenal dos días antes de la introducción de las esponjas vaginales, para evitar posibles adherencias.

#### Manejo y tratamiento hormonal.

Durante el desarrollo del trabajo experimental, los animales se mantuvieron en las condiciones rutinarias de manejo de la posta, siendo heno de alfalfa el único componente de la ración, se desparasitaron y proporcionaron sales minerales a libre acceso.

Se homogeneizaron las unidades experimentales en cuanto a las características morfológicas y al manejo, desde antes de iniciar el tratamiento y hasta la obtención de los embriones.

El día 0 se sincronizaron las diez cabras de los lotes A y B por medio de esponjas vaginales por un lapso de once días.

A las cinco cabras del grupo A se les aplicó una dosis total de 250 U.I. de FSH-P, en aplicaciones decrecientes en 0.5 ml, equivalentes a 12.5 U.I., cada veinticuatro horas (días 9, 10, 11 y 12), administradas cada doce horas por vía intramuscular y siguiendo el programa reducido de cuatro días (Tabla A).

A los cinco animales del grupo B se les trató igual pero además se hizo una preestimulación con PMSG (200 U.I.) por vía intramuscular, tres días después de aplicar las esponjas (Tabla B), siguiendo los criterios señalados por Baldassarre (1995).

#### Detección de estros.

Veinticuatro horas después de retirar las esponjas se introdujo un semental en el corral (día 12) y se procedió a observar hasta que las cabras permitieron la monta. El día 13 se cambió al semental, con el propósito de que todas las cabras fueran fecundadas.

#### Búsqueda, recolección y evaluación de embriones.

La colección de los embriones se realizó seis días después de detectado el celo e introducido los sementales (día 18). A los animales se les restringió el alimento y el agua durante veinticuatro horas, antes del lavado quirúrgico. La cirugía se realizó siguiendo la técnica descrita por Córdova (1991), por lo que las cabras fueron tranquilizadas y sedadas con hidrocloreuro de xilazina por vía intramuscular, colocadas en decúbito dorsal mediante sujeción de las extremidades, en una mesa cóncava de operaciones y una vez lavada, rasurada y desinfectada la región abdominal ventral, se infiltró localmente xylocaína y se hizo una incisión de diez centímetros sobre la línea media, a

partir de dos centímetros caudalmente de la cicatriz umbilical y hasta dos centímetros de la base de la ubre.

Una vez que el útero y los ovarios fueron expuestos y después de registrar el número de cuerpos lúteos y de folículos presentes en cada uno de los ovarios, se realizó una pequeña incisión cerca de la bifurcación del útero y a través de ella se introdujo una sonda de Foley del No. 12 y se administró la solución buferada de fosfato al dos por ciento de suero fetal bovino y se recolectaron los embriones con ayuda de una jeringa. Posteriormente se procedió a suturar las incisiones.

Para la búsqueda de embriones se usó un microscopio estereoscópico con noventa aumentos, haciendo barridos en forma rápida y ordenada de arriba a abajo y de izquierda a derecha. Con una jeringa para insulina y con una aguja hipodérmica de calibre 22 x 32 de longitud, se procedió a mover el detritus y buscar los embriones. Una vez que se localizó cada embrión, se extrajo mediante una pipeta Pasteur con la punta redondeada y se depositó en una caja Petri de 35 x10 conteniendo solución de Dulbeco a temperatura ambiente. Los embriones recolectados se juntaron en el centro de la caja, cuidando de no dejarlos en la orilla. Los embriones transferibles se separaron de acuerdo a su estado y calidad para la congelación o transferencia.

La clasificación de los embriones se llevó al cabo bajo los criterios de Linder y Wright (1983).

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

A pesar de que el número de embriones recolectados fue muy distinto, la calidad de los embriones resultó similar para ambos grupos (Cuadro 2). El cien por ciento de los ovocitos obtenidos en el grupo preestimulado estaban fertilizados, mientras que en el otro grupo sólo lo estaban 75 por ciento. Se hallaron folículos de mayor tamaño en el grupo preestimulado, debido posiblemente a la prolongada vida media en la sangre de la PMSG, razón por la que Dielman y Beress (1987) consideran el uso de suero anti-PMSG. No se encontró en este trabajo la relación reportada en bovinos por Goulding *et al.* (1996) entre la presencia de folículos grandes con un deterioro de la calidad embrionaria.

Cuadro 2. Recolección de embriones y porcentaje de ovocitos fertilizados.

<u>Grupo A: FSH-P.</u>	
Ovocitos no fertilizados	5
Blastocisto temprano	6
Blastocisto expandido	5
Mórula madura	4
<u>Total</u>	<u>20</u>
<u>% de ovocitos fertilizados</u>	<u>75</u>
<u>Grupo B: PMSG / FSH-P.</u>	
Blastocisto expandido	1
Mórula madura	8
<u>Total</u>	<u>9</u>
<u>% de ovocitos fertilizados</u>	<u>100</u>

No hubo diferencias estadísticas.



Como puede observarse en el cuadro 3, en el grupo preestimulado resultó mayor el número de cuerpos lúteos, pero menor el número de embriones recuperados y por lo tanto, el porcentaje de recolección embrionaria.

Cuadro 3. Porcentajes de recolección embrionaria.

TRATAMIENTO	Total de cuerpos lúteos.	Embriones recuperados.	% de recolección.
FSH-P.	30	20	66.6
PMSG/FSH-P.	50	9	18.0

No hubo diferencias estadísticas.

El porcentaje menor de recolección de embriones obtenido con el uso de PMSG, pudiera deberse a dos factores: El primero, a que ésta hormona provoca mayor grado de luteinización folicular que la FSH, de esta forma algunos folículos luteinizados pueden ser considerados como cuerpos lúteos y como para el cálculo del porcentaje de recolección se considera el número de óvulos y de embriones recuperados con respecto al número de cuerpos lúteos, dicho porcentaje puede disminuir. Córdova (1991) y Monniaux *et al.* (1983) mencionan que después de 48 horas del pico preovulatorio de LH, sólo es posible distinguir un cuerpo lúteo de un folículo luteinizado, mediante técnicas histológicas. El segundo, posiblemente por la falta de catéteres adecuados para la recolección embrionaria es esta especie animal, ya que sólo se pudo trabajar con una sonda de Foley del número doce, que es apropiada para el lavado uterino de vaquillas.

Debido al reducido número de cabras criollas con que se trabajó en este experimento, no se pudieron obtener valores suficientes para alcanzar conclusiones apoyadas por diferencias estadísticamente significativas, con excepción del número de cuerpos lúteos que se encontró en el grupo de

hembras preestimuladas con PMSG, previa eliminación de las cabras que tuvieron menos de tres cuerpos lúteos en los dos ovarios, al momento de la recolección embrionaria quirúrgica, ya que cuando se administran hormonas, es común que no todos los animales respondan al tratamiento. Sin embargo, parece haberse mostrado una tendencia, similar a la reportada por Petr *et al.* (1990) en bovinos, que hace pensar que preestimulando con PMSG, en los tratamientos superovulatorios con FSH-P, pueden obtenerse mejores resultados y también se pueden disminuir, sobre todo en caprinos, los costos de la transferencia de embriones.

Así mismo, sería conveniente seguir investigando, con mayor número de animales, las hormonas y los fármacos, que en pequeños rumiantes pueden utilizarse como preestimulantes en los tratamientos superovulatorios, para conocer más la respuesta ovárica y encontrar nuevas técnicas para la recolección embrionaria, ya que como señala Holtz (1996), existe un panorama promisorio en el estudio de aspectos como la inmunización contra la inhibina, la fertilización *in vitro*, la recolección y la transferencia embrionaria por vía endoscópica y transcervical, la congelación de embriones, así como la producción de clones y de quimeras, con la ventaja de que la experimentación en caprinos es menos costosa que en los grandes rumiantes y que los avances científicos pudieran ser utilizados en ellos.

## V. LITERATURA CITADA

- Aké, L. J. R., Alfaro, G. M. y Holy, L., 1995. Respuesta superovulatoria en ganado *Bos indicus* y *Bos taurus* bajo condiciones tropicales y efecto del desarrollo y calidad del embrión sobre el porcentaje de gestación. *Vet. Méx.* 26, 3, 189-193.
- Alessandro, A.D., 1996 Effects of PMSG addition to pFSH combined single injection of ovarian response and embryo production VI International Conference on Goats. Beijing, China 830 – 833.
- Armstrong, D.T. y Evans G., 1983. Factors influencing success of embryo transfer in sheep and goats. *Theriogenology.* 19, 31 - 42.
- Baril, G., Casamitjana, P., Perrin, J. y Vallet, J.C., 1989. Embryo production, freezing and transfer in Angora, Alpine and Saanen goats. *Zuchthyg.* 24, 101 - 115.
- Baril, G., Leboeuf, B., Vallet, J.C. y Saumandane, J., 1992. Comparasion of porcine FSH and ovine FSH to induce repeated superovulation in goats. 8 th Scientific Meeting of European Embryo Transfer Associaton, Lyon, France. 1, 126 (abstract).
- Baril, G., Brebion, P. y Chesné P., 1995. Manual de formación práctica para el transplante de embriones en ovejas y cabras. Estudios en producción animal. FAO. Prefacio III, 23 - 25.

- Barraza, S., 1997. Respuesta superovulatoria y calidad embrionaria en vacas Holstein tratadas con anti-gonodotropina sérica en la fase tardía del pico preovulatorio de la hormona luteinizante. Tesis M.C. U.A.A.A.N. UL. Torreón, Coahuila. 52 - 53.
- Boland, M.P., 1996. Progress report on superovulation and embryo production in cattle and sheep using pluset. 13th International Congress on Animal Reproduction. Sydney, Australia. 9 - 11.
- Brebion, P. y Cognié, Y., 1989. Increased superovulation in the ewe following 14 days of GnRH agonist pre-treatment. 5th Scientific Meeting of European Embryo Transfer Association, Lyon, France. 1, 106 (Abstract).
- Brebion, P., Baril, G., Cognié, Y. y Vallet, J.C., 1992. Transfert d'embryons chez les ovins et les caprins. Ann. Zootech. 41, 331- 339.
- Chemineau, P. y Delgadillo, J.A., 1993. Neuroendocrinología de la reproducción en el caprino. Revista Científica FCV-LUZ. III, 2. 113 - 121.
- Cole, H.H. y Cupps, P.T., 1984. Reproducción de los animales domésticos. Ed. Acribia, Zaragoza, España. 34.
- Córdova, S.A., Jiménez, K.F. y Hernández L.J.J., 1992b. Superovulación con hormona folículo estimulante (FSH) o gonadotropina sérica de yegua preñada (PMSG) y anticuerpos monoclonales contra PMSG en cabras fuera de la época reproductiva. Vet. Méx. XXIII, 4, 319 – 323
- Cremonesi, F. y Stacchezzini, S., 1996. Effect of ovarian prestimulation of the beginning of the oestrus cycle on the ovary response to the superovulation treatment with pluset in dairy cows. 13 th International Congress on Animal Reproduction. Sydney, Australia. 16 – 17.

- Dieleman, S.J. y Berers, M.M., 1987. Effects of monoclonal antibody against PMSG administered shortly after preovulatory LH surge on time and number of ovulations in PMSG/PG treated cows. *J. Reprod. Fert.* 81, 533 - 542.
- Dixon, T.E. y Hupkins, G.J., 1996. Superovulation of cattle using a porcine pituitary gonadotrophin preparation (Pluset, Serono). 13th International Congress on Animal Reproduction. Sydney, Australia. 12 - 13.
- Goulding, D., Williams, D.H., Roche, J.I. y Boland, P., 1996. Factors affecting superovulation in heifers treated with PMSG. *Theriogenology.* 45, 765 - 773.
- Holtz, W., 1996. Embryotransfer bei der Ziege – eine Übersicht. *Dtsch. tierärztl. Wschr.* 103, 293-297.
- Hoyos, L.G., Sáenz, P. y Salinas, H., 1991. Desarrollo de módulos caprinos en la Comarca Lagunera. INIFAP - SARH. Matamoros, Coahuila, México. s/p.
- Jillella, D., 1982. El transplante de embriones en ganado bovino. Folletos de Zootecnia. Universidad Autónoma Chapingo, Texcoco, México. 5 - 8.
- Leyva, O.C., Barrera, A. y Varisanga, M., 1995. Manual de transferencia de embriones no quirúrgica en ganado bovino (en impresión). U.A.B.C. México. 27 - 35.
- Linder, G.M. y Wright, R.W.J., 1983. Bovine embryo morphology and evaluation. *Anim. Meeting Inter. Embryo Transfer Soc.* 21 - 32.



- Mantovani, R., Marcolin, G., Silvestrelli, L. y Bittante, G., 1996. Superovulatory response and subsequent reproductive performance in Friesian heifers using two different preparations containing FSH and LH. 13th International Congress on Animal Reproduction. Sydney, Australia. 14.
- Martemucci, G.D., Alessandro, D., Colonna, M.A., Cafueri, C. y Casamassing, L., 1996. Effect of de FSH/LH on superovulation and embryo production in goats. VI International Conference on Goats. Beijing, China. 821.
- Martínez, B.S., Sánchez, A. y Aldana, P., 1995. Valoración de dos hormonas estimulantes comerciales usadas en la superovulación de vacas en lactación o vaquillas en ganado lechero. Tec. Pec. Méx. 33, 1. 68-70.
- Mejía, V.O. Becerril, C.M. Angulo, M.R. y Valencia, M.J. 1998. Superovulación de ovejas donadoras de embriones utilizando Pluset. XXII Congreso Nacional de Buiatria. Acapulco, Gro. Méx. 84-86.
- Mellado, M.B., 1991, Avances en biología reproductiva y sus efectos en el mejoramiento de los animales. U.A.A.A.N. Memorias de la XXIII Reunión Anual de la A.M.PA. Saltillo, Coahuila. México. s/p.
- Petr. J., Mika, J. y Jilet, F., 1990 The effect of PMSG-priming on subsequent superovulatory response in dairy cows. Theriogenology. 33, 1151-1155.
- Quiñones, J.J., 1989. Problemática de la ganadería caprina en el distrito de riego de la Comarca Lagunera y sus alternativas de solución. 1era. semana de Agronomía. Memorias. UJED - FAZ. 16 - 21.
- Ramírez, G.J.A. y Miller, G.B., 1995. Manual de adelantos biotécnicos en reproducción animal aplicada a bovinos de carne. Facultad de Zootecnia. Universidad Autónoma de Chihuahua. 6 - 10.



- Rangel, R., 1996. Transferencia de embriones en cabras. Departamento de Zootecnia. Universidad Autónoma de Chapingo, Conferencia Magistral. Memorias. XI Reunión Nacional de Caprinocultura. Octubre Universidad Autónoma de Chapingo, México. 232 - 243.
- Schmidt, R.H. 1989. The arid zones of Mexico: Climatic extremes and conceptualizations of the Sonora desert. *J. Arid. Env.* 16, 241 – 256.
- Tervit, H.R., Gould, O.G., McKenzie, R.D., Clarkson, D.J. y Drommonds, J., 1984. Embryo transfer in Angora and Saanen goats. *New Zealand Veterinary Journal.* 33, 78 - 80.
- Ware, C.B. Northey, D.L. y First, N.L., 1987. Effect of administration of FSH at the beginning of the cycle on the subsequent response to superovulation treatment in heifers. *Theriogenology.* 27, 292 (Abstract).
- Wierzchos, E., Tischner, M. y Maffi, M., 1992. Superovulation of a low fecundity sheep breed using a porcine gonadotrophin extract with a defined LH content (Pluset). *Theriogenology.* 29, 339 - 345.