



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
"CUAUTITLAN"

EVALUACION DEL TRASPLANTE DE EMBRION POR
UN METODO NO QUIRURGICO EN EL GANADO
BOVINO HOLANDES.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

MEDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

P R E S E N T A

JUAN RAMON CONTRERAS PEREZ

Asesores: M. V. Z. RAFAEL ORDOÑEZ MEDINA
M. V. Z. JAIME ALEJANDRO OROZCO VARGAS

1981



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

C O N T E N I D O

I.- INTRODUCCION	1
II.- OBJETIVOS	6
III.- MATERIAL	7
IV.- METODO	9
V.- RESULTADO	24
VI.- DISCUSION	32
VII.- CONCLUSION	35
VIII.- BIBLIOGRAFIA	36

INTRODUCCION

Los primeros estudios sobre el trasplante de embriones - fueron practicados por Heape (1890) en conejo, a partir de entonces se han hecho trasplantes en varias especies con resultados sorprendentes (1)(7).

El término "inováculación" fué aplicado por Beatty (1951) al trasplante no quirúrgico de embrión por ser análogo al de "inseminación". Willet (1953) extendió este término para los métodos quirúrgico y no quirúrgico (1).

Otros trabajos sobre trasplante de embrión han sido reportados por Willet, Backer y Lasso (1953); y por el método no quirúrgico Umbaugh (1949); Dowling (1949); Rowson (1951);- Donker (1952); Hamond (1950); Dracy (1953); Dziuk y Petersen (1954); Nichols (1953) y Dziuk, Donker y Petersen (1958) (1).

Uno de los principales logros obtenidos en los estudios del ovario fué el observar que la producción de células germinales oscila entre 75000 y 275000 en la vaca y que sólo se aprovechan cuatro o cinco de estas a lo largo de su vida productiva, esto despertó en los investigadores la idea de recuperar parte del excedente de células germinales en vacas de un alto valor genético reproductivo (7).

Así, los problemas a resolver son:

- a) La posibilidad de provocar en un momento dado un número elevado de embriones viables para obtener la fertilización de manera regular a partir de una sola donadora y tener un buen número de embriones para el trasplante.
- b) Sincronización del estro entre los animales donadores y los receptores.
- c) Determinación del momento ideal para la reclección y el trasplante.

- d) La obtención de un medio de conservación al momento del — trasplante.
- e) Los medios para realizar el método de recolección y trasplante no quirúrgico.
- f) La posibilidad de conservar a una temperatura media constante los óvulos fecundados para que en un momento dado se realice el trasplante (7).

Varios autores han mencionado la importancia económica sobre el trasplante de embriones por el método no quirúrgico (Rowson y Dowling 1949), a la vez que otros han investigado sobre las nuevas técnicas y nuevos materiales e instrumentos para el método de recolección (Sugie et al 1972; Drost et al 1976; Elsden et al 1976 y Rowe et al 1976).

A través de los resultados reportados por algunos investigadores en estos trabajos se pone de manifiesto la eficiencia de la técnica no quirúrgica sobre la quirúrgica en cuanto a su bajo costo de operación, la no formación de adherencias por el manejo quirúrgico (2)(14), los problemas de esterilidad por las lesiones en el tracto reproductivo (3)(4)(6)(9) - (25), el gran número de vacas operadas el mismo día y por el stress operatorio que puede en muchos casos disminuir el número de gestaciones (14).

Para la realización de este trabajo, se empleó como agente superovulatorio la Gonadotropina del Suero de Yegua Preñada (PHSG) (6)(7)(13)(17). En los trabajos descritos por Cole (1950), mostró que el efecto de la gonadotropina es similar - al de las gonadotropinas de la pituitaria; a la hormona folículo estimulante (FSH) y a la hormona luteinizante (LH) (10).

El tratamiento de la gonadotropina consiste en estimular la fase estrogénica demostrando que la presencia del cuerpo - lúteo está ligada a la calidad del crecimiento folicular (22).

Quando se inyecta la PMSG y hay un cuerpo lúteo funcional, se observa el aumento de las concentraciones de progesterona (Henricks et al 1973; Thibier y Sauzande 1975) no importa la dosis administrada, es un reflejo de la cantidad de LH en la PMSG (22).

La sincronización del estro se hará con prostaglandinas (PGF-2-alfa) en dosis de 40 mg por vía intramuscular para provocar la luteólisis y se aplicará a las 48 hs. de la primera dosis de PMSG (6)(11)(20).

La inseminación se realizará con semen de tipo comercial de un toro probado a las doce horas de haber presentado el estro (3). En este trabajo se emplearán seis dosis de semen para aprovechar al máximo los óvulos y obtener un gran número de estos fecundados.

Para la recolección de embriones los datos que se obtienen eran bajos Dracy y Petersen (1950) decían que el método de insertar un cateter en el útero de la vaca para recuperar embriones fertilizados era impráctico (12) y nada promisorio (14), así que para lograr el éxito de este trabajo se empleó la técnica de la cápsula de Poley por ser de un material que reúne los requisitos de fácil esterilización, atraumático, fácilmente maleable y poseer un balón inflable para su sujeción en el cuerno uterino (11)(12)(16)(20)(21), este método es aplicable solo en vacas (11)(16)(20). La recolección de embriones se hará el séptimo día de la última inseminación (2)(3)(16).

Para la disposición de colocar el cateter dentro del cuerno uterino, se descubrió que podía ser de tres formas (12) (16) :

a) En la base del cuerno uterino se coloca el cateter a través del cual este se pasa a la unión tubouterina y así el

líquido para efectuar la recolección circular de la base del cuerno a la punta de este, también se conoce por el nombre de distancia variable (Fig.1).

b) Este método más reciente ocluye la base del cuerno uterino, el catéter presenta de dos a tres poros y se usa un lavado "bajo" del cuerno uterino; método bajo y lento, Elsdén (1976); Rowe (1976) y Greve (1977) (9) y en el cual se basa este trabajo. (Fig.2).

c) Este método presenta una distancia fija dentro de este sistema, en este caso el catéter de tres bocas o entradas es pasado a la punta del cuerno uterino donde el balón es inflado y los embriones recuperados usando un sistema de lavado por circulación corta (Fig. 3).



Fig. 1

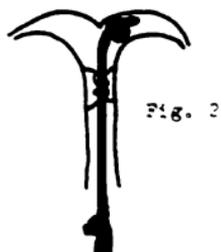


Fig. 2



Fig. 3

Fig 1.- Distancia variable.

Fig 2.- Lavado bajo y lento

Fig 3.- Lavado por circulación corta.

Ahora bien, el líquido para la recolección de embriones será el utilizado por Rowson, Moore y Lawson (1969) que consiste en un medio de cultivo (TCM 199) al que se le añade suero fetal bovino (15)(21) + 100,000 U.I. de penicilina + 1 mg de estreptomina por cada medio litro de este suero (4)(7)(14)(15)(20)(21).

Otro de los problemas que observaron Rowson, Laming y Fry (1953) era el hecho de que se presentaba al momento del trasplante de embrión una contaminación en el útero debido a la extrema susceptibilidad de éste durante la fase lútea que podía tener fallas iniciales aún con precauciones y el uso de antibióticos (1)(7)(21)(24), por lo que los datos bajos de gestaciones seguidas del trasplante de embriones han sido atribuidas a la contaminación uterina por el paso o depósito del embrión en el útero (7).

Estas eran las fallas iniciales que se presentaban en el desarrollo de la gestación por el método no quirúrgico, así pues, estaba muy por encima el método quirúrgico pese a los problemas que la intervención quirúrgica presentaba (5)(10), así que Brand y Drost (1977) utilizando la técnica de la inseminación artificial por medio de la pistola inseminadora usada anteriormente por Screenan (1975); Boland (1975) y Renard (1977) además de una funda protectora o popote que evitara el contacto de la funda que contiene el embrión por las paredes de la vagina y del cervix (23)(24), lograron aumentar del 12-45 % de gestaciones al 60 %.

El presente trabajo muestra el método de trasplante de embrión en sus fases de superovulación, sincronización del estró, inseminación, recolección de embriones e implante por el método no quirúrgico en base a los trabajos realizados por varios autores.

OBJETIVOS

- a) Demostrar la técnica a seguir en el manejo del trasplante de embrión mediante el método no quirúrgico,
- b) Recalcar la importancia de la selección de las vacas donadoras y receptoras,
- c) Señalar el manejo del material necesario para el desarrollo del método.
- d) Demostrar que el uso de la pistola inseminadora y la funda protectora disminuyen el riesgo de la contaminación uterina.
- e) Demostrar en base al porcentaje de gestaciones que este método es aceptable al compararlo con el método quirúrgico.

MATERIAL

Para la elaboración de este trabajo se seleccionaron:

- 3 vacas donadoras:
 - una de dos y medio años con un parto.
 - una de seis años con cuatro partos.
 - una de ocho años con seis partos.
- 30 receptoras, entre vacas y becerras de diferente edad.
- 18 dosis de semen.
- 1 corral de manejo (manga). Con una rampa.
- 1 microscopio estereoscópico.
- 100 vasos de precipitado de 10 cc.
- 2 litros de TCM 199 + suero fetal bovino + 100,000 U.I. de penicilina + 1 mg de estreptomicina por cada frasco de 500 cc de TCM 199.
- 4 cateters de Poley.
- 2 metros de tubo de hule latex de .5 cm de diámetro.
- 1 llave válvula de tres bocas con seguro.
- 1 soporte universal.
- 2 llaves de sujeción.
- 4 jeringas desechables de 50 ml cada una.
- 2 jeringas desechables de 10 ml cada una.
- 4 jeringas tipo insulina.
- 35 agujas de 18 X 38 mm (1 1/2").
- 2 frascos de 100 cc cada uno de clorhidrato de lidocaina.
- 1 frasco de jabón desinfectante.
- 1200 μ g de prostaglandinas.
- 5 frascos de 10,000 U.I. de Gonadotropina de Suero de Yegua Preñada (PMSG) cada uno.
- 30 pipetas tipo francés de .5 cc de capacidad.
- 30 tubos de plástico de 0.1 cm de diámetro.

- 5 cajas de blástico para selección de embriones.
- 2 pistolas para inseminar con popote tipo francés de 0.5 cc.
- 50 fundas para inseminar con popote tipo francés de .5 cc.
- 1 rollo de maskingtape de 1/2 pulgada.
- 2 pinzas Kelly.
- 1 aretador.
- 30 aretes de hule sin número.
- 1 cuaderno de registro.
- 1 block con hojas para el registro del método.
- 1 paquete de guantes desechables.
- 1 frasco de lubricante estéril.
- 500 cc de terramicina líquida.
- 1 terno portátil.

(1)(2)(3)(4)(8)(9)(11)(13)(14)(15)(17)(18)(19).

METODO

Se seleccionaron tres vacas donadoras en base a su calidad reproductora y por tener un alto potencial genético.

Estas vacas presentaron las condiciones que se requerían para este trabajo: Haber tenido más de 45 días postparto, haber presentado un calor para que al momento del tratamiento estuvieran en el décimo día de su ciclo estrual, teniendo en cuenta que el estro es el día cero, presentar un cuerpo lúteo funcional producto de una ovulación en cualquiera de los ovarios y no haber presentado alteraciones en su tracto genital durante el puerperio: esto es, retención de placenta, metritis, piometras, etc; así como alteraciones en su tracto genital que afecte la funcionalidad reproductora tales como: cervicitis, salpingitis, burñitis, ooforitis, antecedentes de quistes foliculares o luteínicos, adherencias, etc. (9).

Al mismo tiempo se seleccionaron 30 animales entre vacas productoras y becerras a primer o más servicios con las mismas características en su tracto reproductivo, estos animales serán usados como recipientes.

Para provocar la superovulación en los animales donadores se les aplicaron cuatro dosis de PMSG a razón de 2,500 U.I. - por vía intramuscular a partir del décimo día del ciclo estrual - (2)(7)(9)(10)(13)(19), repitiendo la dosis cada doce horas y 48 horas después de la primera aplicación de PMSG, se aplica una dosis de 40 mg de prostaglandina (PGF-2-alfa) por vía intramuscular para provocar la luteólisis (11) y posteriormente el celo.

El mismo día de la aplicación de prostaglandinas a las vacas donadoras, se les aplicó también a las vacas receptoras

con el fin de sincronizar el calor (3)(7), esto se hizo en los 30 animales receptores que también presentaron un cuerpo lúteo funcional; este manejo se realizó en 18 becerras y 12 vacas.

El calor apareció a las 48 horas de aplicada la prostaglandina (3)(17), este se presentó normalmente en las vacas donadoras (cuadro 1) no así en las receptoras en las que presentaron calor solamente 18 animales (10 becerras y 8 vacas), las restantes 8 becerras y 4 vacas no respondieron al tratamiento de las prostaglandinas, por este motivo se desecharon de este trabajo.

Una vez presentado el calor en las vacas donadoras, se inspeccionó por palpación rectal la característica del útero para determinar la calidad del estro; sea por la presencia de moco cristalino, turgencia uterina y detectando en ovarios si hubo o no un buen número de óvulos o folículos para considerar que el animal donador está apto para proceder a la inseminación (3).

Estos animales se inseminaron en este trabajo con seis dosis de semen congelado en presentación comercial de popote tipo francés con un contenido de .5 ml de semen de un toro de reconocida fertilidad y probado como excelente; esto es, a las doce horas de haber presentado el estro se aplicó la primera dosis de semen (3) para posteriormente repetir la inseminación cada doce horas para obtener un buen número de óvulos fecundados (3)(7).

Durante el período comprendido desde la aparición del estro hasta la última inseminación de las vacas donadoras, es decir, durante tres días, se escogieron 9 animales; 7 becerras y 2 vacas que salieron en calor natural para usarlas como receptoras.

Cuadro 1.- Relación de la respuesta a la administración de PMSG, PGF, folículos detectables y número de dosis aplicadas a cada vaca donadora.

Vaca donadora	Respuesta a PMSG	Respuesta a PGF	Folículos detectados	No. dosis de semen
No. 506	+	+	15	6
616	+	+	5	5 •
718	+	+	23	6

• No presentaba condiciones aceptables en el tracto reproductivo a partir de la cuarta inseminación

Dentro de las 17 becerras y 10 vacas salidas en calor: - 9 becerras y 6 vacas pertenecían al rancho " Chelita " donde se practicó la recolección de embriones y las 8 becerras y 4 vacas restantes pertenecían al rancho "Chihuahua", distante a dos y medio kilómetros.

La recolección de embriones se hizo a los 7 días de aplicada la última inseminación (2) (3) (16), se obtuvieron embriones de 7,8 y 9 días de edad y se procedió a la implantación - en los animales receptores por el método no quirúrgico -vía intrauterina- que tenían entre 7,8 y 9 días de haber presentado el estro, ya sea provocado por la sincronización o por medio natural (3) (8) (16).

El método de la recolección de embriones se empezó colocando a la donadora en una rampa en la cual se obligaba al animal a permanecer en una posición en la que el tren anterior se encontraba a 50 cm. de altura en relación al tren posterior con el fin de aprovechar la fuerza de gravedad para facilitar la recolección (2) (11) (12) (16).

Se procedió a la desinfección de la zona del maslo para la aplicación de 5ml. de clorhidrato de lidocaina por vía e -

pidural (5)(8) y favorecer el manejo durante la palpación rectal (1)(3)(7)(11)(12) mediante el siguiente procedimiento:

a) Se utilizó un guante para palpación rectal, se cubrió con un lubricante estéril para evitar lesiones traumáticas e irritaciones en la mucosa rectal. Se introdujo el brazo por vía rectal y se extrajo el contenido fecal, la ovulación se determinó por la presencia de uno o más cuerpos lúteos en el ovario (3), después se palpó el útero para detectar posibles alteraciones.

b) Se hizo un lavado general con agua y jabón del tren posterior para quitar restos de heces, lodo y polvo, después se aplicó una solución de jabón desinfectante para posteriormente rociar con alcohol al 70% (12), se comprobó el efecto de la anestesia por la flacidez de la cola y la falta de movimiento.

c) Se colocó el soporte universal a una mesa que dá a un lado y hacia atrás del animal, en este caso al lado izquierdo, ahí se colocó por medio de unas pinzas de sujeción la válvula de de tres seguros y tres bocas, a una boca se le colocó la jeringa de 50 ml que contenía el medio de cultivo, en la boca superior se colocó un tubo de hule látex de aproximadamente 2 metros de largo que a su vez fué colocado en el cateter de Foley, en la otra boca lateral se colocó otro tramo de hule látex de aproximadamente 20 cm de largo que vá a dar a los recipientes de vidrio para recolectar el líquido que se empleó para hacer el lavado uterino (Fig. 4).

A un lado de este soporte se colocó el material que se usó para hacer el lavado y recolección: medio de cultivo, gasas, vasos de precipitado -mínimo 30 por recolección y con tapa numerada-, jeringas de 50 ml, un marcador y un rollo de maskingtape.

d) Se utilizó un cateter de Foley con tres bocas para la reco

lección de embriones mismo que se insertó en vagina cuidando de abrir bien los labios vaginales para evitar el roce del — cateter con las partes externas del tracto genital, con la — ayuda de un estilete que se introdujo en el cateter (2)(6)(8) (20) y que mantenía rígido a este para facilitar su maleabili— dad, por palpación rectal se dirigió hacia el cuerno uterino atravesando el cervix de un modo similar al de la inseminación artificial, se dirigió el cateter hacia el cuerno uterino don— de se encontró el ovario que ovuló (12).

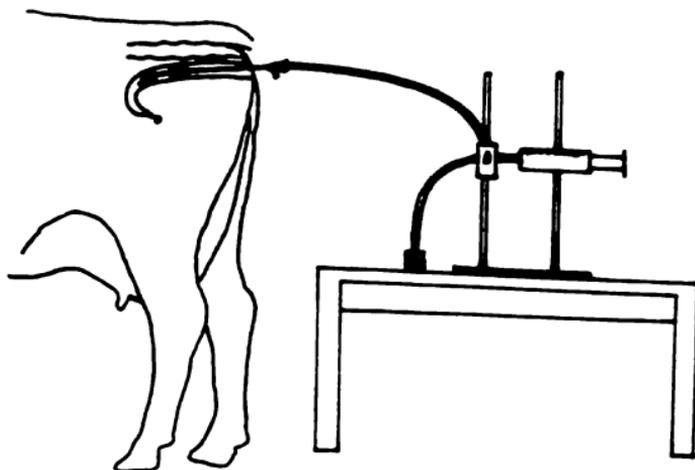


Fig. 4.- Disposición del armamento de la válvula de tres bocas unida al cateter de Poley para la recolección de embriones.

e) el cateter se colocó a 5 cm de distancia de la unión tubo— uterina y se infló el balón con 7 cc de aire por medio de una jeringa colocada en la válvula del cateter para su sujeción — en esta porción del cuerno uterino (16)(21). (Fig. 5).

f) Se procedió al lavado uterino con el medio de cultivo + el suero fetal bovino + 100,000 U.I. de penicilina + 1 mg de estreptomycinina calentado a baño maría a 37°C para evitar el choque térmico al embrión (4)(7)(14)(15)(20)(21).



Fig. 5.- Colocación del cateter de Foley dentro del cuerno uterino para efectuar la recolección de embriones.

Por medio de la jeringa de 50 ml que se conectó a una de las partes de la válvula, se inyectó el medio de cultivo controlando este volumen por la palpación rectal, se dió un pequeño masaje y por medio de la válvula que permitió el paso del líquido y salida de este por una llave controlada por el operador para efectuar la recolección de volúmenes de aproximadamente 5 ml del medio que por arrastre debería contener los embriones (Fig. 6).

g) Una vez que se recolectó el líquido, se llevó a observación en microscopio para identificar los embriones, esto se -

hizo por medio del conteo celular y la clasificación del mismo en etapas de mórula y blástula con un total de 32 y 64 células respectivamente, la medida del embrión es aproximadamente de 100 micras de diámetro.

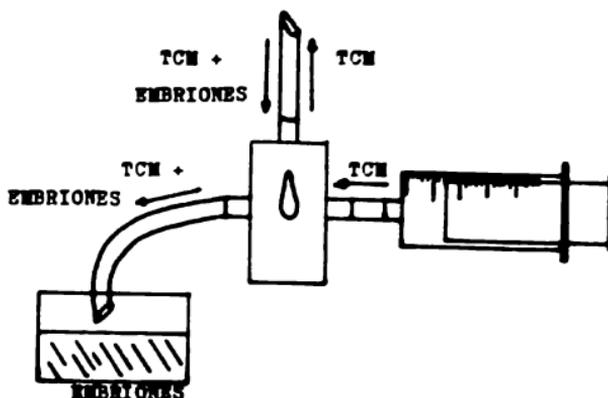


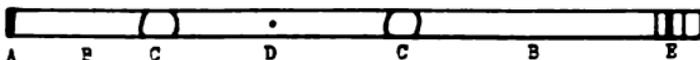
Fig. 6.- Recolección de volúmenes de líquido inoculado a útero para la obtención de embriones.

h) Se hizo una selección de embriones viables por medio de la jeringa para tuberculina a la que se le adaptó una pequeña pipeta para facilitar la recolección.

Una vez hecho esto, se colocaron los embriones en unas cajas de plástico para diferenciar las mórulas de las blástulas.

Ya separados y seleccionados los embriones, se adaptó a la jeringa de tuberculina una pipeta transparente (9) por medio de un tubo látex, dicha pipeta contiene 0.5 ml del medio

de cultivo, después se absorbió una pequeña cantidad de aire para posteriormente absorber otros 0.5 ml del medio que contenía al embrión, se absorbió otra pequeña cantidad de aire y finalmente otra cantidad del medio hasta completar el llenado de la pipeta y comprobando la presencia del embrión entre las dos burbujas de aire por el microscopio estereoscópico, antes de su aplicación (11)(18) (Fig. 7).



- A) SELLADO CON CALOR
- B) TCE
- C) BURBUJA DE AIRE
- D) TCE + EMBRION
- E) TAPON DE ALGODON

Fig. 7.- Presentación del midipopote con la presencia del embrión entre las dos burbujas de aire.

Una vez preparados los embriones en el popote transparente, se colocaron en una caja de poliuretano que sirvió como termo y al que se le colocaron trapos calientes secos para obtener una temperatura interna de 37°C.

Las pipetas son colocadas en una rejilla de madera perforada para mantenerlas separadas una de otra y en posición vertical con el extremo soldado con calor hacia abajo, de manera que al sacar el popote se haga por el extremo superior y evi-

tando así la contaminación por parte del operador (Fig. 8).

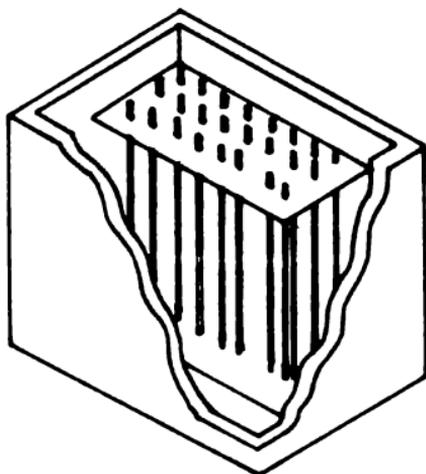


Fig. 8.- Manejo de las pipetas dentro de la rejilla y dentro del termo.

Siguiendo con el manejo, se colocó el popote con el embrión dentro de una funda de tipo comercial para este tipo de popote y a su vez, todo se coloca dentro de la pistola inseminadora siguiendo el proceso de la inseminación artificial — (Screenan et al 1975; Boland et al 1975 y Renard et al 1977). una vez hecho esto, se coloca dentro de un popote de plástico (23) al que en uno de sus extremos se selló con maskingtape para cerrar el orificio y el otro extremo se sujetó con unas pinzas Kelly, de este modo quedó listo para su uso (Fig. 9).

En la preparación de los animales receptores, se procedió a la sujeción para evitar el movimiento que pudiera dificultar el manejo del trasplante, después por palpación rectal se hizo vaciamiento de heces y posteriormente lavado de la re

gión de la vulva con agua y jabón desinfectante, se enjuagó y después se roció con alcohol al 70% (12).

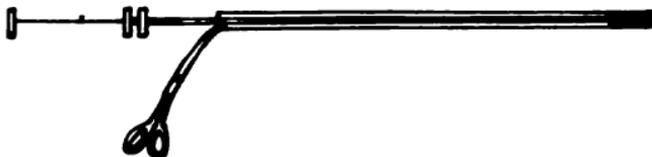


Fig. 9.- Presentación del midipopote conteniendo al embrión listo para su aplicación.

Se procedió a la aplicación de 5 ml de clorhidrato de li docafina por vía epidural por animal receptor para prevenir — las deyecciones y facilitar el manejo de la palpación rectal (1)(3)(5)(7)(8)(11)(12).

Por la palpación rectal se determinó el ovario que presen tó el cuerpo lúteo funcional que nos indica el lado de la ovu lación para depositar el embrión en el cuerno correspondiente al del cuerpo lúteo (5)(11).

El procedimiento o método para realizar el trasplante de embrión es el siguiente:

Una vez preparado el popote con el embrión en la pistola para inseminar y el popote con las pinzas de Kelly, estas últimas se sujetaron con los dedos índice y medio y la pistola con el anular y el pulgar, se separaron los labios de la vulva para facilitar la penetración sezejando una inseminación -

artificial hasta llegar a cervix, por palpación rectal se dirige el cateter hacia la entrada de cervix pasando por los anillos cervicales en una forma cuidadosa para evitar lesiones o sangrado que nos pueda traer consecuencias indeseables para el desarrollo del implante, este cateter por palpación rectal se detuvo en el último anillo para que de aquí se proceda a la sujeción firme de las pinzas de Kelly impidiendo el avance del popote hacia el interior, una vez hecho esto, se empujó - la pistola para que a la presión rompa el sellado de masking-tape y penetre la funda que contiene el embrión en una forma-limpia, así, se evita el transporte de sustancias o bacterias presentes en el tracto vaginal hacia el cuerno uterino que pro-voquer una infección (Fig. 10).

Una vez traspasada la barrera del maskingtape, el cateter se dirige hacia el interior del cuerno uterino y este, por me-dio de la palpación rectal se voltea hacia arriba para facili-tar la entrada hacia el tercio anterior y ahí se empujó el em-bolo de la pistola para depositar el embrión (Fig.11).

El útero por condiciones fisiológicas de haber presenta-do esto, está facultado para recibir el embrión y continuar la gestación.

A todos los animales receptores se les identificó con un arete en el que se indica el número de la vaca donadora para-su posterior identificación.

En el rancho "Chelita" se implantó el embrión en 9 bece-rras y 6 vacas en un tiempo de 80 minutos y en el rancho "Chi-huahua" a 8 becerras y 4 vacas en un tiempo de 50 minutos ha-ciendo un tiempo máximo de 2 horas con 10 minutos desde la re-colección hasta el último implante.

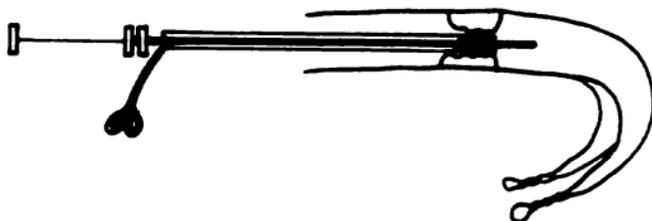


Fig. 10.- Colocación del popote en útero, una vez traspasada la barrera del maskingtape.

La palpación rectal para detectar el ovario con cuerpo lúteo funcional arrojó los datos que se muestran en el cuadro número 2.

En ningún animal receptor se encontró dificultad para pasar el cateter y depositar el embrión.

La temperatura ambiente registró una variación de 100 días de que se inició la recolección del embrión hasta su aplicación, la del termo que contenía los embriones disminuyó de -- 37° C a 28°C.

El diagnóstico de gestación se realizó por medio de la palpación rectal para detectar la presencia de membranas fetales y del feto a los 60 días de efectuado el trasplante de embriones y se compaginó el lado de la implantación del embrión

con el desarrollo de la gestación para detectar una posible migración.

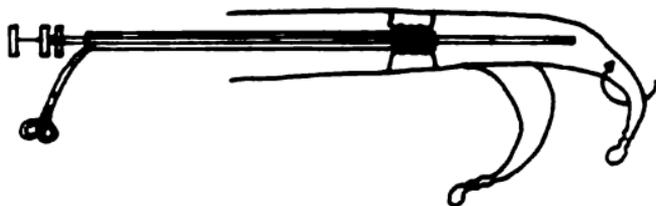


Fig. 11.- Colocación del embrión en el tercio anterior del cuerno uterino para que se realice el implante.

Cuadro No. 2.- Detección del cuerpo lúteo funcional al realizar la palpación rectal.

Rancho "Chelita"					
Becerra	Ovario	Ovario	Vaca	Ovario	Ovario
No.	derecho	izquierdo	No.	derecho	izquierdo
8	X	-	6	X	-
16	X	-	75	-	X
18	X	-	86	X	-
25	-	X	102	X	-
32	X	-	123	-	X
126	-	X	204	X	-
138	X	-			
155	X	-			
192	-	X			

Rancho "Chihuahua"					
Becerra	Ovario	Ovario	Vaca	Ovario	Ovario
No.	derecho	izquierdo	No.	derecho	izquierdo
5	X	-	108	X	-
11	X	-	207	X	-
17	X	-	222	X	-
43	X	-	234	X	-
53	-	X			
62	X	-			
71	X	-			
88	-	X			

HOJA DE REGISTRO

Vaca No. _____ Fecha de parto _____
 Fecha último calor _____

Aplicación de PMSG Dfa _____
 Dosis _____
 Hora _____

Aplicación de Dfa _____ Dosis _____ mg
 PGP-2-alfa

Estro día _____ Ovario en ovulación _____

Características del estro Número de óvulos _____

Toro usado _____ No. de registro _____

Dosis de semen aplicadas

Fecha	No. dosis	Hora	Presencia de moco	Operador
	1			
	2			
	3			
	4			
	5			
	6			

RESULTADOS

Los resultados de la recolección de embriones en las vacas donadoras se muestran en el cuadro número 3.

Cuadro No. 3.- Obtención de embriones en sus estados de mórula y blástula en las vacas donadoras.

Vaca No.	No. de embriones	Mórula	Blástula	No viables
506	13	9	4	0
616	0	0	0	0
718	19	10	5	4

Una vez hecha la recolección a todas las vacas donadoras se les aplicó por vía intrauterina una solución de 50 ml de terramicina líquida con la finalidad de evitar que por alguna razón quedaran uno o más embriones viables que no fueron recolectados por el lavado y que llegaran a implantarse, provocando una gestación no deseable (9).

El resultado de la recolección de embriones y número de muestras tomadas se muestran en el cuadro No. 4.

Así se obtuvo un total de 28 embriones viables con un promedio de 9.3 embriones por vaca en la recolección, cuadro No. 5.

Ahora bien, de los 30 animales receptores tratados con prostaglandina, 18 mostraron calor (10 becerras y 8 vacas) y salidas en calor natural 9 (7 becerras y 2 vacas) lo que hace un total de 27 animales: (17 becerras y 10 vacas) cuadro No. 6.

De este modo se contó con 27 animales receptores y 26 embriones viables, por lo tanto un embrión se desperdició por no contar con recipiente, y en este caso no se aceptó la posibilidad de implantar 2 embriones en un recipiente.

Cuadro No. 4.- Resultado de la recolección de embriones y número de muestras tomadas.

Donadora 506		Donadora 616		Donadora 715	
Muestra No.		Muestra No.		Muestra No.	
No.	embriones	No.	embriones	No.	embriones
1	0	1	0	1	3 •
2	0	2	0	2	3
3	0	3	0	3	1
4	0	4	0	4	0
5	0	5	0	5	0
6	0	6	0	6	3
7	0	7	0	7	0
8	0	8	0	8	0
9	3	9	0	9	2
10	4	10	0	10	2
11	0	11	0	11	0
12	0	12	0	12	0
13	1	13	0	13	0
14	1	-	-	14	0
15	1	-	-	15	0
16	0	-	-	-	-
17	0	-	-	-	-
18	0	-	-	-	-
19	0	-	-	-	-
20	3	-	-	-	-
21	0	-	-	-	-
22	0	-	-	-	-
23	0	-	-	-	-
24	0	-	-	-	-
25	0	-	-	-	-
	<u>13</u>		<u>0</u>		<u>19</u>

• 4 no viables

Cuadro No. 5.- Total de embriones recolectados y promedio por recolección.

Vaca donadora No.	506	616	718	Total
No. de embriones	13	0	19	32
No viables	0	0	4	4
viables	13	0	15	28

Promedio por recolección = 9.3 embriones.

El implante se realizó en el cuerno correspondiente al cuerpo lúteo.

El manejo de los 28 embriones viables para los 27 animales receptores, 20 ovulaciones en el ovario derecho y 7 en el izquierdo, la distribución de los embriones en los animales receptores y la respuesta de la gestación de animales salidos en calor por las prostaglandinas y por calor natural se muestran en el cuadro No. 6.

Cuadro No. 6.- Este cuadro nos muestra el resultado de la implantación de embriones en animales salidos en calor natural o provocado por la sincronización.

Rancho "Chelita"							
No. becerra	Embrión de vaca No.			ovulación ovario		Calor por	Gestación
	506	616	718	D	I		
8	M	-	-	X	-	PGP	+
16	M	-	-	X	-	CN	+
18	B	-	-	X	-	PGP	-
25	M	-	-	-	X	PGP	+
32	-	-	M	X	-	PGP	+
126	B	-	-	-	X	PGP	-
138	-	-	M	X	-	CN	+
155	-	-	M	-	X	CN	+
192	-	-	M	-	X	CN	+
No. vaca							
6	B	-	-	X	-	PGP	+
75	-	-	B	-	X	PGP	-
86	M	-	-	X	-	PGP	+
102	-	-	M	X	-	CN	-
123	B	-	-	-	X	PGP	+
204	-	-	B	X	-	PGP	+

(cont.)

(cont.)

No. becerra	Rancho "Chihuahua"			Ovulación		Calor por	Gestación
	Embrión de vaca No.			ovario			
	506	616	718	D	I		
5	M	-	-	X	-	CN	-
11	M	-	-	X	-	PGP	+
17	M	-	-	X	-	PGP	-
43	-	-	M	X	-	PGP	+
53	-	-	M	-	X	PGP	+
62	M	-	-	X	-	PGP	+
71	-	-	B	X	-	CN	+
88	-	-	M	-	X	CN	+
No. vaca							
108	-	-	M	X	-	PGP	+
207	-	-	B	X	-	PGP	+
222	-	-	M	X	-	CN	+
234	-	-	M	X	-	PGP	-

B = Blástula

M = Mórula

PGP = Prostaglandinas

CN = Calor natural

El total de animales gestantes del trasplante en los 27 embriones fué:

19 gestantes = 70.37 % .

8 vacías = 29.62 %

De las 19 gestantes 13 fueron de prostaglandinas 68.42 % y 6 de calor natural 31.57 % lo que hace que:

13 PGP - 7 becerras = 53.84 %

- 6 vacas = 46.5 %

6 CN - 5 becerras = 83.33 %

- 1 vaca = 16.66 %

Por lo tanto fueron 12 becerras gestantes 63.15 % y 7 vacas gestantes 36.84 %.

De los 27 animales receptores fueron 17 becerras 62.96 % y 10 vacas 37.03 % de las cuales se dividieron al tratamiento con prostaglandinas y en calor natural como sigue:

17 becerras - 10 PGP = 58.82 %

- 7 CN = 41.17 %

10 vacas - 8 PGP = 80.00 %

- 2 CN = 20.00 %

Lo que hace un total de 18 animales tratados con PGP de 66.66 % y 9 salidos en calor natural 33.33 %.

De los 27 embriones recolectados para el trasplante se encontraron 19 Mórulas (M) 70.37 % y 8 Blástulas (B) 29.62 % y se distribuyeron en los animales receptores como se muestra a continuación:

14 M en becerras = 73.68 %

5 M en vacas = 26.31 %

3 B en becerras = 37.5 %

5 B en vacas = 62.5 %

De las 19 receptoras gestantes 14 fueron del lado derecho 73.68 % y 5 del lado izquierdo 26.31 % y su colocación entre

las becerras y las vacas es como sigue:

del lado derecho	- 8 en becerras	= 57.14 %
	- 6 en vacas	= 42.85 %
del lado izquierdo	- 4 en becerras	= 80.00 %
	- 2 en vacas	= 20.00 %

La distribución de los trasplantes de los ranchos "Chelita" y "Chihuahua" fueron de 15 (55.55 %) y 12 (44.44 %) respectivamente, lo que arrojó datos de gestaciones de 10 (37.03 %) en el primero y 9 (33.33 %) en el segundo, y el manejo de ambos se muestra en el cuadro siguiente:

Gestaciones en el Rancho "Chelita"

10 receptoras	= 37.3 %		
6 en becerras	= 60.00 %	3 PGP	= 50.00 %
		3 CN	= 50.00 %
4 en vacas	= 40.00 %	4 PGP	= 100.00 %

Gestaciones en el rancho "Chihuahua"

9 receptoras	= 33.33 %		
2 en becerras	= 66.66 %	4 PGP	= 66.66 %
		2 CN	= 33.33 %
3 en vacas	= 33.33 %	2 PGP	= 66.66 %
		1 CN	= 33.33 %

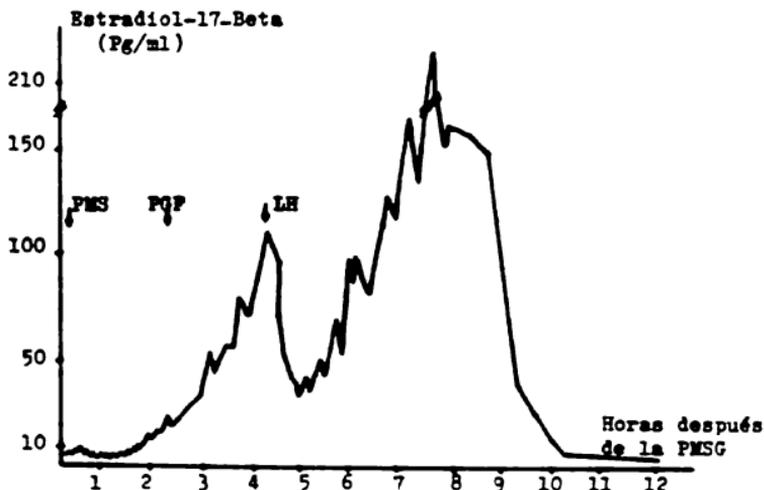
El número de vacías en ambos ranchos fué de 8: 5 (18.51%) en el "Chelita" y 3 (11.11 %) en el "Chihuahua" y se distribuyeron como sigue:

Vacías en el Rancho "Chelita"

5 receptoras	= 18.51 %		
3 en becerras	= 60.00 %	2 PGP	= 66.66 %
		1 CN	= 33.33 %

DISCUSION

La respuesta ovárica a la administración de PMSG es variable en dosis de 1,500 - 3,000 U.I., Brand (1977) logra 9.8 ovulaciones, Hahn y Hahn (1976) 9.1 ovulaciones, Beehan y Screenan (1977) obtienen entre 8.4 y 10.2 ovulaciones por donante, Shea y col. (1976) 9.5 y 14.5; Greve, Lehn-Jensen y Raabech (1977) 8.9 ovulaciones (9).



Gráfica de respuesta de PMSG seguida de la aplicación de PGP-2-alfa (Saumade 1977).

Los datos a la recuperación se refleja en la eficiencia de los instrumentos empleados y la pérdida de embriones puede ser atribuida a:

- 1) Fallas en el manejo al recoger los embriones.
- 2) degeneración del embrión.
- 3) Retención del huevo en el oviducto.

4) Aislamiento e identificación impropia de los embriones en la caja de separación. (19).

La retención de embrión en el cateter de Foley de 4.5 mm de diámetro no es posible por el rápido lavado con el medio de cultivo (13).

La técnica de la cámara mostró el criterio aceptable de excelente para la recolección de embriones y puede ser usada prácticamente en las condiciones del rancho y puede ser de uso rutinario en el método de la recolección de embriones en condiciones de campo (13).

Otros reportes previos en el resultado de la gestación - usando la pistola para inseminar es el siguiente:

Boland et al (1975)	25	%
Screenan (1975)	25	% bilateral
Boland (1976)	17	%
Boland et al (1976)	12	%
Greve (1976)	32	%
Hahn et al (1977)	62.9	%
Heyman et al (1977)	35.3	% (dfa 7 - 9)
	56.6	% (dfa 10 - 11)
	38.4	% (dfa 12 - 13)
Renard et al (1977)	36.8	% (unilateral)
	45.0	% (bilateral)
Boland y Gordon (1978)	33.3	%
Greve y Lehn-Jensen (1978)	33.0	%
Newcomb et al (1978)	35.0	%
Frounson et al (1978)	46.0	%
Heyman et al (1977)	35.0	%
	56.0	%
	38.0	%

Trounson et al (1978)	22.0 % (dfa 6)
	40.0 % (dfa 7)
	50.0 % (dfa 8)
	59.0 % (dfa 9)
	46.0 % (dfas 6 - 9)

CONCLUSIONES

- 1.- El resultado muestra que esta técnica puede ser aceptada debido al alto número de gestaciones.
- 2.- El transporte de un rancho a otro no fué significativo para el resultado.
- 3.- La varianza en la temperatura no influyó sobre el em--
brión para el desarrollo de la gestación.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Avery, T.L.; Fahning, V.G.; Pursel, V.G. and Graham, E.P.
INVESTIGATION ASSOCIATED WITH THE TRANSPLANTATION OF
BOVINE OVA. IV TRANSPLANTATION OF OVA. Journal of
Reproduction and Fertility. (1961) 3 (jun) 229-238.
- 2.- Baker, A.A. and Jillella, D.
TECHNIQUES OF SURGICAL AND NO SURGICAL OVA COLLECTION OF
SUPEROVULATED COWS. Veterinary Record. (1978) 103 (25)
558-562.
- 3.- Bouters, R.; Dhont, D.; Coryn, M. and Vandeplassche, M.
EMBRYO TRANSFER IN CATTLE; AN EVALUATION OF THE CURRENT
SITUATION. Journal of the South African Veterinary
Association. (1978) 49 (1) 9-12.
- 4.- Bowen, J.M.; Elsdon, R.P. and Seidel, G.E. Jr.
NON-SURGICAL EMBRYO TRANSFER IN THE COW. Theriogenology.
(1978) 10 (1) 89-95.
- 5.- Brand, A.; Drost, M.; Aarts, M.H. and Gunnink, J.W.
A DEVICE FOR NONSURGICAL TRANSFER OF BOVINE EMBRYOS AND
ITS EFFECT ON UTERINE CONTAMINATION. Theriogenology.
(1976) 6 (5) 509-514.
- 6.- Brand, A.; Trounson, A.O.; Aarts, M.H.; Drost, M. and
Zaayers, D.
SUPEROVULATION AND NON-SURGICAL EMBRYO RECOVERY IN THE
LACTATING DAIRY COW. Animal Production. (1978) 26 (1) 55-60.
- 7.- Derivaux, J. and Ectors, P.
LA TRANSPLANTATION OVULAIRE. APPLICATION A L'ESPECE BOVINE.
Annales de Médecine Vétérinaire. (1976) 120 (3) 160-183.

- 8.- Drost, M.; Brand, A. and Aarts, M.H.
A DEVICE FOR NON SURGICAL RECOVERY OF BOVINE EMBRYOS.
Theriogenology. (1976) 6 (5) 503-507.
- 9.- Elsdon, R.P.; Hasler, J.P. and Seidel, G.E. Jr.
NON-SURGICAL RECOVERY OF BOVINE EGGS. Theriogenology.
(1976) 6 (3) 523-532.
- 10.- Elsdon, R.P.; Nelson, L.D. and Seidel, G.E. Jr.
SUPEROVULATING COWS WITH FOLLICLE STIMULATING HORMONE
AND PREGNANT MARE'S SERUM GONADOTROPHIN. Theriogenology.
(1978) 9 (1) 17-26.
- 11.- Greve, T. and Lhen-Jensen.
EMBRYO TRANSPLANTATION IN CATTLE. Acta Veterinaria
Scandinavica. (1979) 20 (1) 135-144.
- 12.- Greve, T.; Lhen-Jensen and Rasbech, N.O.
NON-SURGICAL RECOVERY OF BOVINE EMBRYOS. Theriogenology.
(1977) 7 (4) 239-247.
- 13.- Jillella, D. and Backer, A.A.
TRANSCERVICAL TRANSFER OF BOVINE EMBRYOS. Veterinary
Record. (1978) 103 (26/27) 574-576.
- 14.- Jillella, D.; Eaton, R.J. and Backer, A.A.
SUCCESSFUL TRANSFER OF A BOVINE EMBRYO THROUGH A
CANNULATED FALLOPIAN TUBE. Veterinary Record.
100: 385-386. 30 apr 77.
- 15.- Lawson, R.A.S.; Rowson, L.E.A. and Adams, C.E.
THE DEVELOPMENT OF COWS EGGS IN THE RABBIT OVIDUCT AND
THEIR VIABILITY AFTER RETRANSFER TO HEIFERS. Journal of
Reproduction and Fertility. (1972) 28 (2) 313-315.

- 16.- Newcomb, R.; Chritie, W.B. and Rowson, L.E.A.
NON-SURGICAL RECOVERY OF BOVINE EMBRYOS. *Veterinary Record*. (1978) 102 (19) 414-417.
- 17.- Newcomb, R.; Rowson, L.E.A. and Trounson, A.O.
THE SACREWELL PROJECT: AN ON FARM DEMONSTRATION OF THE POTENTIAL OF EGGS TRANSFER. *Veterinary Record*. (1978) 130 (21) 415-418.
- 18.- Renard, J.P.; Heyman, Y. and du Mensil du Buisson P.
UNILATERAL AND BILATERAL CERVICAL TRANSFER OF BOVINE EMBRYOS AT THE BLASTOCYST STAGE. *Theriogenology*. (1977) 7 (4) 189-194.
- 19.- Rodriguez, C.D.; Prene, A.J. y Granate, M.
TRASPLANTES EMBRIONARIOS EN BOVINOS. *Gaceta Veterinaria*. (1978) 40 (334) 623-632.
- 20.- Rowe, R.P. Del Campo, M.R.; Elits, C.L.; French, L.R. Winch, R.P. and Ginther, O.J.
A SINGLE CANNULA TECHNIQUE FOR NONSURGICAL COLLECTION OF OVA FROM CATTLE. *Theriogenology*. (1975) 6 (5) 471-483.
- 21.- Rowson, L.E.A.; Moor, R.H. and Lawson, R.A.S.
FERTILITY FOLLOWING EGGS TRANSFER IN THE COW: EFFECT OF METHOD MEDIUM AND SYNCHRONIZATION OF OESTRUS. *Journal of Reproduction and Fertility*. (1969) 18, 516-523.
- 22.- Saumande, J.
INDUCTION D'UNE SUPEROVULATION DANS L'ESPECE BOVINE CARACTERISTIQUES DE L'AGENT STIMULANT. EFFET SUR LA CROISSANCE FOLLICULAIRE TRAITEMENTS UTILISES. CONSEQUENCES HORMONALES. *Annales de Médecine Vétérinaire*. (1977) 121 (7) 449-477.

- 23.- Screenan, J.M.
NON-SURGICAL EMBRYO TRANSFER IN THE COW.
Theriogenology. (1978) 9 (1) 69-83.
- 24.- Trounson, A.O.; Brand, A. and Aarts, M.H.
NON-SURGICAL TRANSFER OF DEEP-FROZEN BOVINE EMBRYOS.
Theriogenology. (1978) 10 (1) 111- 115.
- 25.- Wilmut, I.
THE VALUE OF EMBRYO TRANSFER TO CATTLE BREEDING IN
BRITAIN. Veterinary Record. (1978) 103 (6) 107-110.