



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN

**“MORTALIDAD EMBRIONARIA EN OVEJAS Y CABRAS;
PRINCIPALES CAUSAS, DIAGNOSTICO Y PREVENCION”**

(Revisión Bibliográfica).

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A

FEDERICO PEREZ VAZQUEZ

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEXICO 1986





Universidad Nacional
Autónoma de México



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 está 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

Resumen.

Mortalidad embrionaria en ovejas y cabras; principales causas, diagnóstico y prevención (Revisión bibliográfica). Se realizó un examen de la literatura publicada sobre el tema, comprendiendo los siguientes puntos: Mortalidad embrionaria basal. Factores ambientales que afectan la mortalidad embrionaria; efecto de la temperatura; efecto de la nutrición; efecto de la estación del año y época de espadre. Factores genéticos que afectan la mortalidad embrionaria; efecto de la tasa ovulatoria; efecto de la raza, selección y cruzamientos; efecto del padre; efecto de la edad de la madre; factores letales y anomalías cromosómicas. Efecto del estrés sobre la mortalidad embrionaria. Efecto de las pasturas estrogenicas sobre la mortalidad embrionaria. Causas infecciosas de mortalidad embrionaria. Efecto de la condición de los gametos sobre la mortalidad embrionaria. Consecuencias de la mortalidad embrionaria sobre la eficiencia reproductiva del rebaño. Diagnóstico y estimación de la muerte embrionaria. La mortalidad embrionaria y su relación con las técnicas para elevar la eficiencia reproductiva; inseminación artificial; sincronización estral e inducción del estro; superovulación; cultivo y transplante embrionario; conservación de embriones a bajas temperaturas y congelamiento de embriones; utilización de hormonas exógenas. Mortalidad embrionaria en híbridos interespecíficos. Profilaxis de la mortalidad embrionaria.

Indice.

| | Pag. |
|--|------|
| 1. Introducción. | 1 |
| 2. Mortalidad embrionaria basal. | 7 |
| 3. Factores ambientales que afectan la mortalidad embrionaria. | 12 |
| 3.1 Efecto de la temperatura. | 12 |
| 3.2 Efecto de la nutrición. | 22 |
| 3.3 Efecto de la estación del año y de la época de empadre. | 38 |
| 4. Factores genéticos que afectan la mortalidad embrionaria. | 40 |
| 4.1 Efecto de la tasa ovulatoria. | 40 |
| 4.2 Efecto de la raza, selección y cruzamientos. | 48 |
| 4.3 Efecto del padre. | 53 |
| 4.4 Efecto de la edad de la madre. | 55 |
| 4.5 Factores letales y anomalías cromosómicas. | 60 |
| 5. Efecto del estrés sobre la mortalidad embrionaria. | 62 |
| 6. Efecto de las pasturas estrogénicas sobre la mortalidad embrionaria. | 64 |
| 7. Causas infecciosas de mortalidad embrionaria. | 67 |
| 8. Efecto de la condición de los gametos sobre la mortalidad embrionaria. | 70 |

| | Pag. |
|---|------|
| 9. Consecuencias de la mortalidad embrionaria sobre la eficiencia reproductiva del rebaño. | 72 |
| 10. Diagnóstico y estimación de la muerte embrionaria. | 81 |
| 11. La mortalidad embrionaria y su relación con las técnicas usadas para elevar la eficiencia reproductiva. | 91 |
| 11.1 Inseminación artificial. | 91 |
| 11.2 Sincronización estral e inducción del estro. | 93 |
| 11.3 Superovulación. | 97 |
| 11.4 Cultivo y trasplante embrionario. | 99 |
| 11.5 Conservación de embriones a bajas temperaturas y congelamiento de embriones. | 107 |
| 11.6 Utilización de hormonas exógenas. | 109 |
| 12. Mortalidad embrionaria en híbridos interespecíficos. | 110 |
| 13. Profilaxis de la mortalidad embrionaria. | 111 |
| 14. Bibliografía. | 114 |

1. Introducción.

Dentro de las actividades productivas del hombre, la cría de los animales domésticos se ha encontrado siempre en los primeros planos como un astio factor de las necesidades primarias de la sociedad, ya sea como suministro de alimentos y vestido, ya como contribuyente importante en la economía de los países.

En el caso de nuestra nación, por las razones antes mencionadas, es de gran importancia incrementar la productividad en la cría animal, principalmente si se piensa en los beneficios que se pueden obtener en el renglón al mentario.

Varias son las especies animales que el hombre explota con el fin de oi tener alimentos y otros productos, entre ellas, hay dos de gran importancia y a las cuales está encaminado este trabajo: Ovinos y Caprinos.

- Ovinos: Esta especie doméstica es objeto de cría por la lana, carne y le-che que se obtienen de ella, y, en algunos casos, por la piel fina de los co-rderos de ciertas razas. En nuestro país, el ovino ha sido criado a lo lajgo de siglos, pero su producción ha ido decajendo desde principios del presente siglo a la fecha (Arbiza, 1978); esto es contradictorio si se ve que la República Mexicana, con grandes extensiones pastorales y con más de la mi tad del territorio árido y semiárido, ofrece un habitat totalmente favorable para la cría ovina y que, además, hay una demanda insatisfecha de los produgtos ovinos (Arbiza, 1984). Al año de 1981, la población ovina del país sumó 6,567,134 cabezas, y las entidades con mayor participación relativa (%) en cu-anto a población ovina fueron: México 11.15%; Zacatecos 10.54%; Hidalgo -- 9.09%; Oaxaca 7.29%; San Luis Potosí 6.47% y Puebla 6.41%, significando junt-os el 30.95% del total para el país (S.A.R.H., 1981).

- Caprinos: La cabra doméstica (Capra hircus), que comprende numerosas razas se cría por la carne, leche y piel que se obtienen de ella. Fuese a que ofre-ce ventajas similares a las de los ovinos, también su producción ha ido deca jendo en la últimas décadas (Arbiza, 1978). En el año de 1981, la población capri-na del país sumó 10,003,876 cabezas, y las entidades de mayor participa

ción relativa (%) en cuanto a población caprina fueron: Coahuila 9.81%; San Luis Potosí 9.62%; Oaxaca 9.40%; Zacatecas 8.70%; Puebla 6.62% y Tamaulipas 5.69%, significando juntos el 49.95% del total para el país (S.A.R.H., 1981).

Una de las formas en que se puede impulsar la cría de estas especies, es mediante la investigación de los factores que influyen sobre su productividad, con el fin de determinarlos y después, mediante su manejo, elevar la eficiencia productiva.

En los aspectos productivos de los animales domésticos y por tanto de los ovinos y los caprinos, la tasa de reproducción es, quizá, el aspecto más importante por dos razones:

- + Afecta el número de animales sobrantes, disponibles para la venta, después de que los reemplazos han sido seleccionados.
- + Una alta tasa de reproducción incrementa el diferencial de selección, el cual puede ser aplicado en seleccionar animales para el rebaño de cría (Dolling and Nicolson, 1967).

De esta manera, en la reproducción de los ovinos y los caprinos, deben tenerse en cuenta aspectos tales como:

- | | |
|--------------------------|------------------------|
| - Estacionalidad | - Prolificidad |
| - Pubertad | - Fertilidad |
| - Intervalo entre partos | - Mortalidad prenatal |
| - Fecundidad | - Mortalidad perinatal |

De los aspectos arriba mencionados, el presente trabajo se dirige a revisar los avances logrados en la investigación de la mortalidad embrionaria, que junto con la mortalidad fetal constituye la mortalidad prenatal (Edey, 1969; Hafez, 1984). Específicamente, se tratará de las principales causas de muerte embrionaria; algunos métodos para su estimación, y posibles formas de reducir la mortalidad embrionaria.

Desde que Hammond (1921), Corner (1923) y Crew (1925) citados por Edey (1965), dirigieron la atención a la posible pérdida de potencial reproductivo en los animales domésticos, causada por la falla del óvulo fertilizado para desarrollarse hasta la consecución del parto, los mayores progresos se han hecho en las últimas décadas. No obstante, aún se adolece de falta de información e investigación referente a la mortalidad embrionaria, sobre todo en la especie caprina. Dicha carencia, se hace aún más grande si nos circunscribimos a lo que se ha logrado en México.

Actualmente, la magnitud de la reducción en el potencial reproductivo -

que causa la mortalidad embrionaria en los ovinos, es reconocida por autores como Geisler, Newton and Mohan (1977) y Hind et. al. (1980), entre otros; - indicando aquellos, que la falla en la fertilización y la mortalidad embrionaria son las causas principales de pérdidas reproductivas en una explotación ovina típica.

La investigación en mortalidad prenatal y en especial en mortalidad embrionaria, ha acumulado alguna terminología un tanto confusa, por lo que se hace necesario definir someramente ciertos procesos y términos básicos en la construcción de los capítulos posteriores.

A. Ciclo estral.

En la oveja y en la cabra, la conducta de apareamiento femenino se limita al período estral próximo a la ovulación; cuando la hembra no se fecunda, el estro aparece a intervalos regulares que caracterizan al ciclo estral (Hafez, 1984).

El ciclo estral dura de 16 a 17 días en la oveja (Edey, 1967; Cole and Cupps, 1977; Sorensen, 1982; Hafez, 1984) y de 20 a 21 días en la cabra (Cole and Cupps, 1977; Hafez, 1984).

B. Gestación.

La gestación se define usualmente como el número de días o intervalo -- transcurrido entre el servicio fértil y el parto (Edey, 1969; Hafez, 1984). Tomando el día de aparición del estro como día cero, la ovulación y la fertilización usualmente tienen lugar en el día uno (Edey, 1979). La duración normal de la gestación en las dos especies es casi exactamente la misma, cerca de 149 días, con variaciones entre razas y entre individuos (Cole and Cupps 1977; Hafez, 1984).

La manera de subdividir la gestación, es, a menudo, fuente de confusión pero habitualmente se divide en tres periodos (Edey, 1969; Durán del campo, 1980; Sorensen, 1982; Hafez, 1984):

B.1 Período de huevo o cigoto.- Este período va desde la fecundación del óvulo, es decir, desde el día uno, hasta la primera fijación o adhesión laxa -- del blastocisto al endometrio (Edey, 1969; Hafez, 1984); otros autores (Durán del campo, 1980; Sorensen, 1982), fijan la terminación de este período - en el momento en que comienzan a notarse tejidos diferenciados, lo que en todo caso puede significar lo mismo, puesto que estos dos sucesos acontecen casi simultáneamente si se toma en cuenta que al día exacto en que tiene lugar

la primera fijación laxa o preimplante aún es motivo de discusión, ya que si se obtiene un rango de tiempo, tomando en cuenta la opinión de varios investigadores, se ve que este suceso ocurriría entre los días undécimo y decimo-séptimo de la gestación (Cole and Cupps, 1977; Chapman, 1980; Durán del campo, 1980; Hafez, 1984).

Durante este período, se desarrollan los siguientes acontecimientos: — Después de la fertilización, el cigoto comienza a dividirse mientras viaja a través del oviducto, entra al útero entre los días tercero y cuarto después de la ovulación, en una etapa de 16 a 32 células, es decir, en etapa de móru la aún contenida dentro de la zona pelúcida. Después de la fase de móru la, las células centrales de esta comienzan a separarse y forman una cavidad llena de fluido llamada blastocelo y las células que rodean la cavidad toman el nombre de trofoblasto, de esta manera, se constituye lo que en conjunto se conoce como blastocisto. Posteriormente, la etapa de blastocisto marca el primer signo manifiesto de diferenciación celular, con la formación de, al menos, dos tipos celulares; la capa externa de células o trofoblasto, de la que se formará el corion fetal y, en un polo del blastocisto, la congregación de un grupo de células llamadas disco embrionario o blastodermo, de la que se formará el embrión propiamente dicho. Antes de la implantación, los blastocistos se expanden hasta aumentar algunas veces su tamaño y también e-
lisionan o se denudan de la zona pelúcida. A partir del undécimo día de gestación los blastocistos son perceptibles a simple vista y aproximadamente — desde el duodécimo día, ocurre un rápido crecimiento de las membranas extra-embrionarias, hasta un promedio de unos cuatro centímetros en el día 13, y 10 centímetros en el día 14 (Cole and Cupps, 1977; Edey, 1979; Chapman, 1980).

B.2 Período de embrión. — El período de embrión se caracteriza por el cambio de las estructuras celulares, desde los tipos indiferenciados, hasta las células especializadas pertenecientes a tres capas celulares: ectodermo, mesodermo y endodermo. Tiene lugar un rápido crecimiento y los principales tejidos, órganos y sistemas se establecen. Para el día 20, el corion, alantoides y amnios, llenos de fluido, distienden el útero y un embrión de un centímetro, con un latido cardíaco visible, está presente. Alrededor del día 22, aparecen los cotiledones y gradualmente se fusionan con las carúnculas maternas para formar los placentomas.

El final de este período ocurre al día 34 para Hafez (1984); al día 40 para Chapman (1980) y entre los días 40 y 50 para Edey (1969).

B.3 Período de feto. — Este período se caracteriza por el crecimiento y cambios en la forma del feto. Su duración se extiende desde la conclusión del —

período anterior, hasta el momento del nacimiento (Edey, 1969).

C. Mortalidad embrionaria.

Junto con la muerte fetal, es una de las dos partes en que se ha dado en dividir a la mortalidad prenatal. Los investigadores estiman que entre un 20% y un 40% de los embriones ovinos se pierden a causa de muerte embrionaria (Durán del campo, 1980; Hafez, 1984).

A los efectos de esta tesis y conviniendo con la metodología de las investigaciones sobre mortalidad embrionaria, denominaremos embrión al huevo, mórula, blastocisto y embrión propiamente dicho. De la misma manera, el término muerte embrionaria, se tomará para definir las muertes de óvulos fertilizados y embriones hasta el final de la implantación (Edey, 1979).

Sobre la base de la edad del embrión al momento de su muerte y de la influencia que esta tiene sobre la duración del ciclo estral siguiente, la mortalidad embrionaria se ha subdividido en Mortalidad embrionaria temprana o precoz (MEP), y Mortalidad embrionaria tardía (MET) (Sawyer and Knight, 1976; Durán del campo, 1980); en donde la MEP, es el proceso derivado en muerte del embrión, sin modificación de la duración del ciclo estral siguiente, la segunda (MET), se define como la muerte del embrión, con extensión de dicho ciclo estral.

Edey (1979), hace una clasificación más de la mortalidad embrionaria, distinguiendo con el nombre de Mortalidad embrionaria basal, a aquella no asociada con factores identificados, y Mortalidad embrionaria inducida, a aquella relacionada con factores genéticos o ambientales manifiestos.

Causas de muerte embrionaria.

La muerte embrionaria puede ser inducida por factores de diversa índole los cuales se revisarán detalladamente en este trabajo. Mientras tanto, mencionando escuetamente algunos de los que se han estudiado, tenemos: Temperatura ambiental, también llamada stress térmico (Prasad and Bhattacharyya, 1979; Hafez, 1984).

Nutrición (Cumming, 1972; Blockey, Cumming and Exter, 1974; Gunn and Doney, 1975).

Edad de la ovejuna (Knight et. al., 1975; Restall et. al., 1976 b).

Consanguinidad (Hafez, 1984).

A aberraciones cromosómicas (Long and Williams, 1978).

La mortalidad embrionaria también se puede estudiar desde otro punto de

vista, que es aquella muerte embrionaria ocurrida en relación a factores ---
excepcionales como lo son algunas técnicas utilizadas para elevar la eficien
cia reproductiva de los animales, entre las que se cuentan: sincronización -
del estro, superovulación, trasplante embrionario y congelamiento de embri
nes.

2. Mortalidad embrionaria basal.

Cuando se evalúa la tasa de mortalidad embrionaria en un rebaño de ovejas bajo buenas condiciones de manejo, se asume que las pérdidas posteriores a la fertilización no están asociadas con ningún factor identificado que cause muerte embrionaria, sino que se deben a una falla intrínseca del desarrollo del cigoto en división o del embrión, o, alternativamente, a una falla del sistema útero-tubal materno para mantener el desarrollo embrionario. Esto es lo que puede definirse como mortalidad embrionaria basal o "normal". Por otro lado, bajo ciertas circunstancias, es posible detectar un incremento de la mortalidad embrionaria debido a alguna causa identificada (e.g. factores ambientales, factores genéticos), esto es lo que se llama mortalidad embrionaria inducida (Ealey, 1979), y es a lo que se encontrará la mayor parte de esta revisión en los capítulos siguientes.

En cuanto a la mortalidad embrionaria basal, varios investigadores han estimado la magnitud de las pérdidas embrionarias normales ocurridas en rebaños que presumiblemente no están sujetos a algún factor causal de muerte embrionaria, estas estimaciones aparecen en el cuadro 2.1. Donde los datos lo hacen posible, se indica brevemente la base de cada estimación, el tamaño de la muestra, la raza y la edad de las ovejas.

Quinlivan et. al. (1966 a), ha obtenido una de las estimaciones más completas disponibles sobre la distribución de pérdidas a través de la gestación. Trabajando con 993 ovejas Romney Marsh de 2 1/2 años de edad, sacrificó aproximadamente los mismos tamaños de muestra en los días 2, 18, 40 y 140 de gestación, permitiendo llegar al parto a una muestra adicional. De su estudio se desprende que el período de mayor mortalidad prenatal ocurre durante los primeros 30 días de preñez, hallazgo que ha sido ratificado por Wilkins et. al. (1962), en sus estimaciones usando aparatos de ultrasonido. Es claro que este período está comprendido dentro de la etapa embrionaria. También se observó que de dichas pérdidas en los primeros 30 días, el 50% ocurren en el período inmediatamente anterior a los 18 días de gestación, coincidiendo con lo reportado por Chapman (1980).

La magnitud de la mortalidad prenatal posterior al día 30, es considerada insignificante por Quinlivan et. al. (1966 a); Dolling and Nicolson (1967) y Chapman (1980), dando este último cifras de 1- a 5% de mortalidad fetal. -

Cuadro 2.1
Resumen de estimaciones de fertilidad ovárica en la oveja.

| Referencia | Tipo de estimación | Número de mortalidad | | Tamaño de la muestra | | Raza | Edad | Lugar | Observaciones |
|------------------------------|--|----------------------|-----------|----------------------|--------------|---------------|-------|--|---------------|
| | | embrionaria | postnatal | Ovejas | Óvulos | | | | |
| Lutt (1961) | Sacrificio al día 3 y registro de partos | 19.2 | 29 | 21 | Blackface x | 1 año | USA | M.F. = <u>Óvulos fert. = corderos nacidos</u> | |
| | | | | | | | | <u>Óvulos fertilizados</u> | |
| Manoin (1964) | Sacrificio al día 18 | 19.3 | --- | --- | --- | maduras | G.N. | ----- | |
| Kuey (1962) | Indirecta, óvulos liberados no representados por corderos nacidos. | 31.0 | 60 | 61 | Merino | maduras | Aust. | Conteo de G.L. por laparotomía, H.R. o falla en la fertilización por retornos a estró, registro de partos. | |
| Quinlivan et. al. (1966 a) | Sacrificio a los días 7, 18, 40 y 140, registro de partos | 21.0 | 456 | --- | Romney Marsh | 1.5 años | N.Z. | Ovejas de segunda parto | |
| | | 16.6 | 497 | --- | Romney Marsh | 2.5 años | N.Z. | Ovejas de primer parto | |
| Watson and Kadford (1966) | Sacrificio a los 18 días | 24.0 | 117 | 111 | Merino | 4 - 7 años | Aust. | Madres en otoño, Verano y Primavera | |
| Lutt, Falcon and Lane (1967) | Sacrificio al día 3 y registro de partos. | 4.6 | 30 | 40 | --- | --- | Brit | ----- | |
| Dolling and Nicolson (1967) | Retorno a servicio y sacrificio al día 18 | 4.7 - 5.7 | 181 | 191 | Merino | 1.5 años | Aust. | ----- | |
| | | 18.6 - 20.6 | 150 | 196 | Merino | 8.5-11.5 años | Aust. | ----- | |
| Futner and Erden (1967) | Sacrificio al día 7 y 18 | 20.0 | 100 | --- | Merino | 5 años | Aust. | Estimación de ovejas fertilizadas no gestantes al día 40 o 60 | |
| | Sacrificio al día 7 y 61 | 4.0 | 200 | --- | Merino | 5 años | Aust. | Conteo de cuerpos lúteos por laparotomía, retornos a estró. | |
| Treloar (1967) | Sacrificio al día 3 | 18.6 | 16 | 21 | Merino | 5 - 6 años | Aust. | ----- | |
| | Sacrificio al día 3 | 16.3 | 16 | 25 | Southdown | 5 - 6 años | Aust. | ----- | |
| Law and Erden (1967) | Sacrificio al día 7 | 25.0 - 25.0 | 91 | 197 | Merino | 5.5 años | Aust. | ----- | |
| Thwaites (1979) | Sacrificio al día 19 | 19.2 | 74 | 76 | Merino | 5 - 6 años | Aust. | ----- | |
| Conroy and Suleman (1970) | Sacrificio al día 19 | 17.0 | 61 | 77 | Romney | --- | N.Z. | ----- | |
| Kuey (1970 d) | Indirecta, óvulos liberados no representados por corderos nacidos. | 19.0 | 106 | --- | Merino | 4 - 7 años | Aust. | Procedió de tres u cuatro estimaciones | |

| Referencia | Tipo de estimación | % de mortalidad embrionaria | Tamaño de la muestra | | Haza | Edad | Lugar | Observaciones |
|---|--|--------------------------------|----------------------|---------|---|-------------------------|--------------------------|--|
| | | | Ovejas | Cuervos | | | | |
| Praden (1971) | Sacrificio en los días 1-17 (8-14) | 7.9 | 69 | 80 | Peppin Marino | 3 años | Aust. | |
| Cumming et. al. (1971) | Sacrificio alrededor del día 16 | 1.8 | --- | --- | Marino y Forder | --- | Aust. | |
| Thwaites (1971) | Estimación indirecta, óvulos no representados por corrientes | 11.84 | 16 | 7 | Marino | mediana | Aust. | Cuento de C.U. por laparoscopia N.E. a F.F. por retornos a corrientes de producción por laparotomías postnas |
| Knight et. al. (1975) | Estimación indirecta, óvulos que fueran retenidos pero no perdidos | 10.0 - 25.0 | 20,571 | --- | Marino | --- | Aust. | La delimitación incluye E.E. + F.F. de los datos indican que el mayor (corresponde a pérdidas por muerte E. |
| Mackenzie and Day (1975) | Indirecta, cuento de C.U. de de gestación al día del retorno a servicio y registro de partos | 30.8 35.0 | 18 | 19 | Marino | 1.5 años | Aust. | Ovejas de primer parto |
| Parshall, Leston and Lightfoot (1976) | Indirecta, Estimación de la tasa de fertilización y registro de partos | 27.0 30.0 | --- | --- | Marino | 2 F.5 años | Aust. | Ovejas adultas |
| Bestall et. al. (1976) | Indirecta, cuento de C.U. y laparotomía a los 60 días | 18.9 41.16 | --- | --- | Marino | --- | Aust. | Ovejas adultas |
| Phillippe and Hind (1977) | Indirecta por laparoscopia | 30.0 | 98 | --- | Grayfoss, Fife I Borast Havn | --- | O.E. | Subestimación de la mortalidad embrionaria. |
| Ward and Bryant (1979) | Sacrificio al día 1 y 2% | 41.0 30.0 | 59 | 14 | Cruick Cruick | 8 meses 6 meses | O.E. Año 1 O.E. Año 2 | |
| Kelly (1982) | Estimación indirecta. Laparoscopia, registro de retornos a servicio, registro de partos | 19.0 | 27,464 | --- | Honey, Coopworth Perendula, Enderby dale, Brydala | 4 dientes (1-4 años) | N.Z. | |

Sin embargo, no debe descartarse la posibilidad de la tasa de mortalidad fetal ocasionalmente sea más elevada como lo indica Wilkins et. al. (1987).

Mattner and Braden (1967), reportan otra estimación confiable, basada en el sacrificio de una muestra de ovejas al día dos (para estimar la tasa o vulvaria y el porcentaje de fertilización), seguido por el sacrificio de otras muestras de ovejas a los días 20, 30 y 60 de gestación. Observaron que el porcentaje de mortalidad embrionaria registrado a los 20 días (experimento 1), no se incrementó en las observaciones hechas a los 30 o 60 días (experimento 2). Los porcentajes de pérdidas embrionarias que ellos dan (20% y 4% en los experimentos 1 y 2 respectivamente), fueron obtenidas en base a ovejas fertilizadas no gestantes al día del sacrificio, no tomando en cuenta a ovejas que habían perdido uno de dos embriones; a causa de esto, se debe considerar que se trata de una subestimación, principalmente en el caso del experimento 2, en donde el porcentaje de cuerpos lúteos no representados por embriones, en ovejas con al menos un embrión, fué de 20%.

De la observación del cuadro 2.1, se hace evidente que las estimaciones varían ampliamente, no obstante, debe tomarse en cuenta que también es amplia la variedad de ambientes, métodos, tamaños de muestra y tipos de ovejas que es representada en estas estimaciones; puede notarse, sin embargo, que la mayoría de las estimaciones de pérdidas embrionarias caen en un rango de 20% a 30%, entre ellas, algunas que por basarse en sacrificio de ovejas en varios períodos, son bastante confiables (Quinlivan et. al., 1966 a; Dolling and Nicolson, 1967; Mattner and Braden, 1967) y otras que por el tamaño de la muestra también son valiosas (Knight et. al., 1975). Otra buena parte de las estimaciones cae cerca del rango mencionado y, ocasionalmente, algunos reportes, también confiables, caen por debajo de dicho nivel, indicando posiblemente que ciertos genotipos o sistemas de manejo producen menos pérdidas embrionarias.

Se conoce poco acerca de las razones por las cuales óvulos fertilizados normales en apariencia, se desarrollan durante un período y luego mueren. Bishop (1964), ha propuesto que gran parte de la mortalidad embrionaria basal es inevitable y que es un proceso natural para eliminar material genético inútil en cada generación. Por su parte, Eday (1969), sin quitar validez a lo anterior, indica que probablemente muchos de los factores identificados como causantes de muerte embrionaria, así como en algunas circunstancias ocasionan pérdidas identificables, pueden también contribuir en una forma individual, pequeña e indetectable en algunas muertes embrionarias "normales", men

ción, además, que adicionalmente hay un componente indefinido aún, que suele ser atribuido a aberraciones del ambiente uterino, también llamado "ambiente uterino hostil"

3. Factores ambientales que afectan la mortalidad embrionaria.

3.1 Efecto de la temperatura.

La temperatura es, quizá, uno de los factores ambientales que más se han estudiado tratando de dilucidar su influencia sobre la mortalidad embrionaria. Los estudios realizados al respecto pueden ser divididos en dos grandes rubros a saber:

- a) Efectos de las temperaturas ambientales elevadas sobre la mortalidad embrionaria.
- b) Efectos de las bajas temperaturas ambientales sobre la mortalidad embrionaria.

Dentro del primer inciso se encuentra agrupada la mayoría de los estudios realizados por los investigadores y, por esta razón, será la primera cuestión de que nos ocuparemos.

Numerosos trabajos realizados en cámaras ambientales o climáticas (Dutt Ellington and Carlton, 1959; Alliston and Ulberg, 1961; Dutt, 1963; Thwaites 1967; Shelton and Huston, 1968), han demostrado que ovejas expuestas a elevadas temperaturas ambientales en forma continua durante el inicio de la gestación, sufren una elevada mortalidad embrionaria.

Con el objeto de precisar el momento del ciclo estral en el que los efectos lesivos de la temperatura ambiental son ejercidos sobre la viabilidad del embrión, se han aplicado diversos tratamientos, que varían principalmente en la naturaleza y duración del aumento de la temperatura ambiental. De esta manera, vemos que Dutt, Ellington and Carlton (1959), han encontrado -- que la exposición de ovejas a elevadas temperaturas ambientales (32.2°C) unos cinco días antes del servicio, resultó en una disminución de la tasa de fertilización y en un incremento de la mortalidad embrionaria. Alliston and Ulberg (1961) llegaron a la misma conclusión a partir de los resultados obtenidos en un estudio basado en transferencia embrionaria, dicho estudio comprendió la exposición de ovejas donadoras a temperaturas de 32°C a partir de cinco días antes del estro hasta tres días después del servicio. Luego de la transferencia de embriones procedentes de estas ovejas a ovejas receptoras mantenidas a 21°C, la supervivencia observada llevó a inferir que la temperatura elevada había causado un daño irreversible al embrión en algún momento.

durante los primeros tres días de gestación, tal daño no fué aparente en el exámen microscópico realizado al momento de la transferencia; asimismo, independientemente de lo anterior, se observó que la tasa de fertilización en ovejas mantenidas a 32°C, fué menor que en ovejas mantenidas a 21°C. Siguiendo esta misma línea, y con el objeto de definir si el daño causado por las elevadas temperaturas ambientales se verificaba en el óvulo no fertilizado o en el embrión, Woody and Ulberg (1964) realizaron un estudio basado en transplante embrionario y mostraron evidencia de que los óvulos no fertilizados, procedentes de ovejas mantenidas a 32°C, fueron tan viables como aquellos originados en ovejas control mantenidas a 21°C. No obstante, cuando se transplantaron cigotos aún no divididos a ovejas mantenidas a 32°C, sus oportunidades de sobrevivir se redujeron considerablemente. Este hallazgo da lugar al siguiente grupo de estudios que consideraremos; aquellos en los que las ovejas son expuestas a elevadas temperaturas ambientales a partir del inicio del estro en adelante.

Woody et. al. (1962); Dutt (1963) y Thwaites (1967), demostraron que ovejas expuestas a altas temperaturas ambientales (32°-38°C) durante las primeras tres semanas de gestación, sufrieron un 100% de pérdidas, las cuales pueden atribuirse casi en su totalidad a la mortalidad embrionaria puesto que la tasa de fertilización no fué significativamente menor a la registrada en las ovejas control a 21°C, este coincide con los reportes de Vincent and Ulberg (1965) y Rich and Alliston (1970). En la misma serie de experimentos, Dutt (1963) demostró que la mortalidad embrionaria declina progresivamente desde el 100%, a medida que el intervalo entre el servicio y el inicio del tratamiento aumenta de cero a ocho días; además, Woody et. al. (1962) y Thwaites (1967; 1971) sugieren que en la oveja hay un período crítico después del servicio, durante el cual, si la oveja es sometida a altas temperaturas, la tasa de fertilización permanece normal, pero la supervivencia de los embriones se reduce considerablemente, y que la mayoría de las muertes ocurren en una etapa de la gestación suficientemente temprana para que las ovejas retornen a servicio después de un ciclo estral de duración normal.

El período crítico del que hemos hablado, ha sido circunscrito por algunos autores a los primeros tres días de gestación (Alliston and Ulberg, 1961; Woody et. al., 1962; Dutt, 1963; Woody and Ulberg, 1964; Ulberg and Burfening, 1967), etapa en la que se llevan a cabo las primeras divisiones del cigoto y este se encuentra en el oviducto (Edey, 1979; Chapman, 1980). Dentro de este período, vemos que para que las temperaturas ambientales elevadas tengan su mayor efecto perjudicial sobre la viabilidad del embrión, parece

ser una condición importante el que actúen sobre la oveja desde el primer día de gestación (Thwaites, 1971), incluso por períodos de cuatro horas, como lo sugieren los experimentos de Rich and Alliston (1970); sin embargo, no se debe perder de vista que aún después de que el embrión alcanza el útero, la temperatura ambiental pueda ejercer algún efecto perjudicial sobre su supervivencia (Alliston and Ulberg, 1961).

Los resultados y conclusiones hasta ahora expuestas, han sido obtenidos en base a experimentos realizados en cámaras climáticas. Sin embargo, a nivel de estudios de campo, generalmente no se encuentran tasas de mortalidad embrionaria tan elevadas en ovejas nómadas bajo condiciones ambientales ca-
lurosas (Smith, 1964; Smith et. al., 1966 citadas por Thwaites, 1969; Shel-
ton, 1964), o incluso se encuentran resultados negativos, como en el estudio de Entwistle (1972) que excluyó a la mortalidad embrionaria inducida por el calor ambiental como fuente importante de pérdidas embrionarias. Por otro lado, Lindsay et. al. (1975), en un estudio de campo que involucró a 29,500 ovejas, observó un efecto adverso de las elevadas temperaturas ambientales (32°-35°C) sobre la tasa de partos, y se encontró evidencia de que las altas temperaturas registradas cerca del período de servicio tuvieron su principal asociación con la mortalidad embrionaria.

La diferencia observada entre los hallazgos obtenidos en estudios reali-
zados a nivel de campo y estudios a nivel de cámara ambiental, se debe a que
estos dos tipos de estudio se diferencian en tres aspectos principales (-
Thwaites, 1969) a saber:

I) La época del año en la cual son hechas las observaciones.- En un intento por obtener la máxima fertilidad y fecundidad en un número limitado de ova-
jas experimentales, los estudios de cámara climática como los de Alliston -
and Ulberg (1961); Dutt (1963) y Thwaites (1967), han sido realizados duran-
te el "pico" de la temporada anual de estro, es decir el otoño y primera par-
te del invierno, por el otro lado, las observaciones de campo tienen necesari-
amente que haber estado confinadas al período más caluroso del año: el ve-
rano. El efecto que esta variable pueda tener sobre los resultados obtenidos
será tratado en el apartado correspondiente de este trabajo (3.3).

II) El grado de aclimatación al calor experimentado por las ovejas antes del
servicio.- En los estudios citados, las ovejas experimentales estuvieron re-
lativamente inadaptadas a las temperaturas elevadas. Parece razonable supo-
ner que la adaptación al calor, como ocurriría en ovejas bajo condiciones de
campo en el verano, mitigaría los efectos de la elevada temperatura sobre la
viabilidad embrionaria.

III) Cada uno de los experimentos citados, donde se expusieron ovejas a altas temperaturas y se demostró un aumento en la mortalidad embrionaria, difieren, tanto en la naturaleza como en la duración, de las condiciones que ocurren a nivel de campo. En primer término, los estudios citados usaron períodos de elevación de la temperatura de más de siete días de calor continuo lo que es una condición demasiado extrema para ser lo que ocurre a nivel de campo por dos razones. Primera: a nivel natural, las elevadas temperaturas ambientales pueden tener variaciones a lo largo del día y, principalmente, durante la noche. Segunda: los períodos de severas elevaciones en la temperatura ambiental generalmente ocurren como ondas calidas relativamente cortas (Thwaites, 1971).

Thwaites (1969), realizó un estudio cuyo objetivo era examinar la posibilidad de que la presencia de noches relativamente frescas, entre días calurosos, pudiera ser un factor que influyera sobre las tasas de mortalidad embrionaria en ovejas apareadas bajo condiciones calurosas en el campo. De esta forma, se sometieron ovejas servidas, a partir del mismo día del servicio a tres condiciones distintas:

- a) 40.6°C y 40% de humedad, las 24 horas del día por 15 días continuos.
- b) 40.6°C y 40% de humedad durante ocho horas y 35°C y 40% de humedad durante las 16 horas restantes. Todo esto durante 15 días.
- c) Ovejas controles a temperatura ambiental mínima de 9°C y máxima de 16°C.

Las tasas de mortalidad embrionaria obtenidas fueron como sigue: a) 83%
b) 35%; c) 19%.

Estos resultados muestran los efectos atenuantes que tiene el período de suspensión en la elevación de la temperatura e indican que posiblemente -- este sea el principal factor -- y no la aclimatación -- a ser considerado -- cuando se comparan los efectos de la temperatura sobre la mortalidad embrionaria a nivel de cámara climática y a nivel de campo. También se infiere que a nivel de campo, la mortalidad embrionaria inducida por calor puede ocurrir en un número apreciable de ovejas sólo bajo severas ondas calidas.

Posteriormente, el mismo Thwaites (1971), condujo un experimento para obtener información concerniente a los efectos sobre la mortalidad embrionaria de las elevaciones en la temperatura por períodos cortos -- tres días -- aplicados en diferentes momentos de la primera semana de gestación. Con este propósito, ovejas montadas fueron sometidas a temperaturas de 40.6°C y 30% de humedad durante los períodos que se muestran a continuación con su respectiva tasa de mortalidad embrionaria registrada:

| Duración del tratamiento | Mortalidad embrionaria |
|--------------------------|------------------------|
| 1° al 4° día | 54.5% |
| 2° al 5° día | 20.0% |
| 3° al 6° día | 36.4% |
| 4° al 7° día | 36.4% |
| 1° al 7° día | 83.3% |

Ovejas control a temperaturas de 11°C a 21°C

| | |
|--------------|-------|
| 1° al 4° día | 9.1% |
| 1° al 7° día | 18.2% |

Las diferencias en mortalidad embrionaria con respecto a los grupos control sólo alcanzaron significancia estadística cuando la exposición a la temperatura elevada duró del 1° al 7° día o del 1° al 4° día. Así, estos resultados indican que las ondas cálidas de corta duración -- tres días ± -- probablemente incrementan las tasas de mortalidad embrionaria sólo en ovejas que han ovulado recientemente, y, junto con la probabilidad de que las variaciones de la temperatura en el transcurso del día redujeran la incidencia de esta mortalidad, podrían conducirnos a concluir que la mortalidad embrionaria inducida por altas temperaturas ambientales sólo es una fuente importante de pérdidas reproductivas en zonas donde se alcance una severidad semejante a la que se ha mostrado experimentalmente.

En algunos estudios sobre mortalidad embrionaria inducida por calor, se ha examinado complementariamente la posibilidad de que los resultados varíen dependiendo de si las ovejas están o no esquiladas. Así, vemos que Dutt, -- Ellington and Carlton (1959) encontraron resultados contradictorios, pues si bien el exponer ovejas de estas dos condiciones a 32.2°C desde cinco días antes del servicio llevó a un 100% de mortalidad embrionaria en ovejas no esquiladas y a un 85% en las esquiladas, cuando la misma temperatura se aplicó a ovejas semejantes ocho días después del servicio, se observó que la mortalidad embrionaria era de 38% y 0.0% para ovejas esquiladas y no esquiladas respectivamente. En otro estudio de esta misma clase Thwaites (1969), sometió ovejas esquiladas y no esquiladas a temperaturas de 36°C y 63% de humedad durante 15 días seguidos después del servicio y observó que las ovejas esquiladas tuvieron más embriones viables a los 15 días que las no esquiladas. La diferencia, que fue significativa, se atribuyó al hecho de que las

ovejas esquiladas tuvieron temperaturas rectales más bajas que las ovejas no esquiladas. No obstante, estos resultados se obtuvieron en cámara climática y debe anticiparse que en condiciones de campo las ovejas no esquiladas estarían en ventaja a causa de la protección proporcionada por la presencia del vellón contra el calor radiante i.e. los rayos solares.

Parece no haber estudios en los que se comparen varios porcentajes de humedad a una misma temperatura ambiental para investigar que papel juega la humedad cuando se induce la muerte embrionaria por altas temperaturas. No obstante, parece ser que la humedad puede tener efecto sinérgico con las altas temperaturas para inducir muerte embrionaria, en vista de que Hutchinson and Wodzicka-Tomaszewska (1961) han reportado que, en las ovejas, la tolerancia al calor disminuye cuando la humedad ambiental se incrementa.

Respecto a diferencias raciales o de edad en la susceptibilidad a sufrir muerte embrionaria por altas temperaturas ambientales, tenemos que Hutchinson and Wodzicka-Tomaszewska (1961) reportan diferencias raciales en la tolerancia al calor y mencionan que las ovejas adultas toleran mejor el calor que las jóvenes; por su parte Thwaites (1967), sugiere que las diferencias raciales en mortalidad embrionaria inducida por calor, son principalmente una consecuencia de las diferencias raciales en la tolerancia al calor, sin embargo, su estudio no pudo proveer de alguna información al respecto.

En lo que corresponde a los efectos de las bajas temperaturas ambientales sobre la mortalidad embrionaria vemos que Theriez, Molerat and Aguer (1972), han propuesto que el enfriamiento severo puede causar muerte del embrión. En uno de los pocos estudios que prueban esta posibilidad, Griffiths, Gunn and Doney (1970) diseñaron un experimento con el fin de investigar la aparente asociación entre el número de días lluviosos durante la temporada de empadre y la fertilidad de la oveja. Este consistió en un grupo de ovejas sin resguardo del medio ambiente, a las cuales se mojó durante seis horas diarias a partir de 17 días antes del servicio y hasta los 25 días después de este; el otro grupo se constituyó de ovejas control a resguardo del medio ambiente. Se observó que la tasa ovulatoria fué disminuida significativamente por el tratamiento, pero no se observó diferencia entre los dos grupos en lo que se refiere a retornos a servicio a los 25 días, momento en que las ovejas fueron sacrificadas. Pese a esto, hubo alguna diferencia en mortalidad embrionaria parcial, la mayor parte de la cual ocurrió a los 14 o 15 días, no obstante, el número de ovejas fué demasiado pequeño para ser concluyente. De esta forma parece haber cierta superioridad en la supervivencia embriona-

ria de las ovejas mantenidas a resguardo del medio sobre las no resguardadas.

En las cabras, la información sobre las relaciones de la temperatura ambiental y la mortalidad embrionaria es realmente escasa.

Prasad, Joshi and Bhattacharyya (1979), trabajando con cabras salvajes en el Norte de la India, donde el perfil temperatura-humedad es muy elevado, diseñaron un experimento utilizando una cámara climática para proveer a las cabras experimentales de una temperatura constante moderada y baja humedad, mientras que a las controles se les dejó expuestas al clima estival, donde la característica usual es la variación diaria de la temperatura. La tasa de mortalidad embrionaria fué de 42% para las cabras experimentales y de 37% para las controles, esta diferencia no fué significativa. Los resultados pueden explicarse de varias maneras; como se ha visto en la oveja, la variación diaria de la temperatura probablemente influya para que las elevaciones de la temperatura sean mejor toleradas que si el calor fuera constante. Debe esperarse asimismo que las cabras estén bien adaptadas al complejo temperatura-humedad, por lo que la temperatura crítica de su zona de neutralidad térmica es más elevada que la alcanzada por el medio y por lo tanto no fué sobrepasada.

Es evidente que es necesaria más investigación en esta especie para llegar, al menos, al nivel de conocimiento alcanzado en el ganado ovino.

En varios trabajos se ha tratado de determinar cuál es el mecanismo por el que las altas temperaturas ambientales causan la muerte del embrión. Como se vió anteriormente, el embrión ovino durante los primeros tres días parece ser más vulnerable a los efectos de las elevaciones en la temperatura. Los investigadores han propuesto diversos mecanismos, que involucran unos a la madre y otros al embrión. Es de esta manera que Alliston and Ulberg (1961) proponen la posibilidad de que el aumento en la temperatura ambiental haga que se incremente la velocidad a la que el embrión atraviesa el oviducto, provocando una asincronía, al llegar al útero, entre el desarrollo del embrión y el desarrollo endometrial, lo que resultaría en mortalidad embrionaria por inmadurez del embrión al alcanzar el útero (Anderson, 1977). Este argumento se apoyaría en el hecho de que se ha visto demostrada la necesidad de sincronizar el estro de donadora y receptora al realizar transferencias embrionarias (Anderson, 1977; Moore, 1980), sin embargo Dutt (1963), en un estudio similar, aunque observó este fenómeno, estadísticamente no fué significativo; el mismo autor, a su vez, propone tres mecanismos por los que se -

da la mortalidad embrionaria inducida por el calor:

I) Efecto directo de la elevación en la temperatura corporal, lo que en realidad no sugiere un mecanismo específico.

II) Efectos bioquímicos tales como un cambio en la actividad enzimática o en la función metabólica. Esta ha sido una opción apoyada por Thwaites (1970, 1971), quien propone que los mecanismos causales de la muerte embrionaria en estos casos, deben buscarse en los cambios en el ambiente del oviducto e, incluso, del útero, menciona, por ejemplo, cambios en la composición de los fluidos lumbinales.

III) Disturbios en el balance endógeno, mencionando que, en caso de existir desbalance hipófisis-ovario, no es lo suficientemente grande para interferir con el estro o con el ritmo normal del ciclo estral. Respecto a esto, Thwaites (1970) examinó el posible papel de desbalances hormonales que involucrarán al cuerpo lúteo, tiroidea y corteza adrenal. Observó que la elevación de la temperatura ambiental durante el inicio de la gestación no afectó significativamente la histología, tamaño o peso del cuerpo lúteo, lo que indicaría que este no puede ser implicado en la muerte embrionaria observada en estos casos. También observó que el calor ambiental causó una disminución en la altura de las células epiteliales de la tiroidea y posiblemente de la tasa de secreción de tiroxina; pese a esto, la terapia basada en tiroxina no tuvo efecto sobre el porcentaje de mortalidad embrionaria, ni en ovejas tratadas ni en las control, al contrario de los resultados obtenidos por Hyle (1961) citado por Edey (1969), quien reportó un efecto benéfico de la terapia con tiroxina sobre la supervivencia embrionaria, tanto en ovejas expuestas a temperaturas ambientales altas como en ovejas control.

Cuando en el experimento de Thwaites (1970) se midieron los niveles de cortisol sanguíneo, no se detectaron elevaciones en su secreción por ovejas sometidas al calor ambiental. Asimismo, se administró cortisol a ovejas control y esto, aunque no aumentó la mortalidad embrionaria, sí deprimió la tasa de crecimiento embrionario. En consideración a estas evidencias, se concluyó que es improbable que la elevación de la temperatura ambiental cause una excesiva secreción de cortisol en la oveja y que, dentro de rangos fisiológicos, los niveles elevados de cortisol plasmático no es probable que afecten marcadamente la supervivencia embrionaria.

De cualquier manera, de los experimentos de Woody and Ulberg (1964) parece confirmarse la idea de que las ovejas mantenidas a elevadas temperaturas experimentan una disminución en su capacidad para mantener el desarrollo embrionario.

Por la otra parte, de los trabajos ya descritos de Alliston and Ulberg (1961) y Vincent and Ulberg (1965), se extrae la evidencia de que la temperatura elevada también causa daño irreversible al embrión, impidiendo su desarrollo, aún en un medio materno que se conoce es apropiado para mantener el desarrollo. Respecto a este daño, Dutt (1963) reporta que se detectó un 38.5 % de cigotos morfológicamente anormales cuando se examinaron a los tres días después del servicio los cigotos procedentes de ovejas expuestas a temperatura elevada a partir del 0 o 1. Esto coincide con lo reportado por Rich and Alliston (1970) en cuyo trabajo, sin embargo, el hecho no alcanzó significancia estadística. Por lo demás, no parece ser una condición necesaria el que los embriones presenten anomalías identificables microscópicamente para que su viabilidad sea menor; de esta forma, Alliston and Ulberg (1961) no pudieron identificar anomalías morfológicas en embriones procedentes de ovejas sujetas a un tratamiento térmico similar a los anteriores, y sin embargo, estos embriones no pudieron desarrollarse en ovejas receptoras que se encontraban en condiciones climáticas confortables. Esto puede explicarse sobre la base de que Hafez (1964) indica que, aparentemente, el tratamiento térmico causa alteraciones en los mecanismos reguladores metabólicos sobre la síntesis de RNA, fenómeno que no puede observarse microscópicamente.

Corolario:

- Las elevadas temperaturas ambientales tienen un efecto perjudicial sobre la viabilidad embrionaria. Este efecto se ha visto que es más marcado durante los primeros tres días de gestación.
 - Para investigar dicho efecto perjudicial se han usado cámaras climáticas - pero se ha visto que las condiciones logradas son más severas que las alcanzadas a nivel de campo, siendo las principales diferencias:
 - * Época del año en que se hacen las observaciones.
 - * Grado de aclimatación al calor.
 - * La elevación de la temperatura en cámaras climáticas ha sido continua - por varios días, lo que puede no suceder a nivel natural.
 - * Generalmente en los experimentos de cámara climática no se han considerado las variaciones de la temperatura a lo largo del día.
- A causa de estas diferencias, las tasas de mortalidad embrionaria observadas naturalmente y experimentalmente, generalmente no son semejantes.
- La humedad elevada disminuye la tolerancia al calor y quizá conyuye a au-

- mentar la tasa de mortalidad embrionaria debida a esta causa.
- El mecanismo de la muerte embrionaria debida a elevadas temperaturas ambientales, quizá involucre el daño a la oveja, al embrión o a ambos, aunque este daño no sea morfológicamente apreciable.
 - Las bajas temperaturas ambientales parecen ejercer poco efecto perjudicial sobre la viabilidad del embrión.

3.2 Efecto de la nutrición.

El estudio de las relaciones existentes entre la nutrición de la oveja y la mortalidad embrionaria ha sido un tema abordado por un amplio número de investigadores, debido a la complejidad de estas relaciones y al gran número de variantes a examinar, se hace necesario en esta revisión, tal como se ha hecho en los trabajos experimentales, dividir los aspectos nutricionales que afectan la tasa de mortalidad embrionaria tratando, primero, de aislar cada aspecto para determinar su posible contribución, y luego, dar una visión de algunas interacciones observadas entre estos aspectos.

A este efecto, la influencia de la nutrición sobre la mortalidad embrionaria puede dividirse, para su estudio, en cuatro grandes grupos a saber:

- I) Efecto del plan de nutrición sobre la mortalidad embrionaria.
- II) Efecto del peso corporal y/o la condición corporal sobre la mortalidad embrionaria.
- III) Algunas interacciones observadas entre el plan de nutrición y el peso o condición corporal.
- IV) Efecto de los factores nutricionales específicos sobre la mortalidad embrionaria.

I) Con el término "plan de nutrición" se designará el manejo que los investigadores hacen de la ración de mantenimiento calculada para la oveja. Es de decir, independientemente de los alimentos utilizados para componer la ración (que varían de región a región), los investigadores que se citarán, se han preocupado principalmente de dos cosas:

(i) Que la ración que se diere a las ovejas, representara un cierto porcentaje (e.g. 100%, 50%, 200%) de la ración recomendada para satisfacer las necesidades de mantenimiento. En la mayor parte de los casos, sin embargo, no se menciona la fuente de las recomendaciones nutricionales.

(ii) Período en el cual se suministraría la ración (e.g. antes del servicio; después del servicio) y el número de días que se prolongaría este tipo de ración.

Manejando estas dos variables (i,ii), se tienen varias situaciones nu--

tricionales que pueden influir sobre la mortalidad embrionaria.

- | | |
|---|-----------------------|
| A. Plan de nutrición antes del servicio | 1. Sobrealimentación. |
| | 2. Subalimentación. |
| B. Plan de nutrición después del servicio | 1. Sobrealimentación. |
| | 2. Subalimentación. |

A. En este apartado consideraremos los tratamientos nutricionales que se han aplicado por períodos de unas pocas semanas previas al servicio con el fin de obtener cambios rápidos en el estado nutricional de la oveja y, así, examinar su efecto sobre la viabilidad embrionaria.

1. El-Sheikh et. al. (1955) citado por Edey (1969), encontró que el haber sobrealimentado ovejas (mediante el suplemento de granos a la ración de heno) en el período previo al servicio, ocasionó un incremento en la tasa ovulatoria y un aumento significativo en la mortalidad embrionaria. Foote et. al. (1959) citado por Edey (1969), llegó al mismo resultado, aunque sólo en uno de los tres años que abarcó el estudio. Posteriormente Hexey et. al. (1960), adicionando un suplemento alto en proteína a la ración de heno durante las dos semanas previas al servicio, observó que las ovejas bajo este tratamiento tuvieron una tasa ovulatoria mayor (1.3 vs 1.1) y ligeramente más muertas embrionarias (12.5% vs 7.6%) que las ovejas alimentadas sólo con heno.

Estas evidencias nos conducen a concluir que un alto nivel de alimentación antes del servicio incrementa la tasa ovulatoria --también reportado-- por Gunn, Doney and Russel (1969); Mackenzie and Edey (1975 b) y Cockrem (1979)--; asimismo, como han ratificado Rhind, Gunn and Doney (1983), observamos que también la mortalidad embrionaria se ve incrementada, con tendencia a aumentar a medida que la fecha de inicio de la sobrealimentación se acerca a la fecha del servicio (Gunn, Doney and Smith, 1984). Edey (1969) sugiere, además, que en estas situaciones la tasa ovulatoria y la mortalidad embrionaria se encuentran asociadas, lo que en cierto modo explicaría la mayor mortalidad embrionaria observada en las gestaciones múltiples en estos casos (Gunn, Doney and Smith, 1979 b).

2. En lo que toca a la subalimentación antes del servicio, Cumming (1972 a) citado por Edey (1979) y Gunn, Doney and Smith (1979 a), encontraron que la subnutrición durante pocas semanas previas al servicio tuvo poco efecto perjudicial sobre la supervivencia embrionaria; por su parte Mackenzie and Edey (1975 a, b), han demostrado que la subnutrición aguda e incluso el ayuno total por una semana antes del servicio, no tuvieron efecto perjudicial aparen

te sobre la supervivencia embrionaria. Debe notarse, no obstante, que tales tratamientos fueron aplicados a ovejas en buena condición corporal.

Por el contrario, Cumming (1972) encontró evidencia de que ovejas que se encontraban perdiendo peso desde unas dos semanas antes del servicio, mostraron una mortalidad embrionaria significativamente más alta que la observada en las ovejas que se encontraban ganando peso en la misma etapa. Este efecto fué atribuido a una mayor pérdida embrionaria en las gestaciones múltiples.

B. Los efectos que sobre la mortalidad embrionaria puedan tener los planes nutricionales posteriores al servicio, presentan mayores complicaciones en su interpretación ya que, como hemos visto, el plan nutricional antes del servicio causa cambios en la tasa ovulatoria, la que, a su vez, parece asociarse a la tasa de mortalidad embrionaria; asimismo la diferencia en condición corporal o peso corporal al momento de iniciar el tratamiento (después del servicio) son variables que hacen complicada y no siempre válida la comparación entre trabajos.

1. Un alto nivel de alimentación, basado en el suplemento de grano a la ración durante la etapa posterior al servicio, disminuyó la supervivencia embrionaria en los experimentos de El-Sheikh et. al. (1955) y Foote et. al. (1959) citados por Tassell (1967), aunque estos resultados fueron inconsistentes de un año a otro. Por su parte, Cumming et. al. (1975) realizó un experimento con ovejas Merino y Merino X Border Leicester, a las cuales se les alimentó bajo tres regímenes -- 200%, 100% y 25% de la ración de mantenimiento -- desde el día 2 al 16 después de la monta. Observó que las pérdidas embrionarias fueron significativamente más altas en el grupo alimentado al 200% de la ración de mantenimiento, cuando se comparó con la mortalidad embrionaria ocurrida en el grupo control al 100% de mantenimiento. Contrariamente a estos hallazgos, Hoxsey (1960) no observó diferencia significativa en la mortalidad embrionaria ocurrida en ovejas suplementadas con un concentrado rico en proteína y ovejas control no suplementadas, incluso notando -- que en las primeras hubo más partos gemelares; Hulet, Price and Foote (1966) tampoco encontraron diferencia en la mortalidad ocurrida en ovejas alimentadas al 100% y 150% de la ración, durante el período posterior al servicio, sin embargo, ellos hacen notar que su ración consistió de alfalfa pelletizada sin incluir grano, como en los experimentos de El-Sheikh et. al. (1955) y Foote et. al. (1959), y que no se conoce si hay algún factor en el grano que sea perjudicial para la supervivencia embrionaria.

Por lo demás, se ha observado que hay cierta variación racial en la respuesta a los mismos tratamientos; así, vemos que Bellows et. al. (1963) citados por Edey (1969), encontraron que el suplementar grano a la alimentación, después del servicio, disminuyó la supervivencia embrionaria en ovejas Hampshire pero no en las Columbia. De la misma forma, Cumming et. al. (1975), notó que el dar un 200 % de la ración de mantenimiento al principio de la gestación, incrementó la mortalidad embrionaria en ovejas Merino y Merino X Border Leicester, pero sólo en las primaras el incremento fué estadísticamente significativo.

2. El estudio de la mortalidad prenatal inducida por subalimentación después del servicio, abarca experimentos en los que se ha aplicado restricción nutricional a ovejas en diferentes períodos de la gestación. En esta revisión, sólo se tomarán en cuenta aquellos tratamientos aplicados en los períodos tempranos de la gestación, que, por ende, hayan podido influir sobre la mortalidad embrionaria.

En general, no hay uniformidad en los resultados obtenidos por distintos investigadores. De esta forma, Bulat, Price and Foote (1968), reportan un experimento en el que se comparan dos niveles de nutrición -- 75% y 100% de la ración de mantenimiento --, durante los primeros 9-11 días y de los 9-11 días a los 23-30 días de gestación. Ellos concluyen que el dar 75% de la ración, no tuvo efecto sobre el peso corporal y no parece tener efecto sobre la supervivencia embrionaria. Coop and Clark (1969), reportan un estudio a gran escala que involucró 3,500 ovejas, y donde se examinaron las consecuencias sobre la supervivencia embrionaria de restringir la alimentación al 50% de la ración de mantenimiento, durante un mínimo de cinco semanas, comenzando en dos etapas de la gestación (2-3 semanas y 5-7 semanas). A pesar del gran número de animales, la mortalidad embrionaria en los grupos experimentales no difirió significativamente de la ocurrida en las ovejas control. En el grupo experimental cuya restricción comenzó entre la 5^a y 7^a semana, tal resultado no es sorprendente en vista de que Wallace (1948) citado por Edey (1969), tampoco encontró aumento en la mortalidad embrionaria en ovejas cuya restricción nutricional comenzó al día 28 de gestación.

De los anteriores reportes, parece deducirse que ciertos niveles de restricción (75%), o niveles más bajos, aplicados después de la tercera semana, no causan incremento en la mortalidad embrionaria. Esto da curso a la revisión de una serie de experimentos en los que la severidad de la restricción nutricional fué mayor, y que se iniciaron en etapas tempranas de la gesta---

ción.

Cumming et. al. (1975), en un estudio con 1000 ovejas de raza Merino y Merino X Boorader Leicester, comparó niveles nutricionales de 100% y 75% de la ración de mantenimiento durante las primeras dos semanas de gestación, y reporta que la mortalidad embrionaria fué mayor en el grupo subalimentado, aunque la diferencia no alcanzó significancia estadística.

Anteriormente, Edey (1965, 1966), trabajando con ovejas Merino adultas en buena condición corporal, disminuyó la supervivencia embrionaria por medio de una severa restricción del consumo de alimento (15% de la ración de mantenimiento) durante la primera, segunda o tercera semana post-coito. el diseño experimental se esquematiza a continuación.

Cuadro 3.2.1

| Grupo | Tratamiento | % de óvulos no representados por cordones |
|-----------|--------------------------------|---|
| 1 | Restricción del día 0 al 7° | 40.9 |
| 3 | Restricción del día 6° al 13° | 48.8 |
| 4 | Restricción del día 13° al 20° | 51.2 |
| Sub-total | | 46.9 |
| 2 | Control | 27.9 |
| 5 | Control | 34.1 |
| Sub-total | | 31.0 |

No hubo diferencias significativas entre grupos experimentales y control cuando se compararon individualmente, pero cuando se combinaron los resultados de los grupos 1, 3 y 4, se vió que tuvieron una mortalidad embrionaria significativamente mayor a la ocurrida en los grupos control combinados, notándose una tendencia de la restricción nutricional a ser más perjudicial en la segunda y tercera semana de gestación. Experimentos subsiguientes del mismo autor (Edey, 1970 a, b, c), continuaron la línea de investigación del anterior trabajo, los diseños experimentales y los resultados obtenidos pueden resumirse como sigue.

Cuadro 3.2.2

| Año | Tratamiento | % de óvulos no representados por corderos |
|--------|---|--|
| 1970 a | 15% de la ración de mantenimiento del día 8 al 15 de gestación | 58.1 |
| - | Control | 62.5 |
| 1970 b | 15% de la ración de mantenimiento del día 7 al 14 | 30.6 |
| - | del día 20 al 27 | 37.5 |
| - | Control | 41.0 |
| 1970 c | 50% de la ración de mantenimiento del día 7 al 37 | 34.7 |
| - | Control | 42.6 |

Analizando en conjunto los reportes de Eley (1965, 1966) y Edey (1970 a, b, c), Edey (1970 d) concluye que en 1965 y 1966, el tratamiento de restricción se asoció claramente con un aumento en la mortalidad embrionaria, y que en los otros años, la tendencia fué inversa, aunque en 1970 c, al analizar los ciclos de las ovejas que retornaron a servicio, se vió que un número mayor de ovejas en el grupo subalimentado tuvo ciclos más largos de 21 días, lo que indica que alguna mortalidad embrionaria pudo ser inducida hacia el final del tratamiento, esto coincide con lo reportado por Mackenzie and Edey (1975 a), que aplicaron un tratamiento de restricción nutricional del orden de 30% de la dieta de mantenimiento a ovejas Merino, durante las primeras dos semanas de gestación, observando mayor mortalidad embrionaria en el grupo subalimentado que en el grupo control, aunque sin alcanzar significancia estadística.

De estos trabajos, podemos concluir que en algunas circunstancias, la alimentación por abajo del nivel de mantenimiento durante el inicio de la gestación, pueda ser perjudicial para la supervivencia embrionaria.

El efecto que puedan tener los períodos de ayuno durante la gestación temprana aún no han sido determinados con exactitud, así, vemos que Van Niekerk, Belonje and Hunter (1968) citados por Blockey, Cumming and Baxter (1974), realizaron un experimento a pequeña escala, en donde sometieron grupos de cinco ovejas a períodos de ayuno de dos a cuatro días durante las pri

meras dos semanas de gestación. Ellos observaron que de un 50% a un 100% de los embriones recuperados al día 16 post-coito, se encontraban degenerando. Sin embargo, en un experimento similar (Blockey, Cumming and Exter, 1974), en donde los ayunos fueron de tres días, comenzando en los días 1, 5, 8, 10 o 12 de gestación, se observó que hubo un aumento en la mortalidad embrionaria (24% para ovejas en ayuno vs 13% para ovejas control) en las gestaciones sencillas (un embrión) cuando el período de ayuno se localizaba en los primeros diez días de gestación. No obstante, cuando se examinó el efecto del ayuno sobre las gestaciones dobles, la situación fué inversa.

En cuanto a la influencia que puede tener la subnutrición post-coito en ovejas de diferente edad, vemos que Bennett et. al. (1964) citado por Edey (1969), reporta una baja significativa en el porcentaje de partos después de aplicar un tratamiento de severa subnutrición durante los primeros 50 días de gestación a ovejas primerizas de 2 1/2 años de edad; el mismo tratamiento, aplicado a ovejas maduras, no tuvo efecto aparente sobre el porcentaje de partos. Posteriormente, Mackenzie and Edey (1975 a), trabajando también con ovejas primerizas de 1 1/2 años, concluyeron que si los pesos corporales son comparables, las ovejas primerizas no son necesariamente más susceptibles que las ovejas maduras a sufrir mortalidad embrionaria inducida por severa desnutrición, al menos por períodos de dos semanas.

En algunos de los trabajos en los que se ha observado aumento en la mortalidad como consecuencia de subnutrición después del servicio, también se ha observado que se han afectado más aquellas ovejas que portaban gestaciones múltiples (dos embriones o más). Así, vemos que Cumming (1972 b) citado por Edey (1979), reporta que las ovejas con gestación doble, pierden ambos embriones, mientras que las portadoras de un sólo embrión escapan a este efecto, al punto de que más ovuladoras dobles quedan vacías que ovuladoras sencillas, esto concuerda con el hallazgo de Gunn, Doney and Smith (1979 b), quienes reportan una gran incidencia en las pérdidas completas de las gestaciones múltiples en ovejas subalimentadas después del servicio. Tales reportes apoyan el argumento de Edey (1966), que propone que en algunas circunstancias, el desarrollo de un medio ambiente uterino desfavorable, conduce a la pérdida total, más que a la parcial, de los embriones pertenecientes a gestaciones múltiples, esta conclusión surge de su propio experimento, en donde observó que en ovejas subalimentadas después del servicio, la pérdida de embriones fué significativamente mayor en las ovuladoras dobles que en --

ovuladoras sencillas; además, las ovuladoras dobles tendieron más a perder - amios embriones, que a perder uno y conservar el otro.

El mecanismo por el cual se produce la muerte del embrión en ovejas subalimentadas después del servicio no se ha determinado aún, a pesar de que se han hecho intentos en ese sentido, como el de Eley (1970 a,c) que incluyó un tratamiento a base de progesterona para ovejas subalimentadas al inicio de la gestación, y concluyó que el administrar progesterona a ovejas subalimentadas al inicio de la gestación no tuvo efecto benéfico sobre la supervivencia embrionaria. Este reporte sin duda coincide con lo encontrado por Thwaites and Eley (1970) citados por Durán del campo (1980), quienes observaron - que la subnutrición aguda, capaz de causar muerte embrionaria, no logra, en cambio, afectar la histología del cuerpo lúteo; más aún, Cumming et. al. --- (1971), midió los niveles plasmáticos de progesterona en ovejas alimentadas al 25% de la dieta de mantenimiento desde el día 7 al 16 después de la monta y descubrió que estos eran significativamente más altos que los observados - en ovejas alimentadas al 100% de la dieta de mantenimiento.

Estos hallazgos parecen eliminar al bajo nivel de progesterona plasmática como mecanismo de la muerte embrionaria inducida por desnutrición en la oveja. No obstante, aún no se puede descartar definitivamente a la progesterona como parte del mecanismo de muerte embrionaria, en vista de lo reportado por Wilmut and Sales (1983), quienes indican que algunas de las pérdidas embrionarias que normalmente ocurren en las primeras tres semanas de gestación pueden resultar de una asincronía entre el desarrollo del embrión y los patrones de secreción de progesterona materna. Así, aún queda por investigar - si la subnutrición aguda al inicio de la preñez, provoca o no la sincronía - antes mencionada.

II) El peso corporal y la condición corporal son dos términos utilizados en los estudios de que tratamos para describir el estado nutricional de los animales al momento del servicio, refiriéndonos a este estado nutricional como una condición que refleja, principalmente, planes de alimentación a largo - plazo, que producen cambios lentos en el peso del animal.

La condición corporal, es una relación entre el peso corporal y el tamaño del esqueleto, se utiliza como una forma de obtener un indicador del estado fisiológico del animal, que sea más sensible y más representativo que el peso corporal por sí sólo. Esto es a consecuencia de que ovejas del mismo pe

no corporal, pero de diferente tamaño en la estructura ósea, pueden, de hecho, estar en una condición corporal completamente distinta (Edey, 1970 a).

Para determinar la condición corporal de las ovejas, la mayoría de los autores se basan en el método descrito por Jefferies (1961) citado por Gunn, Doney and Russel (1969), que es un sistema que determina la condición corporal de manera subjetiva, basándose en la palpación del lomo de la oveja. En este sistema se fijan grados que van desde 0= oveja emaciada, hasta 5= oveja muy gorda. Este método, además de que simplifica las descripciones, es útil también porque salva, en cierto modo, las diferencias de tamaño y peso de las diferentes razas utilizadas para los estudios. En lo sucesivo, se utilizará esta escala siempre que los autores la mencionen, de lo contrario, se mencionará si los estudios tomaron el peso corporal como parámetro de referencia.

En relación al peso corporal, Coop (1962) citado por Edey (1970 d), trabajando con ovejas corriedale, ha reportado un incremento en el porcentaje de ovejas vacías cuando estas tuvieron pesos corporales por debajo de 41 Kg. En esta misma línea de estudio, Rak (1963) investigó el efecto que sobre la mortalidad embrionaria tenía el peso corporal de la oveja al momento del servicio, y observó que las pérdidas fueron más altas en las ovejas de menor peso corporal. Por el otro lado, Cumming and McDonald (1970), en un estudio con ovejas Romney adultas, cuyo peso mínimo fué de 45 Kg., no encontraron evidencia de que hubiera una relación entre el peso corporal y la capacidad de la oveja para mantener la gestación (número de ovejas gestantes) o con el número de embriones muertos, ya fuera después de monta natural o de transferencia embrionaria. De forma semejante Cumming et. al. (1975), en un trabajo que involucró 1000 ovejas de raza Merino y Merino X Border Leicester concluyó que el peso corporal no fué un factor determinante sobre la mortalidad embrionaria. Sin embargo, estos dos últimos estudios mencionados, tienen en común la característica de que no incluyeron ovejas de bajo peso corporal, lo cual puede ser la razón de los resultados negativos, en vista de los reportes de Edey (1970 a,b,c,d) y Guerra, Thwaites and Edey (1971). En una serie de estudios que abarcaron tres años consecutivos, Edey (1970 a,b,c,d) examinó la influencia del peso corporal sobre la mortalidad embrionaria en ovejas Merino. Observó que sólo en un año (1970 a), existió una correlación entre el peso corporal y la mortalidad embrionaria. En este año, el trabajo experimental se llevó a cabo en época de sequía, y fué el único año en el que el rango de peso de las ovejas experimentales se extendió por debajo de

34.5 Kg. Siguiendo esta pauta, Guerra, Thwaites and Edey (1971), examinaron en detalle la relación entre pesos corporales bajos y mortalidad embrionaria en ovejas Merino adultas cuyo rango de peso fué de 23 a 47 Kg., ellos notaron una correlación significativa entre el peso corporal y la pérdida de embriones, concluyeron que en ovejas de bajo peso corporal, una mortalidad embrionaria elevada probablemente sea un factor contribuyente al incremento en el número de ovejas vacías.

De tal forma, es notorio que los reportes que indican un efecto del peso corporal sobre la mortalidad embrionaria, tienen en común la característica de que las ovejas están anormalmente bajas de peso (Mackenzie and Edey --- 1975 a), y que, como concluyen Edey (1970 d) y Guerra, Thwaites and Edey --- (1971), parece haber, al menos para las ovejas Merino, un peso corporal crítico (35 Kg.), abajo del cual se puede esperar una pobre supervivencia embrionaria.

En los estudios que han examinado el efecto de la condición corporal al momento del servicio sobre la supervivencia embrionaria, encontramos que la tendencia es semejante a lo antes visto para el peso corporal en relación a la mortalidad embrionaria. Gunn, Doney and Russel (1969), utilizando ovejas Scottish Blackface, registraron que hubo mayor cantidad de pérdidas embrionarias en ovejas que se encontraban en condición corporal pobre (1.5 en la escala de 0 a 5), en comparación con ovejas en buena condición corporal (3.0); sin embargo, esta diferencia no alcanzó significancia estadística. Posteriormente, Gunn, Doney and Russel (1972), en un experimento similar al anterior, registraron que la tasa de retorno a servicio a los 21 días, fué significativamente mayor en las ovejas que se encontraban en condición corporal pobre (1.5), en comparación con ovejas en buena condición corporal (3.0). Los autores sugieren que, puesto que no hay indicaciones de que la tasa de fertilización sea diferente entre ovejas magras y gordas, la diferencia registrada puede deberse a una mayor mortalidad embrionaria anterior al día 13 de gestación; asimismo, se midió la mortalidad embrionaria al día 26 mediante sacrificio para contar cuerpos lúteos y número de embriones viables presente, confirmandose que la mortalidad embrionaria fué mayor en ovejas de condición corporal pobre.

Los hallazgos anteriores son ratificados por Gunn and Doney (1975), los que, además de las condiciones corporales 1.5 y 3.0, incluyeron en su experimento ovejas en condición 2.5 (moderadamente buena), notando que las diferencias en mortalidad embrionaria fueron significativas entre ovejas en condi-

ción 1.5 y 2.5 o 3.0, pero no hubo diferencia significativa entre ovejas en condición corporal 2.5 y 3.0, lo que puede conducirnos a pensar que en la condición corporal, como en el peso corporal, hay un umbral, por abajo del cual podemos esperar que haya aumento de la mortalidad embrionaria. Este razonamiento es apoyado por los hallazgos de Cumming et. al. (1975) y Gunn and Doney (1979), quienes, trabajando con ovejas cuyo rango de condición corporal fluctuó de 2.0 a 3.0, no observaron diferencias significativas en la tasa de mortalidad embrionaria. En el otro extremo de la condición corporal, Rhind et. al. (1984 b) parecen tener alguna evidencia de que las ovejas muy gordas (condición corporal 3.5) sufren mayores pérdidas embrionarias que ovejas en condición corporal moderada (2.75).

No obstante que Edey (1970 a) ha demostrado que la condición corporal y el peso corporal son dos parámetros del estado nutricional de las ovejas que no se comportan de igual manera con respecto a su influencia sobre la mortalidad embrionaria, se puede ver que al menos lo hacen de manera muy semejante, y, por tanto, podemos tomarlos juntos para concluir que el estado nutricional de la oveja al momento del servicio, puede ser un factor que influya negativamente sobre la supervivencia embrionaria en la gestación resultante, si este estado es malo. Por otra parte, un buen estado nutricional parece mejorar la supervivencia embrionaria, particularmente si la oveja tiene xás de un embrión, como lo sugieren Gunn and Doney (1979), que, además, encontraron diferencias raciales en cuanto a este efecto.

III) En ciertas investigaciones se han examinado combinaciones entre planes nutricionales y condición corporal o peso corporal, con el objeto de saber qué interacciones existen entre estas variables al ejercer su efecto sobre la mortalidad embrionaria.

Gunn, Doney and Smith (1979 b), diseñaron un experimento en el que aplicaron un plan de subalimentación (B) a partir de cinco semanas antes del servicio, a ovejas en condición corporal moderadamente buena (2.5), y un plan de sobrealimentación (A), en el mismo período, a ovejas en condición corporal pobre (1.5). Después del servicio, a la mitad de cada grupo se le aplicó un plan de subalimentación, y un plan de sobrealimentación a la otra mitad. Así, resultaron cuatro grupos, esquematizados en el cuadro 3.2.3 junto con la tasa ovulatoria y la tasa de mortalidad embrionaria estimada a día 28 de gestación.

Cuadro 3.2.3

| Condición corporal | 2.5 | | | 1.5 | | |
|---|------|------|-------|------|------|-------|
| | EA | BB | EA+BB | AA | AB | AA+BB |
| Grupo según la alimentación recibida pre y post servicio. | | | | | | |
| Tasa ovulatoria promedio | 1.21 | 1.25 | 1.23 | 1.26 | 1.44 | 1.35 |
| Porcentajes de pérdidas embrionarias. | 9 | 20 | 14 | 21 | 41 | 32 |

Como se ve en el cuadro, la mayor mortalidad embrionaria y mayor tasa ovulatoria, ocurrieron en el grupo AB. La mortalidad embrionaria y la tasa ovulatoria en el grupo BB, se mantuvieron dentro de límites médicos, lo que coincide con lo observado por Braden (1971), que subalimentó ovejas en buena condición corporal durante el empadre y hasta 21-28 días post servicio, encontrando que la combinación de subalimentación antes y después del servicio no incrementó el porcentaje de mortalidad embrionaria, sugiriendo que esto se debió probablemente a la baja tasa ovulatoria ocurrida.

Gunn and Doney (1975), observaron que el sobrealimentar ovejas en condición corporal moderada (2.5), durante cinco semanas antes del servicio, causó que disminuyeran significativamente las pérdidas, principalmente en las gestaciones dobles; por el contrario, el mismo plan de alimentación, aplicado a ovejas en condición corporal pobre (1.5), causó un incremento en la mortalidad embrionaria. Por su parte, Gunn, Doney and Russel (1972), encontraron que el sobrealimentar, después del servicio, a ovejas en condición corporal pobre (1.5) y en buena condición (3.0), condujo a que las primeras tuvieran una mortalidad embrionaria significativamente mayor que las últimas (63% vs 12%), sin embargo, el subalimentar en el mismo período a ovejas similares no produjo diferencias significativas en la mortalidad embrionaria.

Aunque no se pueden elaborar proposiciones concluyentes acerca de la naturaleza de las interacciones entre las variables descritas, sí se puede notar que no es posible tratar de entender la mortalidad embrionaria, sucedida en estos casos, como producto de una sola variable aislada, sino que se debe entender como la resultante de la condición corporal de la oveja, la tasa ovulatoria y los planes de nutrición antes y después del servicio, resultante

que, como hemos visto, es también diferente según la edad y raza de la oveja.

IV) En este apartado, se describirán aquellos trabajos en los que se ha estudiado el efecto que sobre la mortalidad embrionaria pudieran tener algunos componentes específicos de la dieta; estos incluyen algunas plantas forrajeras y ciertos minerales, ya que, de hecho, no parece haber reportes sobre deficiencias proteínicas o vitamínicas (excepción hecha de la vitamina E) como causas de muerte embrionaria.

Hartley (1963) citado por Edey (1979), reporta que en algunas áreas de Nueva Zelanda, una condición de baja fertilidad, caracterizada por una alta incidencia de ovejas vacías, fué eliminada por una sola dosis de selenio. La infertilidad era resultado de pérdidas embrionarias entre la 3^a y 4^a semana post concepción. Boyazoglu, Jordan and Neade (1967), examinando las relaciones entre azufre, selenio y vitamina E, encontraron que la administración de vitamina E a los 89 días de gestación o menos, pareció ejercer un efecto favorable sobre el porcentaje de partos, sin embargo, no se reporta de los posibles efectos en la gestación temprana. Por su parte, Mudd and Mackie (1973) citados por Edey (1979), obtuvieron un aumento en la tasa de nacimientos, --presumiblemente debido a la disminución en la mortalidad embrionaria, después de la administración de vitamina E y selenio. Abundando más en las interrelaciones del selenio con otros minerales, Smith and Smith (1964) estudiaron el efecto de varios tratamientos basados en selenio y/o zinc sobre la tasa ovulatoria, tasa de concepción y mortalidad embrionaria; se formaron ocho grupos experimentales que se esquematizan en el cuadro 3.2.4 con los resultados obtenidos.

Von Meyer, Kamphues and Scholz (1976), investigaron la influencia de una dieta deficiente en magnesio (450 ppm Mg) al inicio de la gestación, sobre el desarrollo embrionario. Observaron que la concentración de Mg en el fluido alantoideo y embrión era marcadamente menor que la observada en embriones de ovejas control; sin embargo, no se detectaron diferencias en el desarrollo embrionario.

Se ha reportado lo que parece ser un caso claro de mortalidad embrionaria inducida por la alimentación de ovejas con coles (Williams, Hill and Alderman, 1965 citados por Edey, 1969). Las muertes embrionarias ocurrieron cuando hubo efectos significativos de la col sobre el número de hematíes; volumen del paquete celular; concentración de cobre hepático y actividad de la

Cuadro 3.2.4

| Grupo | Tratamiento | Tasa ovulatoria. | Tasa de concepción. | Mortalidad embrionaria. |
|-----------|---|---------------------|------------------------|----------------------------|
| I | Administración de zinc (100 mg/kg de peso corporal, dos veces por semana durante cuatro semanas, iniciando dos semanas antes del servicio). | 1.56 | 56% | 16% |
| II | Administración de zinc (idem) + 5 mg de selenio 10 días antes del servicio. | 1.54 | 81% | 19% |
| III | Administración de zinc (idem) + 5 mg de selenio 10 días después del servicio. | 1.54 | 81% | 19% |
| IV | Administración de zinc (idem) + 5 mg de selenio antes y después del servicio. | 1.54 | 81% | 19% |
| V | No se administró tratamiento alguno. | 1.62 | 60% | 29% |
| VI | 5 mg de selenio 10 días antes del servicio. | 1.52 | 75% | 15% |
| VII | 5 mg de selenio 10 días después del servicio. | 1.52 | 75% | 15% |
| VIII | 5 mg de selenio antes y después del servicio. | 1.52 | 75% | 15% |

citocromo-oxidasa; concentración de yodo plasmático e histología tiroidea. - No obstante, es incierto si hay alguna asociación directa entre estos efectos y la mortalidad embrionaria detectada.

Van Kampen et. al. (1969), menciona que la ingestión de cantidades tóxicas de Veratrum californicum durante períodos incluidos en las primeras cuatro semanas de gestación, indujeron mortalidad embrionaria.

El heno de Trébol dulce (que contiene dicumarol) y la Momulea toborodi han sido implicados en la ocurrencia de pérdidas embrionarias tempranas y abortos a la mitad de la gestación (Chapman, 1960).

Corolario:

- La sobrealimentación por períodos cortos precediendo al servicio incrementa la tasa ovulatoria y, aparentemente, también la mortalidad embrionaria. Al parecer, ambos fenómenos están asociados.
- La subalimentación por períodos cortos, precediendo al servicio, parece no tener gran efecto perjudicial para la supervivencia embrionaria, sobre todo si la oveja está en buena condición corporal.
- Los efectos de la nutrición ulterior al servicio sobre la mortalidad embrionaria pueden verse influenciados por la nutrición pre-servicio y por la condición corporal, principalmente a través de la tasa ovulatoria.
- Parece ser que el sobrealimentar las ovejas después del servicio incrementa la mortalidad embrionaria, especialmente cuando se suplementa con alimentos energéticos, aunque hay variaciones raciales en la respuesta a esta sobrealimentación.
- La subalimentación después del servicio incrementa la mortalidad embrionaria, principalmente cuando es muy severa y se verifica en las primeras semanas de gestación; este efecto parece no estar relacionado con la edad de la oveja, a condición de que los pesos corporales sean comparables.
- Es de esperarse que ocurra una mayor mortalidad embrionaria en ovejas de bajo peso corporal o mala condición corporal al momento del servicio. Un buen estado corporal --pero no excesiva gordura-- parece mejorar la supervivencia embrionaria.
- En general, en aquellos casos en que, ya sea la subalimentación o sobrealimentación causa muerte embrionaria, las gestaciones múltiples son más afectadas.
- El proceso nutricional es continuo y su influencia sobre la mortalidad em-

trionaria se ejerce así, como un todo, por lo que no se puede esperar que los tratamientos nutricionales aplicados a las ovejas, actúen aisladamente sino interaccionándose entre sí.

3.3 Efecto de la estación del año y de la época de empadre.

I Efecto de la estación del año sobre la mortalidad embrionaria.

Watson and Radford (1966) reportan un estudio realizado en Australia -- con ovejas Merino, en el que se examinó el gasto reproductivo en relación al apareo de la ovejas realizado en invierno, primavera, verano y otoño. Se observó que no hubo variación estacional de la mortalidad embrionaria registrada hasta la cuarta semana de gestación. Un hallazgo similar reportan Davis, Kenney and Cumming (1976), también en Australia y con ovejas Corriedale, comparando solamente dos estaciones del año: otoño y verano. Sin embargo, tanto estos últimos como Cumming et. al. (1975) --quien comparó también otoño y verano en ovejas Merino y Boarder Leicester X Merino--, notaron que en las ovejas con ovulación doble hubo una mortalidad embrionaria significativamente mayor en verano. Por su parte, Ashwort, Sales and Wilmot (1984), informan haber detectado una supervivencia embrionaria significativamente menor en las gestaciones de primavera comparadas con las gestaciones de otoño e invierno.

Siendo la oveja una reproductora estacional que responde a cambios de luz y temperatura, y estando sujeta a cambios estacionales en los niveles hormonales (Yeates, 1949; Kammlade et. al., 1957 citados por Edey, 1969), --quizá no es inesperado que hayan sido detectadas estas diferencias en mortalidad embrionaria. A este respecto, algunos autores han investigado el efecto de varios tratamientos lumínicos sobre el fenómeno reproductivo. Dutt, --Falcon and Dame (1967) mencionan que la supervivencia embrionaria fue disminuida en ovejas que recibieron sólo dos horas de luz al día durante todo un ciclo estral antes del servicio (78% vs 95.4% de las ovejas control en luz natural). En forma parecida, Rulet, Price and Foote (1968), reportan que la exposición de ovejas apareadas a la obscuridad completa o a luz y obscuridad intermitentes a intervalos de dos horas, a partir del 6° día post coito, tuvo un significativo efecto reductor sobre el número de cuerpos lúteos representados por embriones (determinado por laparotomía al día 23-30 p.c.), en comparación con ovejas mantenidas a luz continua o a luz natural.

II Efecto de la época de empadre sobre la mortalidad embrionaria.

Han sido reportadas tasas de mortalidad embrionaria anormalmente elevadas en ovejas apareadas al inicio o al final de la época de cría. Hulet et al. (1956) citado por Edey (1969), investigando un problema de aparente infertilidad en el inicio de la temporada de cría, encontraron que la mortalidad embrionaria correspondiente a los servicios de principio de temporada alcanzó un 28.6%, comparada con 9.9% en el resto de la temporada; las altas pérdidas parecen haber sido debidas a una mayor mortalidad embrionaria anterior al día 18, como consecuencia de anomalías en los óvulos. En forma similar, Dutt (1954) citado por Edey (1969), apareó ovejas al inicio de la temporada y observó una tasa de mortalidad embrionaria de 32.7%, con un porcentaje inusitadamente alto de óvulos anormales.

Por el otro lado, Laffey and Hart (1959) citados por Edey (1969), encontraron un 40% de cigotos anormales en ovejas apareadas hacia el final de la temporada de cría, con una tendencia a más anomalías conforme la temporada avanzaba.

Por el contrario, Knight et al. (1975), ha reportado un estudio que involucró 25,571 ovejas Merino, y en el cual se observó, entre otras cosas, el patrón de pérdidas reproductivas en rebaños donde el apareo se llevó a cabo en el 1º, 2º, 3º o 4º cuartos de la temporada de empadre, viéndose que no hubo diferencia de pérdidas entre los cuatro períodos.

En cuanto a la forma en que se efectúa el empadre, Whiteman (1965) reporta un estudio en donde 225 ovejas permanecieron con los carneros continuamente durante 40 días, mientras que otras 225 ovejas sólo estuvieron expuestas a los carneros de las 5 P.M. a las 8 A.M. durante el mismo período. El resultado fué que hubo más partos gemelares en las ovejas servidas sólo de noche, y los datos indicaron que esto se debió a mayores tasas de fertilización y de supervivencia embrionaria en estas ovejas.

Corolario:

- No parece haber un efecto marcado de la estación del año sobre la mortalidad embrionaria, aunque experimentalmente se ha observado que la reducción en el número de horas/luz/día tiene un efecto negativo sobre la supervivencia embrionaria.
- Se han reportado elevadas pérdidas embrionarias en ovejas apareadas al principio o al final de la época de empadre.

4. Factores genéticos que afectan la mortalidad embrionaria.

4.1 Efecto de la tasa ovulatoria.

En términos generales, se ha visto que en la oveja, la tasa de ovulación es influenciada por el genotipo y por el medio. Aquí, el interés se centrará, no en la tasa ovulatoria por sí misma, sino en cualquier relación que el número de óvulos liberados pueda tener con la mortalidad embrionaria. Esta relación cobra cada vez mayor importancia, en vista del potencial que existe para incrementar las tasas ovulatorias a través de la manipulación de los planes nutricionales y del cambio genético.

Cuando la muerte embrionaria es inducida por un factor ambiental como la nutrición, ya se ha notado que las gestaciones gemelares son significativamente más vulnerables a los estragos que las gestaciones sencillas (Edey, 1965, 1966, 1970 c; Cumming, 1972; Gunn, Doney and Smith, 1979 a,b). En este caso, se tratará en lo posible, de examinar cuál es la relación entre la tasa ovulatoria y el porcentaje de mortalidad embrionaria en ovejas que, se supone, no están expuestas a algún factor identificado que cause muerte embrionaria, y sólo en algunos casos, cuando se considere conveniente, se mencionarán datos obtenidos en estudios donde se ha inducido la muerte embrionaria.

Casida, Woody and Pope (1966), han reportado una buena evidencia de que la mortalidad embrionaria es mayor en ovejas con ovulación doble que en ovejas con sólo una ovulación. Ellos examinaron 267 ovejas ovuladoras sencillas y encontraron un 23.6% de cuerpos lúteos no representados por embriones; en tanto que, de 348 cuerpos lúteos, pertenecientes a 174 ovejas con ovulación doble, un 35.7% no estaban representados por embriones. Quinlivan et. al. (1966); Dolling and Nicolson (1967) y Lino and Braden (1968), también han concluido que aquellas ovejas con ovulación doble sufren más muertes embrionarias que las que tienen una sola ovulación; no obstante, sólo Dolling and Nicolson (1967), han observado diferencias significativas. Por su parte, Mattner and Braden (1967) y Kelly and Johnstone (1982), sugieren que las pérdidas embrionarias importantes son aquellas donde se pierde sólo un embrión en las gestaciones dobles, y que estas pérdidas son substanciales donde las tasas ovulatorias son altas; esto parece ser ratificado por los hallazgos de Quinlivan et. al. (1966 a), que reporta que de aquellas ovejas con ovulación

doble, un 51% retuvieron los dos embriones vivos; un 45.1% mostraron evidencia de tener sólo un embrión vivo, y un 3.9% mostraron haber perdido ambos embriones.

Se ha visto, asimismo, que la tendencia observada en las ovejas ovuladoras dobles, parece persistir a medida que aumenta la tasa ovulatoria, ya que Chopping and Lindsay (1970), Eastwood and McDonald (1974) y Allison (1975) - citados por Geisler, Newton and Mohan (1977), así como Ricordeau et. al. (1976) y Ashworth, Sales and Wilmut (1984), han remarcado la aparente relación entre la tasa de supervivencia de embriones; la tasa ovulatoria, señalando que, en general, la supervivencia decrece cuando la tasa ovulatoria aumenta.

Ciertos investigadores han tratado de establecer un modelo teórico que explique cómo se comportan las pérdidas embrionarias en relación al número de embriones portados por la oveja; los datos obtenidos en estos estudios -- son útiles para determinar si en realidad las probabilidades de sobrevivir del embrión, disminuyen cuando el número de embriones en el útero aumenta.

Así, vemos que uno de los primeros intentos en este sentido es el de Edey (1969; 1970 d), quien sugiere que cuando las condiciones uterinas son "normales", las pérdidas de las ovuladoras múltiples son aleatorias, y que en estas ovejas, se puede esperar que el porcentaje de mortalidad embrionaria sea alto, si se piensa que al perderse un embrión, la gestación continúa, con la probabilidad de que, posteriormente, ocurra una pérdida adicional. -- Asimismo, añade que cuando dichas condiciones uterinas son desfavorables, como se podría pensar en los casos de desnutrición de la oveja, la supervivencia de los embriones tiende a ser un fenómeno de "todo o nada".

Posteriormente, Restall et. al. (1976 a) y Geisler, Newton and Mohan (1977), en estudios separados, han examinado algunas hipótesis sobre la índole de la fertilización y de la mortalidad embrionaria en ovejas con ovulación sencilla o múltiple. La primera conclusión a la que llegaron se refiere a que la fertilización no parece tener algún papel importante en el porcentaje de cuerpos lúteos no representados por embriones, observado en ovuladoras múltiples, ya que los óvulos liberados por estas, aparentemente son, o todos fertilizados o ninguno fertilizado, independientemente del número de ovulos liberados (fenómeno de "todo o nada"). Hallazgos semejantes han sido reportados por McDonald (1963) y Gunning and McDonald (1967) citados por Geisler, Newton and Mohan (1977), así como por Pattner and Eraden (1967); Restall and Griffiths (1976) y Restall et. al. (1976 b), aunque, parece, deben excluirse los casos de superovulación inducida (Danchy and Betts, 1972 y Eastwood and McDonald, 1974 citados por Geisler, Newton and Mohan, 1977; Tervit and McDo-

nalá, 1968). Esta afirmación se basa en que se han observado bajas proporciones de ovejas que presenten, por ejemplo, dos óvulos y sólo uno fertilizado, o tres óvulos y sólo dos o uno fertilizados.

La segunda conclusión, y la más importante, consiste en que la distribución de pérdidas de embriones en ovulaciones sencillas o dobles, es compatible con un modelo binomial. Brevemente, recordáremos que un experimento binomial debe cumplir con las siguientes características generales (Willoughby, 1974; Quintana y Heredia, 1982):

- El experimento consiste de n ejecuciones.
- El resultado de cada ejecución es un éxito o un fracaso.
- Las n ejecuciones son independientes.
- La probabilidad de éxito para todas las ejecuciones es la misma.

De esta forma, vemos que estos autores (Rentall et. al., 1976 a. y Geisler, Newton and Mohan, 1977), indican que la probabilidad de supervivencia de un óvulo fertilizado es independiente de la supervivencia y muerte de aquellos otros óvulos liberados con él. Adicionalmente, Geisler, Newton and Mohan (1977), proponen y demuestran en su estudio una hipótesis en la que la probabilidad de supervivencia de un óvulo fertilizado varía de acuerdo al número de óvulos liberados con él, y donde la tasa de supervivencia es como sigue: Sea p_i ($i = 1, 2, 3, \dots, n$) = probabilidad de que uno de los i óvulos liberados y fertilizados, sobreviva como un embrión viable; se propone que la tasa de supervivencia se comportará de acuerdo a $p_1 > p_2 > p_3 > \dots > p_n$. Así, se ve que la tasa de supervivencia disminuye a medida que la tasa ovulatoria aumenta, esto, a causa del incremento en el riesgo de muerte para óvulos liberados en forma múltiple; se indica, asimismo, que bajo condiciones "normales", los valores de supervivencia de huevos liberados individualmente (p_1), o en forma múltiple (p_n), se puede esperar que sean como sigue: $p_1 \approx 0.95$; $p_2 \approx 0.85$; $p_3 \approx 0.70$. Para tasas ovulatorias mayores de tres, no se dispuso de datos suficientes para dar estimaciones de p_i con confiabilidad. Estos valores enunciados, coinciden muy cercanamente con los obtenidos por Bindon and Piper (1977) citados por Cockrem (1979), quienes proponen una relación lineal de tasa ovulatoria y mortalidad embrionaria, en donde tasas ovulatorias de 1, 2 y 3, conducen a 1; 1.47 y 2 corderos respectivamente, i.e. aquí también se incrementan las pérdidas con el incremento en la tasa ovulatoria.

Un suunto relacionado a la tasa ovulatoria y que ha sido propuesto por algunos autores como posible causa de que se dé un incremento en la mortali-

dad embrionaria en ovejas ovuladoras múltiples, es el que se refiere a la -- distribución de las ovulaciones y a los fenómenos que pueden traer consigo -- ciertas distribuciones específicas, como veremos a continuación.

Nos referiremos principalmente a las ovejas ovuladoras dobles por ser, entre las ovuladoras múltiples, lo que ocurre con más frecuencia y lo que -- más se ha estudiado. Casida, Woody and Pope (1966); Eley (1970 b); Gunn, Doney and Russel (1972) y Doney, Gunn and Smith (1973), han reportado que hay mayor mortalidad embrionaria, cuando en ovulaciones dobles, un sólo ovario -- produce ambos óvulos, en comparación con los casos en que los óvulos son liberados uno por cada ovario. Por su parte, Kelly and Allison (1979), no encontraron diferencias a este respecto. Los datos de estos autores se resumen como sigue.

Cuadro 4.1.1

| Fuente | Porcentaje de mortalidad embrionaria | |
|-------------------------------|--------------------------------------|-----------------------------------|
| | Una ovulación en cada ovario | Dos ovulaciones en un sólo ovario |
| Casida, Woody and Pope (1966) | 31.00% | 37.37% |
| Eley (1970 b) | 32.00% | 40.00% |
| Gunn, Doney and Russel (1972) | 6.00% | 27.00% |
| Doney, Gunn and Smith (1973) | 11.60% | 22.20% |
| Kelly and Allison (1979) | 33.20% | 31.40% |

+ = Diferencia estadísticamente significativa.

Respecto a las diferencias observadas en la mortalidad embrionaria, se ha discutido cuál es el papel que tiene el fenómeno de migración embrionaria. La migración embrionaria es definida por Abenes and Woody (1971) como la presencia de un embrión entero o del disco embrionario en el cuerno uterino opuesto al cuerno asociado con el ovario portador del cuerpo lúteo, el proceso tiene lugar entre el décimo y el decimocuarto día de gestación. Esta migración embrionaria transuterina, se ha visto que se comporta conforme a -- ciertos esquemas: cuando un sólo óvulo es liberado de un ovario (ya sea que esto ocurra en un ovario o en ambos), en caso de ser fertilizado, el embrión resultante tiende a localizarse en el cuerno uterino asociado al cuerpo lúteo correspondiente --ipsilateral-- (Doney, Gunn and Smith, 1973). Ahora, cuando dos o más óvulos son liberados en un sólo ovario, la regla general es que

ocurra la migración de un embrión al cuerno uterino contrario (contralateral), aún cuando este no esté asociado con un cuerpo lúteo (Casida, Woody and Pope, 1966; Scanlon, 1972 citado por Kelly and Allison 1979; Baier and Rüsse, 1968 citados por Sittmann, 1972; Doney, Gunn and Smith, 1973). Los datos de algunos de estos autores se resumen en el cuadro 4.1.2. En este cuadro puede notarse la importancia de la migración embrionaria cuando los óvulos son producidos en un sólo ovario -- reportando Doney, Gunn and Smith (1973), que la tendencia parece persistir en ovejas con más de dos óvulos producidos --, se observa también, que si se produce un óvulo en cada ovario, la migración (que resultaría en apilamiento) es virtualmente nula, asimismo, se ha visto (Casida, Woody and Pope, 1966) que en ovejas con dos ovulaciones en un mismo ovario, el porcentaje de migración se reduce si uno de los dos embriones muere lo suficientemente pronto (antes de los 14 días), ya que prontamente, hay menos estímulo para la migración del otro embrión.

Todas estas razones apoyan la conclusión de que la migración transuterina de embriones en la oveja, es un proceso no aleatorio dirigido a la distribución espacial de estos embriones (Doney, Gunn and Smith, 1973).

La cuestión, ahora, es examinar cuál es la repercusión sobre la viabilidad embrionaria de la migración transuterina. Casida, Woody and Pope (1966), sugieren que el incremento en la mortalidad embrionaria registrada en ovejas con doble ovulación en un ovario se debe a la migración embrionaria; Baier and Rüsse (1968) citados por Sittmann (1972) apoyan esta conclusión, no obstante, Sittmann, analizando los datos de estos autores, concluye que la hipótesis no puede ser sustentada por dichos datos; por su parte, Kelly and Allison (1979), a partir de su estudio, reportan que la migración transuterina tuvo poco efecto perjudicial sobre la supervivencia embrionaria. Tales discrepancias entre opiniones, quizá pueden resolverse a partir del estudio detallado que sobre migración transuterina y supervivencia embrionaria realizaron Doney, Gunn and Smith (1973). Ellos obtuvieron los siguientes resultados:

- En ovejas con dos ovulaciones en un ovario y ninguna en el otro, la mortalidad embrionaria fué significativamente menor cuando ocurrió migración distributiva, que cuando los embriones permanecieron juntos en el mismo cuerno uterino, lo que indica que la viabilidad de los embriones ovinos, se reduce con la sobrepoblación.
- El proceso distributivo redujo la mortalidad de los embriones que permanecieron en el cuerno ipsilateral, no así la de los embriones migrantes, ya que la mortalidad embrionaria, cuando un embrión se localizó en el cuerno contralateral, fué significativamente mayor que la de embriones situados en

Cuadro 4.1.2

Incidencia de migración embrionaria intrauterina en ovejas en las cuales uno o dos embriones fueron recuperados, después de la ovulación de uno o ambos ovarios.

| Ovarios | Cuerpos lúteos | Embriones recuperados | Serie 1 | | Serie 2 | | Ambas series | Serie 3 |
|---------|----------------|-----------------------|-----------------------|---------------------------|-----------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | | | Número de gestaciones | Gestaciones con migración | Número de gestaciones | Gestaciones con migración | Gestaciones con migración | Gestaciones con migración |
| 2 | 2 | 2 | 42 | 0 | 27 | 0 | 0.0 % | 1.0 % |
| 2 | 2 | 1 | 36 | 0 | 9 | 0 | 0.0 % | - |
| 1 | 2 | 1 | 37 | 3 | 14 | 3 | 11.8 % | - |
| 1 | 1 | 1 | 204 | 19 | 101 | 7 | 8.5 % | 5.2 % |
| 1 | 2 | 2 | 36 | 30 | 19 | 19 | 89.1 % | 84.8 % |

Adaptado de: Sittmann, K., (1972)

Serie 1 Casida, Woody and Pope (1966)

Serie 2 Baier and Küsse (1968)

Serie 3 Doney, Gunn and Smith (1973)

el cuerno ipsilateral. Esto, de acuerdo a Reynolds, Magnus and Ford (1964), quizá se relacione con el aumento de flujo sanguíneo en el cuerno ipsilateral que se observa a partir del undécimo día de gestación, este aumento del flujo llega a ser dos veces mejor que el observado en el cuerno contralateral, aún cuando en esta cuerno haya un embrión.

Independientemente de si las ovulaciones son dobles o sencillas, se ha intentado establecer si hay diferencia entre el ovario izquierdo y derecho, en cuanto a producción de óvulos y si esta desigualdad en la función ovárica puede conducir a que haya diferencias en la supervivencia embrionaria.

Cañida, Woody and Pope (1966), trabajando con ovejas Hampshire y Columbia, observaron que el 58.2% de las ovulaciones se produjeron en el ovario derecho, y que la supervivencia embrionaria también fué mejor para los embriones originados en el lado derecho; por su parte, Edy (1970 a,b,c,d), -- trabajando con ovejas Merino, encontró que las ovejas produjeron, consistentemente, más óvulos en el ovario izquierdo y también la supervivencia embrionaria fué significativamente mayor en este lado. Así, aunque hay discrepancia sobre qué ovario produce más ovulaciones (lo que pudiera deberse a la raza), parece haber tendencia a que, proporcionalmente, sobrevivan más embriones originados en el ovario con más ovulaciones.

Así como se ha visto que la tasa ovulatoria varía con la raza de la oveja, se ha sugerido que razas ovinas con tasas ovulatorias altas por naturaleza, pueden tener también mejor porcentaje de supervivencia embrionaria (Lawson and Rowson, 1972; Bradford et. al., 1974 citados por Land and Wilmut, - 1977). Este asunto será tratado en el siguiente capítulo.

Corolario:

- Hay evidencia de que el porcentaje de mortalidad embrionaria se incrementa a medida que la tasa ovulatoria aumenta.
- La distribución de pérdidas embrionarias en ovulaciones sencillas o múltiples, es compatible con un modelo binomial, en donde la supervivencia de un embrión es independiente de la supervivencia o muerte de aquellos otros embriones presentes en el mismo tracto.
- La migración embrionaria transuterina, es un fenómeno no aleatorio dirigido a la distribución espacial de los embriones, y se traduce en una mayor

supervivencia embrionaria al evitarse la sobrepoblación de un sólo cuerno uterino.

4.2 Efecto de la raza, selección y cruzamientos.

Se conoce poco acerca de la influencia del genotipo sobre la mortalidad embrionaria, en el cuadro 2.1 aparecen estimaciones de la mortalidad embrionaria basal en varias razas de ovejas; puede observarse que aunque las estimaciones no difieren consistentemente entre razas, si sugieren la existencia de diferencias raciales, es decir, que es posible que haya un grado de variación genética para esta característica, como de hecho la debe haber; no obstante, no es posible, basándose en los datos del cuadro, establecer paralelos confiables, dado que las comparaciones no son directas, representando -- las diferentes estimaciones una amplia variedad de ambientes y métodos de evaluación.

Giles (1971) reporta un estudio hecho para comparar los performances reproductivos de ovejas Peppin Merino y Bungereae; observó que el 17% y el 47% de estas ovejas retornaron a estro después de ser apareadas. Posteriormente, un 87% de las Merino y un 68% de las Bungereae, parieron después de la época de empadre. En ambos parámetros, las diferencias entre las dos razas fueron significativas y como los resultados no arrojaron indicaciones de diferencias importantes en las tasas de fertilización, la diferencia en las tasas de retorno a servicio probablemente se deba a una alta proporción de ovejas Bungereae que perdieron sus embriones después de la fertilización.

Existe la posibilidad de que algunas diferencias raciales en mortalidad embrionaria, operen a través de diferencias a la tolerancia a factores ambientales, como lo sugieren algunos hallazgos efectuados en experimentos nutricionales. Así, vemos que Cumming et. al. (1975), trabajando con 1000 ovejas de las razas Merino y Border Leicester X Merino, aplicaron tres niveles nutricionales (25%, 100% y 200% de la ración de mantenimiento) a grupos de ovejas de ambas razas. Observaron que en los niveles nutricionales 100% y 200%, la mortalidad embrionaria fué mayor en las ovejas Merino; en el nivel 25%, la situación fué inversa. En general, la mortalidad embrionaria fué significativamente mayor en las ovejas Merino y la diferencia más notable ocurrió en las ovuladoras dobles. Foota et. al. (1959) citado por Boyd (1965), en un experimento nutricional que abarcó tres años, encontró que las ovejas

Columbia perdieron menos embriones que las Hampshire, ya fuera que sus embriones fueran de raza pura o cruce. Por otra parte, Gunn and Doney (1979) y Gunn, Doney and Smith (1979 a), han encontrado lo que parece ser una diferencia evidente en la mortalidad ocurrida en dos clases de ovejas de la misma raza (Cheviot del Norte y Sur de Escocia). Se notó que hubo un mayor número de pérdidas embrionarias en las ovejas del Norte y la diferencia fué constante en las dos condiciones corporales estudiadas.

Está ya demostrado que hay diferencias raciales en la tolerancia a las temperaturas ambientales elevadas (Hutchinson and Wodzicka-Tomaszewska, 1961) sugiriendo Thwaiten (1967) que las diferencias raciales en la mortalidad embrionaria inducida por elevadas temperaturas ambientales, son primordialmente consecuencia de las diferencias raciales en la tolerancia al calor.

Se ha especulado con la posibilidad de que el útero de ciertas razas de ovejas sea "superior" al de otras. Con el fin de comprobar tal hipótesis, se ha utilizado la transferencia embrionaria; así, Moore (1966), usando un método por medio del cual óvulos fertilizados fueron transferidos recíprocamente entre ovejas Border Leicester y Merino, observó que mientras que la proporción de receptoras que quedaban preñadas no fué afectada por la raza de la oveja, hubo una mayor capacidad de las ovejas Border Leicester para mantener gestaciones múltiples. Con esta misma hipótesis, Hanzaban and Quirke (1977) diseñaron un experimento en el que compararon dos razas de ovejas que, se había visto, tienen diferentes tasas ovulatorias (T.O.) y diferente tamaño de camada (T.C.). Se observó que cuando se transplantaron uno, dos o tres cigotos a ovejas Finnish Landrace (T.O.= 3.8; T.C.= 2.6), o Galway (T.O.= 1.7; T.C.= 1.4), no hubo diferencia en la mortalidad embrionaria. Sin embargo, cuando el número de cigotos transplantados fué de seis, la mortalidad embrionaria fué de 64% para las Finnish Landrace y de 72% para las Galway. Aunque la diferencia no alcanzó significancia estadística, sugiere que el útero de las ovejas Finnish Landrace puede ser superior al de las Galway, al tener una capacidad mayor para mantener gestaciones múltiples.

En cuanto al efecto del cruzamiento de razas sobre la mortalidad embrionaria, Ricordeau et. al. (1976) reporta un estudio sobre el performance reproductivo de ovejas Ferrichones du cher, Romanov y sus cruces. En total se estudiaron 176 ovejas pertenecientes a seis grupos genéticos: las dos razas progenitoras Ferrichones du cher y Romanov; la F1 y F2; las dos retrocruzas CR*BC y CR*RO. Se notó que la importancia de las pérdidas dependió de la e-

dad, ya que en el primer año las pérdidas fueron altas; después de un año, con la misma tasa de ovulación (2 Cl), las pérdidas fueron más altas para las Berrichones (29.4%) que para las Romanov y cruces (5% a 10%) y, finalmente, las pérdidas totales, calculadas sobre las ovejas servidas, fueron más altas para las dos razas progenitoras que para las cruces.

Mientras que en el cerdo han sido demostrados efectos familiares sobre la mortalidad embrionaria (Boyd, 1965), en la oveja no parece haber mucha información al respecto. Hafez (1984) considera a la consanguinidad como una causa posible de mortalidad embrionaria; Lax and Brown (1968) citados por Edey (1969) y Lamberson and Thomas (1985) reportan significativas reducciones en la fecundidad y fertilidad de ovejas consanguíneas sin determinar si el efecto opera a través de mortalidad embrionaria. En relación a esto, Poney and Smith (1968) realizaron un estudio para examinar las razones de la baja fertilidad en un rebaño de ovejas consanguíneas de la raza Scottish Blackface. Las ovejas eran producto del apareo de padres con hijas, y fueron servidas por carneros sin parentesco alguno con ellas; se efectuaron sacrificios de ovejas a los cuatro días post coito y a los 25 días post coito. De las 41 ovejas apareadas, en 16 (39%) no hubo posibilidad de que produjeran al menos un cordero; las causas incluyeron: Seis ovejas no ovularon; cuatro ovejas tuvieron cigotos no divididos o con divisiones anormales; seis ovejas tuvieron embriones implantados pero no viables. Estos resultados sugieren que la infertilidad de ovejas consanguíneas puede ser atribuida a varios factores, entre los que destaca la mortalidad embrionaria. Respecto al mecanismo de las muertes embrionarias, se ha propuesto que uno de los efectos de la consanguinidad es incrementar la sensibilidad de algunos individuos al stress ambiental (Shelton, Rendel and Finlay, 1964 citados por Poney and Smith, 1968); esto es apoyado en cierta forma por Hafez (1984), quien indica que en la oveja, la consanguinidad de la madre contribuye más a la reducción del tamaño de la camada que la consanguinidad del embrión.

Parece no estar muy claro si existe relación entre la mortalidad embrionaria y la cantidad de lana en la cara de la oveja. Por una parte, Cockrem, Barton and Rae (1956); Inketer (1956) y Cockrem and Rae (1966) citados por Cumming et. al. (1975), han relacionado la cantidad de lana en la cara, con diferencias en los porcentajes de partos dentro del rebaño; Cumming and McDonald (1970) reportan un estudio realizado con ovejas Romney adultas utilizando transferencia embrionaria y servicio natural. Encontraron que entre --

las ovejas a las que se transplantaron dos embriones, hubo diferencias significativas en la cantidad de lana en la cara (kg/cm^2) de ovejas con diferentes números de embriones supervivientes; así, la cantidad de lana en la cara de ovejas gestantes fué menor que en las no gestantes, no obstante, no se observó ninguna relación clara en otras ovejas después de transferirles uno o cuatro embriones o después del servicio natural. Posteriormente, Cumming et al (1975) reporta un experimento realizado con ovejas Marino y Marino X Border Leicester, en el que, aunque se observó que las ovejas Marino con la cara descubierta mostraron una tasa ovulatoria mayor, no hubo evidencia de que la cubierta de la cara estuviera relacionada a la mortalidad embrionaria.

Existe evidencia en bovinos, cerdos y pollos de una asociación entre -- pérdidas embrionarias e incompatibilidad entre los padres respecto a los patrones séricos de E-globulinas (Baird, 1965). Puesto que en las ovejas también han sido demostradas tales diferencias en los patrones de E-globulinas (Ashton and Mc Dougall, 1958 citados por Eley, 1969), esta puede ser igualmente un factor asociado con la mortalidad embrionaria en esta especie.

Otro genotipo posiblemente implicado en la mortalidad embrionaria ha sido reportado por Schinkel (1955) citado por Eley (1969), quien notó una deficiencia significativa de progenie hembra entre la descendencia de ovejas Marino seleccionadas para lana fina de neonatos; esto pareció ser debido a la muerte de un número desproporcionado de embriones hembra.

Sobre la posibilidad de que dentro de una raza de ovejas se puedan seleccionar ovejas para mejorar la supervivencia embrionaria, Hanrahan and Quirke (1985) reportan haber obtenido algunas evidencias que concuerdan con la idea de que la repetibilidad y heredabilidad (h^2) de la supervivencia embrionaria como un rasgo de la oveja son ambas de cero.

Corolario:

- Es muy factible que haya diferencias raciales en la tasa de mortalidad embrionaria basal, aunque hacen falta más trabajos experimentales que hagan comparaciones directas entre razas.
- Experimentalmente, se han obtenido algunas evidencias de que, como respuesta a factores ambientales, pueden expresarse diferencias raciales en la ta

sa de mortalidad embrionaria.

- Se ha observado que algunas razas de ovejas tienen mejores tasas de supervivencia embrionaria que otras cuando sus gestaciones son múltiples. Esto parece estar relacionado a la tasa ovulatoria de cada raza.
- Tal parece que en la oveja, como en otras especies, la consanguinidad puede tener un efecto negativo sobre la supervivencia embrionaria.
- Es incierto si existe relación entre la cantidad de lana en la cara de la oveja y la tasa de mortalidad embrionaria que ésta experimenta.

4.3 Efecto del padre.

Hasta ahora, se ha hablado de efectos genotípicos sobre la mortalidad embrionaria, haciendo referencia casi exclusivamente a las hembras. Sin embargo, está bien documentada la posibilidad de que una parte considerable de la mortalidad embrionaria corresponda a un efecto del macho (Salisbury, 1969; Salisbury and Hart, 1970 citados por Burfening, Friedrich and Van Horn, 1977; Bishop, 1964; Ulberg and Burfening, 1967). Así, vemos que Bellows et. al. (1963) citado por Eley (1969), reporta lo que parece ser un efecto paterno sobre la mortalidad embrionaria en interacción con la alimentación: la alimentación con granos a ovejas Columbia y Hampshire que portaban embriones producto de su apareo con carneros Columbia, no tuvo efecto perjudicial sobre los embriones, mientras que ovejas de ambas razas, apareadas con carneros Hampshire, perdieron una gran cantidad de embriones con la alimentación mencionada. Por su parte, Hulet, Foote and Blackwell (1965), estudiaron la correlación existente entre la fertilidad del carnero y la fecundidad de las ovejas por él servidas, encontrando que hubo correlación entre la calidad del semen y la fecundidad, y una correlación altamente significativa entre la fertilidad y la fecundidad, de forma que esta última fué atribuida a la capacidad fertilizante de los espermatozoides, sobre la base de que la posibilidad de fertilización de un óvulo es independiente de la posibilidad de fertilización de otro óvulo presente en el mismo tracto reproductivo. De esta manera, descartaron la posibilidad de que hubiera una cocorrelación genética entre los dos rasgos o características estudiadas (fertilidad y fecundidad), y de que los carneros pudieran haber variado su contribución a la mortalidad embrionaria, la cual participa en la correlación fertilidad-fecundidad. Contrariamente, ya ha sido argumentado que más que como un fenómeno de independencia, la fertilización se comporta como un fenómeno de "todo o nada", y es sobre esta base que Lino and Braden (1968),--quienes también encontraron correlaciones entre la calidad del semen y la fecundidad-- han concluido que la contribución del carnero a la mortalidad embrionaria es un factor importante en su influencia sobre la fecundidad de la oveja.

En relación a lo anterior, Burfening, Friedrich and Van Horn (1977) re-

portan un estudio hecho para evaluar el papel de la mortalidad embrionaria en ovejas servidas por carneros seleccionados para alta y baja prolificidad. Los resultados de más importancia indican que las ovejas servidas por carneros seleccionados para alta prolificidad tuvieron menores porcentajes de mortalidad embrionaria (11%), que las ovejas servidas por carneros de baja prolificidad (19%); asimismo, el porcentaje de ovejas que quedaron gestantes fue de 86% y 82% respectivamente. Todo esto redundó en que hubiera diferencias significativas en el número de corderos nacidos por cada 100 ovejas expuestas, y número de corderos nacidos por cada 100 ovejas paridas. Puesto que no hubo diferencias en la tasa de fertilización para ambas líneas de carneros y que las estimaciones de pérdidas embrionarias se hicieron al día 35 post coito, este estudio apoya fuertemente la idea de que el carnero afecta el porcentaje de mortalidad embrionaria y sugiere que, quizá, las diferencias en la prolificidad de los carneros operen en gran parte a través de diferencias en la supervivencia embrionaria.

Conclusión:

- Hay en la literatura varias evidencias que sustentan la idea de que una parte considerable de la mortalidad embrionaria corresponde a un efecto del macho.

4.4 Efecto de la edad de la madre.

Se ha observado que, en términos generales, la edad de la oveja tiene relación con su performance reproductivo; así, Turner and Dolling (1965), estudiando ovejas de edades entre los dos y diez años, reportan que el performance reproductivo se incrementa con la edad hasta alcanzar un pico máximo y posteriormente declina, sin embargo, si se observan varios parámetros reproductivos por separado, es posible notar que estos alcanzan sus picos máximos a edades diferentes, e.g.:

- + Número de ovejas paridas por ovejas expuestas al carnero: pico máximo a los 5 - 6 años.
- + Número de corderos nacidos por oveja expuesta al carnero: pico máximo a los 7 años.
- + Número de nacimientos múltiples por oveja expuesta al carnero: pico máximo a los 7 - 8 años.

Sin tomar en cuenta que los picos de estos parámetros o del performance reproductivo total pueden variar entre rebaños, mamejos, razas, regiones, etcétera, es obvio que estos reflejan la interacción de varias etapas del ciclo reproductivo, tales como la incidencia del estro, tasa ovulatoria, tasa de fecundación, mortalidad embrionaria y mortalidad fetal, de entre las cuales nuestro interés específico se centra en la relación que pueda existir entre la edad de la oveja y la magnitud de las pérdidas embrionarias que esta experimenta. De tal forma, vemos que han sido reportados varios estudios que examinan esta posibilidad, entre ellos está Restall et. al. (1976 b), -- que en un estudio realizado en un rebaño comercial para analizar un problema de infertilidad, comparó ovejas primerizas con ovejas adultas (cuatro diestras o más), y menciona que un 86% y 42% de los óvulos liberados por ovejas -- primerizas y adultas respectivamente, se perdieron. En ambos grupos la causa principal de pérdidas fué la mortalidad embrionaria temprana, con un 53% y -- un 82% del total de óvulos perdidos en primerizas y adultas, respectivamente. Estas observaciones coinciden con lo encontrado por Edgar (1962), quien determinó la mortalidad embrionaria en ovejas de 1 1/2 y 5 años, encontrando -- también que esta fué mayor en las ovejas jóvenes (10%) que en las ovejas a--

dultas (0%), notando además que en las primeras, el cigoto tuvo tendencia a pasar más rápido al útero (3^{er} día) que en las segundas (4^o día), hecho al que se atribuyó la mayor mortalidad embrionaria observada. Adicionalmente, Marshall, Easton and Lightfoot (1977) y Tyrrell et. al. (1979), todos trabajando con ovejas Merino primerizas y adultas por períodos de dos y tres años respectivamente, han encontrado también que las ovejas jóvenes muestran tener tasas más altas de mortalidad embrionaria.

Sin embargo, no todos los hallazgos reportados coinciden con la tendencia ya expuesta; podemos encontrar reportes contrarios u otros en donde no se observó diferencia alguna. En el primer caso, Lolling and Nicolson (1967) realizaron un estudio con ovejas Merino, en el que se comparó la mortalidad embrionaria ocurrida en ovejas jóvenes (1 1/2 años de edad) y adultas (cuya edad fluctuó entre los 8 1/2 y los 11 1/2 años de edad). Las estimaciones se hicieron en base a sacrificio al día 28 y se obtuvieron dos parámetros principales a saber:

a) Tomando como base el número de ovejas en que no se diagnosticó gestación, como un porcentaje de todas las ovejas que se esperaban gestantes.

Ovejas adultas 10.1% - 12.0%

Ovejas jóvenes 2.7% - 3.8%

b) Tomando como base el porcentaje de cuerpos lúteos no representados por embriones normales en las mismas ovejas.

Ovejas adultas 18.6% - 20.6%

Ovejas jóvenes 4.7% - 5.7%

En general, los datos muestran que las ovejas adultas sufrieron una pérdida embrionaria más grande que las jóvenes, no obstante, aunque las diferencias mostraron ser estadísticamente significativas para todos los valores, debe tomarse en cuenta la avanzada edad de las ovejas adultas.

En el segundo caso, existen dos reportes en los que las estimaciones de pérdidas basales no apoyan una diferencia consistente en el efecto de la edad. Mullaney (1966) citado por Edey (1969) realizó una estimación que, aunque hecha por medios indirectos, es de una muestra tan grande (2451 ovejas primerizas de dos a tres años y 7304 ovejas adultas, en los mismos rebaños, durante varios años) que proporciona un cálculo confiable. Las tasas de mortalidad embrionaria obtenidas fueron de 23.7% y 22.8% para ovejas jóvenes y adultas respectivamente. Por su parte, Knight et. al. (1975), en una forma similar y también con una muestra grande (25,571 ovejas Merino) observó que la tasa de mortalidad embrionaria (28-30%) no varió significativamente entre ovejas primerizas y adultas.

En vista de las evidencias conflictivas presentadas, no es posible inferir conclusiones definitivas, no obstante, si es posible notar que, con variaciones, la edad de la oveja puede influir en la tasa de mortalidad embrionaria basal que esta experimenta; el grado en que se da esta influencia y la forma como cambia a través de la vida reproductiva de la oveja, está aún por definirse.

En cuanto a interacciones entre la edad y algún factor inductor de muerte embrionaria, Bennett et. al (1964) citado por Edey (1969), obtuvo alguna evidencia de mortalidad embrionaria incrementada por subnutrición en ovejas jóvenes, mientras que ovejas adultas, sometidas al mismo régimen, no sufrieron aumento en sus pérdidas embrionarias. Sin embargo, Mackenzie and Edey -- (1975 a), como resultado de un experimento similar al anterior, concluyen -- que si los pesos corporales son similares, las ovejas primerizas de 1 1/2 años, no son necesariamente más susceptibles que las ovejas maduras a la mortalidad embrionaria inducida por períodos de severa subnutrición.

En los reportes examinados hasta ahora, la regla general ha sido comparar ovejas primerizas con edades que oscilan entre 1 1/2 y 2 1/2 años y ovejas adultas, esto acarrea que se confunda, o mejor, que no sea posible diferenciar efectos de la edad de la oveja y efectos del número de partos que esta tiene. Pocos reportes hay que traten exclusivamente del efecto de los partos; Gullivan et. al. (1966 a), comparó ovejas Romney Marsh de 2 1/2 años de edad, la mitad de las cuales habían parido en el año precedente y la otra mitad no; las tasas de mortalidad embrionaria calculadas para las dos clases de ovejas fueron respectivamente de 22% y 16%. Hubo diferencia, aunque esta no alcanzó significancia estadística. Un reporte que parece diferir del anterior es el de Shelton (1962), quien, aunque no evaluó la mortalidad embrionaria, menciona que ovejas que estuvieron vacías en un año, tuvieron un performance de partos menor al año siguiente que ovejas que habían criado regularmente, la diferencia condujo a que en aquellas hubiera un 25% menos corderos que en las segundas.

Un asunto en el que no parece haber controversia es el que se refiere al performance reproductivo de ovejas de menos de un año de edad, el consenso es que las tasas de concepción y parición son más bajas en corderas que en ovejas de un año o más (Gordon, 1967; Forrest, 1974 citados por Quirke -- and Hanrahan, 1977). Dyrmondsson (1973) citado por Easra and Bryant (1979),

también ha llegado a la conclusión de que, aunque el éxito reproductivo varía considerablemente entre y dentro de razas, las ovejas de menos de un año de edad tienen menor probabilidad de alcanzar una gestación exitosa que las ovejas maduras. De esta manera, la observación hecha en ovejas jóvenes de que el número de ovejas que completa gestaciones exitosas es substancialmente más bajo que el número de aquellas que son marcadas durante el período de servicio (Richard et. al., 1974; Keane, 1974 citados por Hamra and Bryant, 1979), a conducido a sugerir problemas de comportamiento al servicio (Keane, 1974) y alta incidencia de mortalidad embrionaria (Richard et. al., 1974). Al respecto de esta última posibilidad, Eney, Kilgour and Bremner (1976) reportan una alta tasa de retornos a servicio antes de los 40 días en corderas de cinco a seis meses, los datos indicaron que estos retornos se debieron a falla en la fertilización y a mortalidad embrionaria. Por su parte, Hamra and Bryant, (1979) investigaron, entre otras cosas, cómo se comportaba la mortalidad embrionaria en ovejas de ocho meses de edad y registraron que esta fluctuó entre 30% y 41%, siendo la mayoría pérdidas preimplantación; Hamrain (1964) ha reportado tasas similares (35.5%).

Algunos investigadores han buscado la posible razón de que es de tal pérdida de embriones en la ovejas muy jóvenes. Así, con este fin, Quirke and Hanrahan (1977), examinaron la supervivencia de cigotos en división, pertenecientes a ovejas de ocho meses y ovejas adultas de tres a cinco años, todas de raza Galway. El método empleado consistió en transferir dichos cigotos al útero de ovejas adultas. Los resultados mostraron que sólo un 33% de los cigotos provenientes de las corderas fueron representados por corderos, contra un 72.9% de los cigotos provenientes de ovejas adultas, siendo significativa la diferencia; así, los resultados muestran que cuando las condiciones de supervivencia son iguales, el potencial de desarrollo de cigotos provenientes de corderas es de menos de la mitad que el observado para embriones similares originados en ovejas adultas. El mismo fenómeno ha sido reportado por Wright et. al. (1976) que trabajó en cultivo de embriones. Pese a esto, no es posible discernir si la menor capacidad de los embriones para sobrevivir es inherente al embrión por sí mismo, o si es el resultado de su exposición a un medio hostil en el tracto reproductivo del animal donador antes de realizarse la recolección; asimismo, no se ha determinado el momento de la etapa embrionaria en que el desarrollo se detiene, ya que Trounson, Willadsen and Moor (1977) han demostrado que cigotos de corderas Welsh Mountain (edad de 10 a 16 semanas) desarrollan normalmente, al menos hasta el período de morula, cuando son cultivados en oviductos de coneja.

Corolario:

- Aunque la literatura no es unánime, la tendencia general muestra que la edad de la oveja puede tener influencia sobre la supervivencia embrionaria, observándose que esta influencia es negativa en ovejas jóvenes (\pm 1 1/2 años) o muy viejas; no obstante, hace falta mayor información al respecto y en lo referente a la relación entre el número de partos de la oveja y la mortalidad embrionaria que exhibe.
- Es posible que el bajo performance reproductivo observado en ovejas de menos de un año de edad, sea debido, al menos en parte, a que estas sufren tasas elevadas de mortalidad embrionaria.

4.5 Factores letales y anomalías cromosómicas.

Stormont (1958) citado por Edey (1969), enlistó 11 condiciones letales conocidas en la oveja pero, con excepción de una, los productos afectados sobreviven hasta el parto. Las condiciones letales que operan al inicio de la gestación, son de difícil detección en los animales domésticos, aunque Morley (1954 b) citado por Edey (1969), ha reportado muertes en el período embrionario causadas probablemente por un gen recesivo letal.

El advenimiento de técnicas que hacen posible el estudio de preparaciones cromosómicas ha permitido que, al examinar blastocistos en etapa de preimplantación, provenientes de cerdos y bovinos, se demostrara que cierto número de estos presentan cariotipos anormales (McFeeley, 1967; McFesly and Rajkoski, 1968; Moon et. al., 1975 citados por Long and Williams, 1978); en la oveja, la situación parece ser un poco diferente, ya que Long (1977) citado por Long and Williams (1978), examinando blastocistos entre los días 10 y 18 post coito, no pudo detectar dichas anomalías cromosómicas, sin embargo, cuando el examen se hizo en cigotos recolectados a los dos días post coito, fué posible detectar células incuestionablemente anormales (Long and Williams, 1978). El significado de estos hallazgos es que está ahora demostrado que la oveja produce cigotos cromosómicamente anormales; puesto que estas anomalías no fueron detectadas en la etapa de blastocisto tardío, se infiere que las anomalías cromosómicas son responsables de, al menos, algunas pérdidas embrionarias tempranas en la oveja (op. cit.). El desbalance genético creado por la anomalía cromosómica es tal, que la embriogénesis es detenida inmediatamente, o en etapas muy tempranas (Hare, 1980).

El diagnóstico de la muerte embrionaria debida a anomalías cromosómicas depende de la capacidad para demostrar la presencia en el material embrionario de anomalías que son incompatibles con la vida. Las preparaciones cromosómicas son hechas por método directo o después de cultivo celular (Hare, 1980).

Por último, Bishop (1964) enuncia que el significado biológico de la reproducción sexual se halla, principalmente, en el hecho de que cada fertilización da origen a una nueva combinación de material genético; cada fertili-

sación, por tanto, puede considerarse como un experimento genético e, inevitablemente, este experimento puede fallar algunas veces; los factores genéticos involucrados, no son necesariamente hereditarios, sino que la mayoría probablemente surgen de novo en cada generación y algunos probablemente surgen en los gametos. De estas anomalías genéticamente determinadas, es probable que la mayoría sea eliminada por medio de la muerte embrionaria.

Corolario:

- Se ha demostrado que la oveja produce alguna cantidad de cigotos cromosómicamente anormales, estas anomalías son responsables de algunas pérdidas embrionarias tempranas.

5. Efecto del stress sobre la mortalidad embrionaria.

En la literatura relacionada con mortalidad embrionaria, el término "stress" ha sido usado en forma algo irrestricta, como en "stress térmico", "stress nutricional", etc..., algunas veces sin mucha consideración al modo de acción del factor en cuestión. No obstante, en general los investigadores han mostrado conciencia de que sus tratamientos son confundidos con los efectos de factores tales como el manejo intensivo del rebaño, el arreo, los gritos, el ruido, la presencia de perros y sus ladridos, el encierro y apiñamiento en corrales y mangas, cirugía menor, la sujeción misma de la oveja, la cual se da durante las tareas de inoeminación (Edey, 1979; Durán del campo, 1980). Al buscar la forma en que estos factores operan, también ha sido práctica común el dirigirse al concepto de Síndrome de Adaptación General de Selye (1946) citado por Edey (1969): "Condiciones ambientales adversas, frecuentemente resultan en un incremento de la actividad secretora de la corteza adrenal". De esta manera, se ha buscado evidencia de que los tratamientos aplicados estén teniendo un efecto sobre la corteza adrenal (e.g. Thwaites, 1970; Griffiths, Gunn and Doney, 1970). Asimismo, el descubrimiento de que dosis altas de ACTH o cortisona, incrementan la mortalidad embrionaria en ratones y conejos (Velardo, 1957 citado por Edey, 1979), ha engendrado la idea de que en la oveja, los factores causantes de stress, pueden no solamente estar causando un incremento en la actividad de la corteza adrenal, sino que los altos niveles de corticosteroides pueden ser, de hecho, los causantes de muerte embrionaria. Los resultados de estudios que ponen a prueba esta hipótesis son diversos: Howart and Hawk (1966) citados por Edey (1969), obtuvieron alguna evidencia de que inyecciones de cortisol, durante el inicio de la gestación, causaron muerte embrionaria. Edey and Thwaites (1968) citados por Edey (1969) y Thwaites (1970), no fueron capaces de confirmar esto, aunque encontraron que 60mg de cortisol diarios, desde el día 0 al 20, causaron disminución del tamaño embrionario a la necropsia en el día 23 de gestación. Resultados contrarios fueron hallados por Tilton et. al. (1972) citados por Edey (1979).

Posteriormente, Fraser, Ritchie and Fraser (1975) citados por Edey (1979), han indicado que los factores causantes de stress, producen muchas reacciones diferentes, que no necesariamente incluyen un incremento en la libera

ción de glucocorticoides. Ellos ofrecen la siguiente definición de stress en un contexto veterinario: "Se dice que un animal está en situación de stress si es exigido a hacer ajustes extremos o anormales de su fisiología o comportamiento para enfrentar aspectos adversos de su manejo y ambiente". Esta definición parece encajar con la forma en la cual la mayoría de los investigadores ha usado el término, pero es claro que se debe continuar investigando acerca de los caminos por los cuales actúan los factores causantes de stress, y no necesariamente atribuir un papel de mando a la corteza adrenal. Tal es el caso de Rhind et. al. (1984 a) quienes, aunque de forma infructuosa, buscaron experimentalmente encontrar relaciones entre el stress climático y de manejo y variaciones en los niveles de algunas hormonas (e.g. Progesterona, Prolactina, FSH, LH) que pudieran afectar la supervivencia embrionaria. Por lo demás será importante que en el futuro se utilicen técnicas experimentales que permitan la imposición de un stress elegido, minimizando mientras los efectos colaterales de otros factores causantes de stress (Edey, 1979).

Corolario:

- Es incierta aún la posibilidad de que el stress sea una causa de muerte embrionaria, debido a que se ha tratado de encontrar evidencia de que este actúa a través de un incremento en la actividad secretora de la corteza adrenal, habiéndose visto que la administración de cortisol en la preñez temprana tiene, a lo sumo, un efecto de retardo en el crecimiento embrionario.

6. Efecto de las pasturas estrogénicas sobre la mortalidad embrionaria.

Bennetts, Underwood and Shier (1946) citados por Turnbull, Braden and George (1966), observaron que ovejas que pastaban en ciertas praderas de trébol, mostraron una fertilidad pobre y concluyeron que este fenómeno se debió a que las pasturas contenían estrógenos.

Estudios químicos y biológicos han indicado que el Trébol Rojo (Trifolium pratense) contiene estrógenos (Barclatt et. al., 1948; Legg, Curnow and Simpson, 1950; Cunningham and Hogan, 1954; Pope and Wright, 1954; Bausett and Whits, 1955; Pieterse and Andrews, 1956 citados por Barrett, George and Lamond, 1965); otra especie de trébol identificada por producir efectos estrogénicos es el Trébol Subterráneo (Trifolium subterraneum) (Lightfoot, 1972 citado por Adams, 1975; Wroth and Lightfoot, 1976).

Barrett, George and Lamond (1965) reportaron una demostración experimental de la declinación progresiva en la fertilidad de ovejas que consumían pasturas estrogénicas. En un período de seis años, observaron que el número de partos, como un porcentaje de las ovejas expuestas a los carneros, cayó progresivamente de 87% a 25% en ovejas pastando Trébol Rojo durante ocho meses por año, comparado con una declinación de 87% a 66%, en el mismo período, para ovejas que consumieron pasturas nativas o mejoradas. Las ovejas que fallaron para parir en algún año, tendieron a fallar en los años subsiguientes. Se examinó el útero de las ovejas que consumían Trébol Rojo y el resultado fue que casi en todas se observó una severa hiperplasia quística glandular del endometrio; no fueron bien determinadas las causas de la baja fertilidad en las ovejas que consumían Trébol Rojo, sin embargo, los autores concluyeron que era razonable sugerir la mortalidad embrionaria como una fuente relativamente importante; también sugirieron un mecanismo probable: El incremento en el número y tamaño de los quistes endometriales puede alcanzar un punto en el cual se hacen incompatibles con la supervivencia embrionaria, posiblemente a través de una disminución en la eficiencia de la implantación; es posible que la severidad de la hiperplasia se incremente, por lo que en años subsiguientes, el estadio de la preñez en que los quistes causen la eliminación del embrión, debe esperarse que sea cada vez más cercano al momento de la concepción.

Posteriormente, Turnbull, Braden and George (1966) hicieron investiga-

ciones con las mismas ovejas del estudio mencionado arriba, con el fin de dilucidar con más exactitud los mecanismos involucrados en la infertilidad. Para tal propósito, sacrificaron ovejas en los días 1, 3, 30 y 60 post coito. Los resultados obtenidos los llevaron a concluir que la principal causa de infertilidad en ovejas que han consumido Trébol Rojo por períodos largos (6 años), fué la ausencia de espermatozoides en el sitio de fertilización, pareciendo que en algunas ovejas hubo falla total del transporte espermático a los oviductos; también se concluyó que la mortalidad embrionaria fué un factor contribuyente a la infertilidad observada. Dicha mortalidad embrionaria, fué considerablemente mayor que la registrada en ovejas normales y de ocurrencia tardía.

Por su parte, Wroth and Lightfoot (1976), reportan un estudio del gasto reproductivo de rebasños comerciales pastando en praderas basadas en Trébol Subterráneo. La tasa de fertilización calculada fue de 73% y la mortalidad embrionaria fué de un mínimo de 27%, contrastando con una tasa de fertilización de 93% y mortalidad embrionaria de un mínimo de 22% calculadas en un estudio paralelo (Marshall, Beston and Lightfoot, 1976), con ovejas semejantes, que nunca consumieron pastura estrogénica. Estas observaciones coinciden con las tendencias vistas anteriormente. También se notó que aproximadamente un 50% de las muertes embrionarias ocurrió suficientemente tarde para retrasar los retornos a servicio hasta fechas entre los 26 y 42 días post coito.

Otra vía por la que se ha propuesto que la enfermedad del trébol causa muerte embrionaria, se origina en el hecho de que Adams (1975) ha encontrado una fuerte relación entre lesiones cervicales, propias de la enfermedad (e. g. quistes, metaplasia escamosa), y la presencia de bacterias en el útero, así como entre la presencia de bacterias en el útero y endometritis. El mecanismo sugerido propone que las lesiones cervicales facilitan la entrada de bacterias al útero, y que la endometritis causada, predispone hacia la mortalidad embrionaria, como ha mencionado Boyd (1969) citado por Adams (1975).

Por otro lado, Kelly, Shackell and Allison (1980), reportan el performance reproductivo de ovejas que consumieron Trébol Rojo a partir de ocho días antes de iniciar el empadre, hasta 17 días después de iniciado. Los resultados indicaron que la mortalidad embrionaria, medida por la diferencia entre el número de ovulaciones y número de corderos nacidos, no fué significativamente diferente entre ovejas que consumieron trébol rojo y ovejas con-

trol. Las diferencias observadas en el performance reproductivo de ovejas experimentales y control, se debieron a una reducción en la incidencia del astro, tasa ovulatoria y tasa de no retorno a astro en las ovejas experimentales.

Corolario:

- La mortalidad embrionaria es un factor contribuyente -- aunque no el más importante -- a la infertilidad observada en ovejas que han consumido pasturas estrogénicas por largos períodos.

7. Causas infecciosas de mortalidad embrionaria.

En los cerdos y los bovinos han sido bien identificados varios agentes infecciosos capaces de producir muerte embrionaria (Boyd, 1965), sin embargo, en la oveja la información al respecto es escasa y muy general.

Quinlivan et. al. (1966 b), siguieron una rutina de muestreo bacteriológico como parte de un estudio sobre mortalidad embrionaria en ovejas repetidoras, y concluyeron que un grado bajo de infección no es causa principal de mortalidad embrionaria. Por otra parte, Adams (1975), en un estudio a nivel de rastro, observó que una proporción significativa de las ovejas examinadas (27%), tenían infecciones subclínicas en el útero durante la temporada de oría y mencionan que, por tanto, existe la posibilidad de que las infecciones bacterianas puedan contribuir a las pérdidas reproductivas en la oveja, particularmente si se toma en cuenta que hay una gran relación entre la presencia de bacterias y la ocurrencia de endometritis, y que Boyd (1969) ha sugerido que la endometritis pueda predisponer a la muerte embrionaria. Los géneros bacterianos más frecuentemente observados en el útero de esas ovejas fueron: Corynebacterium, Escherichia, Streptococcus, Bacillus, Proteus. Los géneros que parecieron estar con más frecuencia asociados a endometritis fueron: Escherichia y Streptococcus. Debe notarse, sin embargo, la alta incidencia de lesiones producidas por la enfermedad del trébol que se observaron en dichas ovejas y que, se presume, esta enfermedad puede causar daño funcional al cérvix, permitiéndose así el paso de bacterias.

Durán del campo (1980) ha sugerido que las enfermedades febriles pueden originar muertes embrionarias actuando, fundamentalmente, a través del aumento en la temperatura corporal.

En cuanto a enfermedades por agentes infecciosos bien identificados, — Hartley (1961) y Jacobs (1961) citados por Blawett and Watson (1983), reportan que la infección por Toxoplasma gondii durante las fases tempranas de la gestación en la oveja, puede causar muerte del embrión, permaneciendo la oveja como si no hubiese sido fertilizada. Por su parte, Chapman (1980) ha enlistado los principales agentes infecciosos que se conoce causan mortalidad prenatal en la oveja (Cuadro 7.1). Como puede verse, en dicho cuadro sólo — destaca la Border Disease como causante de muerte embrionaria, así como de —

Cuadro 7.1

Mortalidad prenatal en ovejas debida a agentes infecciosos especificos.

| Agente etiológico | Etapa de la gestación en que ocurre la pérdida del producto (semanas de gestación) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-------------------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 |
| Campylobacter spp. | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Listeria monocytogenes | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Brucella spp. | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Salmonella spp. | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Leptospira spp. | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Francisella tularensis | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Yersinia pseudotuberculosis | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Aborto enzootico (Chlamydia) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Rickettsia phagocytophilia | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Fiebre Q. (Coxiella burnetii) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Mycoplasma agalactias | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Border disease | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Toxoplasma gondii | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Aborto micótico | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

Tomado de Chapman, R.M. (1980).

muerte fetal, abortos y muertes perinatales; apoyando esto, Jensen (1961) in dica que los productos en desarrollo son susceptibles al virus de la Border - Disease durante el primer trimestre de la gestación y subsecuentemente.

Corolario:

- Existe la posibilidad de que las infecciones bacterianas causen mortalidad embrionaria, pero la ocurrencia de esta posibilidad está condicionada a -- que haya situaciones que permitan la contaminación bacteriana del útero.
- Hay indicios de que la toxoplasmosis causa muerte embrionaria en las ove--
jas.
- Se ha reportado que la Border Disease puede causar muerte embrionaria en -
las ovejas.

8. Efecto de la condición de los gametos sobre la mortalidad embrionaria.

En este capítulo, nuestro interés no se ocupará de la incapacidad del - espermatozoide o del óvulo para consumar la fertilización, sino en las condiciones, no relacionadas con la inseminación artificial, que afectan a los gametos, permitiendo la fertilización, pero resultando en muerte embrionaria. De esta manera, vemos que el consenso es que la condición de los gametos al momento de la fertilización afecta la mortalidad embrionaria (Edey, 1979; Chapman, 1980).

Una de las principales condiciones observadas, es el envejecimiento de los gametos y las resultantes anomalías citogenéticas que producen muerte embrionaria temprana (Ulberg and Burfening, 1967; Edey, 1969, 1970; Chapman, 1980). En la monta natural, dicho envejecimiento ocurre como consecuencia de una pobre sincronización entre el servicio y la ovulación; para el espermatozoide, su deposición prematura en el tracto reproductivo femenino, -- significa un lapso de tiempo en un ambiente varios grados más caliente que -- en el escroto. En cuanto al óvulo, Salisbury (1955) citado por Edey (1969), reporta que el retraso en la fertilización del óvulo con espermatozoides -- frescos en varias especies de mamíferos (no incluida la oveja), resultó en -- una reducción de la tasa de fertilización, y entre aquellos que fueron fertilizados, hubo un marcado incremento en la proporción de embriones anormales; muchas de estas anomalías habrían conducido inevitablemente a la muerte del embrión. En la oveja, Braden (1964) menciona que para los óvulos no fertilizados, quizá debe esperarse un incremento en las anomalías morfológicas a medida que el tiempo pase después de la ovulación.

Otra condición que se ha manejado, está relacionada con la temperatura. Rathore (1968) citado por Edey (1979), reportó que el semen producido por -- carneros sometidos a elevadas temperaturas ambientales, ha mostrado ser capaz de fertilizar, pero esto es seguido por un alto nivel de mortalidad embrionaria. Respecto al óvulo, Dutt, Ellington and Carlton (1959) y Alliston, Egli and Ulberg (1961) citados por Braden (1964), han obtenido un incremento significativo de óvulos morfológicamente anormales, mediante la exposición -- de ovejas a elevadas temperaturas ambientales. Pese a esto, Woody and Ulberg (1964), han mostrado que no hay un efecto de la elevada temperatura sobre el óvulo, que permanezca latente hasta después de la fertilización, afectando --

la viabilidad embrionaria.

Corolario:

- El envejecimiento de los gametos es una de las condiciones que se sabe producen muerte embrionaria. En la monta natural dicho envejecimiento ocurre como consecuencia de una mala sincronización entre el servicio y la ovulación.
- Se ha visto que el semen producido por carneros sometidos a elevadas temperaturas ambientales es capaz de fertilizar, pero esto es seguido por una elevada mortalidad embrionaria.

9. Consecuencias de la mortalidad embrionaria sobre la eficiencia reproductiva del rebaño.

Al analizar las consecuencias que la mortalidad embrionaria pueda tener sobre la eficiencia reproductiva de la oveja y, por ende, del rebaño, se hace evidente que se debe partir del hecho de que ocurran o no, pérdidas de embriones, es decir, de la magnitud de la mortalidad embrionaria ocurrida.

La magnitud de la mortalidad embrionaria es variable, depende de la mortalidad embrionaria basal y de si existen o no muertes embrionarias inducidas por cualquiera de los factores causales identificados, como los que se muestran en esta revisión. No obstante la variabilidad que hemos mencionado, la generalidad de los investigadores coincide en reconocer la importancia de la mortalidad embrionaria como un fenómeno que contribuye a reducir el potencial reproductivo del rebaño; así, vemos que Ricordeau et. al (1976), considera que los dos componentes principales de la prolificidad, son la tasa de ovulación y la mortalidad embrionaria. Por su parte, Getzler, Newton and Mochan (1977), indican que la falla en la fertilización y la mortalidad embrionaria son las causas principales de pérdidas reproductivas en una explotación ovina típica. Estos reportes nos pueden dar una idea del papel que tiene la mortalidad embrionaria dentro del contexto del proceso reproductivo en su totalidad, y cuando nos restringimos únicamente a la gestación, vemos que sólo la mortalidad embrionaria basal, es ya considerada como la principal fuente de pérdidas en esta etapa (Quinlivan et. al, 1966 a; Dolling and Nicolson, 1967; Edey, 1979).

Es claro que en este trabajo no se puede dar una estimación cuantitativa de la importancia de la mortalidad embrionaria como contribuyente a disminuir la eficiencia reproductiva del rebaño, esto se debe a que su importancia depende de su magnitud, de su relación con otros fenómenos reproductivos y con el manejo reproductivo del rebaño, tal como veremos a continuación.

El primer efecto que tiene la mortalidad embrionaria sobre la eficiencia reproductiva, es la reducción directa del número potencial de corderos; sin embargo, este efecto puede no reflejarse como una caída dramática en el porcentaje de partos por, al menos, dos circunstancias a saber:

a) Si las muertes embrionarias ocurren lo suficientemente pronto, interrumpiendo la gestación en una etapa temprana, la oveja podría tener, al me-

nos, un servicio más antes de que finalice la temporada de empadre y los carneros sean retirados (Edey, 1979; Chapman, 1980).

- b) Una condición que puede no reflejarse en el porcentaje de partos, pero -- que si puede reducir grandemente el número de corderos nacidos, es la pérdida parcial de embriones en las gestaciones múltiples (Mattner and Franden, 1967; Dolling and Nicolson, 1967; Kelly and Allison, 1979; Kelly, -- 1982).

Así, vemos que, aunque en ciertas circunstancias la mortalidad embrionaria quizá no se refleje integralmente en el porcentaje de partos, si puede tener consecuencias, como retrasar las fechas de partos, espaciándolos en cuanto a su distribución; además, puede dejar algunas ovejas vacías si estas no tienen oportunidad de ser servidas de nuevo por haber finalizado la época de empadre, lo que depende de la estacionalidad y/o del manejo reproductivo del rebaño (Quinlivan et. al., 1966 a; Edey, 1979; Tyrrell et. al., 1979; Chapman, 1980), esto es en cuanto al inciso (a), refiriéndonos al inciso (b), vemos que el efecto principal observado, es una reducción de los partos gemelares (Edey, 1979; Chapman, 1980), esto es especialmente perjudicial por la dificultad que tiene esta condición para ser detectada.

La mortalidad embrionaria ejerce, además, una acción perjudicial sobre la eficiencia reproductiva tanto o más importante que las ya vistas. Esta se realiza a través de ciertas consecuencias que tiene sobre los acontecimientos reproductivos que suceden a la muerte embrionaria.

Al criador le interesa que de las ovejas servidas, el mayor número posible quede gestante; cuando la gestación es interrumpida a causa de la muerte del embrión o embriones que portaba la oveja, para que esta quede de nuevo -gestante, es necesario que vuelva a entrar en estro y que el óvulo u óvulos que libere, sean fertilizados. Es sobre estos fenómenos que la mortalidad embrionaria puede tener consecuencias perjudiciales.

I Efecto de la muerte embrionaria sobre la longitud del ciclo estral siguiente.

En un ciclo estral normal, en ausencia de preñez, el cuerpo lúteo inicia su involución alrededor del día 14 del ciclo y la oveja vuelve a entrar en estro alrededor del día 17 (Edey, 1967).

En un ciclo estral en el que hay concepción Moor and Rowson (1964) citados por Edey (1967) determinaron que la presencia de un embrión en desarrollo entre los días 12 y 13 del ciclo, parece dar la "señal" para impedir la involución del cuerpo lúteo cíclico, permitiéndose así el establecimiento de

el cuerpo lúteo de gestación. Ellos llegaron a esta conclusión al observar - que el remover el embrión del útero entre los días 12 y 13 del ciclo o antes, resultaba en ciclos de duración normal; si la remoción del embrión se - hacía después de este momento, el ciclo estral se alargaba. A la misma con- - clusión, pero en forma inversa, llegaron Moor and Rowson (1966), transplan- - tando embriones a ovejas no gestantes. Notaron que cuando la transferencia - se hizo al día 12 del ciclo estral o antes, se obtuvieron gestaciones en for- - ma consistente; cuando la transferencia se realizó al día 13, se obtuvieron pocas gestaciones y si esta se realizaba al día 14 no se impedía, en ningún caso, la involución del cuerpo lúteo.

La importancia del momento en que ocurre el reconocimiento materno de - la gestación, radica en que el efecto de la muerte embrionaria sobre la lon- - gitud del ciclo estral siguiente, depende de si esta (la muerte embrionaria) tiene lugar antes o después del reconocimiento. Así, Edey (1967); Thwaites - (1972); Dooley, Wodzicka-Tomaszewska and Edey (1974); Sawyer and Knight (19- - 75) y Land and Wilmut (1977), han demostrado ampliamente que la muerte del - embrión ocurrida en el día 13 de gestación o después, causa una extensión en la función secretora del cuerpo lúteo y, por tanto, un alargamiento del ciclo estral correspondiente, retrasando la fecha en que la oveja puede volver a presentar estro; por el contrario, cuando la muerte del embrión ocurre antes del día 13, el cuerpo lúteo involuciona y la oveja entra otra vez en estro alrededor del día 17, no dando evidencia de que había concebido (Edey, - 1967). Estos resultados coinciden totalmente con los hallazgos ya vistos de Moor and Rowson (1964, 1966).

En cuanto al mecanismo por el cual el ciclo estral se alarga, vemos que ya en 1963, Dutt, trabajando con ovejas a las que se indujo la muerte embri- - onaria por aumento de la temperatura ambiental, atribuyó los retrasos y fa- - llas para retornar al estro a la presencia de embriones degenerados en el ú- - tero de estas ovejas. Posteriormente, Edey (1967), indujo la muerte embri- - onaria mediante la inyección de colchicina directamente al lúmen uterino en los días 5, 7, 9, 11, 13, 15 y 19 de gestación, e indica que es razonable supo- - ner que la muerte embrionaria ocurrida en los días 5, 7, 9 y 11 no cause ex- - tensión del ciclo estral, si se piensa que después de ocurrir, la reabsor- - ción de una pequeña cantidad de material embrionario, presente en ese momen- - to, sería rápida y que el embrión muerto no proveería del estímulo necesario para impedir la involución normal del cuerpo lúteo, lo que sí sucede cuando la muerte tiene lugar en el día 13. Cuando la muerte del embrión acontece en

una etapa posterior, correspondiente a los días 15 y 19, no solo ya se ha establecido el cuerpo lúteo de gestación, sino que el volumen de material embrionario es mayor y el tiempo necesario para su reabsorción sería mayor. Actualmente, se sabe que la vía por la cual la presencia del embrión impide la involución del cuerpo lúteo está, al parecer, relacionada con una sustancia de naturaleza proteica llamada "trofoblastina", la cual se encuentra en el embrión a partir del día 12 de gestación y que, aparentemente, es el mecanismo por el cual el embrión contrarresta el efecto de la PGF_{2α} sintetizada en el útero (Martal et. al., 1979); no obstante, aún no se ha aclarado exactamente el mecanismo por el cual el útero o su contenido influye sobre el cuerpo lúteo (Hafez, 1984), ni es el propósito de esta tesis el aclararlo; sin embargo, se sabe que durante el proceso de absorción del embrión muerto después del día 13, los despojos aparentemente aún tienen la capacidad de mantener funcionando al cuerpo lúteo (Edey, 1967), este fenómeno lo notó igualmente Thwaites (1972), quien también indujo la muerte embrionaria con colchicina y reporta que los cuerpos lúteos observados, se mantuvieron normales en peso y contenido celular, tanto tiempo como fueron observados despojos embrionarios en el útero, asimismo, Deoley, Wodzicka-Tomaszewska and Edey (1974) han demostrado en ovejas cuyos embriones fueron muertos al día 13 de gestación que si se remueve el embrión muerto del útero, se logra una reducción significativa en la extensión del ciclo estral (25.1 días) comparada con la observada en ovejas donde el embrión muerto permanece en el útero hasta su absorción (30.5 días). De esta forma, se ve que el retraso en retornar a servicio después de la muerte embrionaria, resulta del retraso en la absorción de los despojos embrionarios, más bien que por alguna anomalía en la función ovárica.

Varios autores han tratado de relacionar el momento en que ocurre la muerte del embrión con el tiempo que tardan los despojos embrionarios en ser reabsorbidos, para esto, han matado los embriones con colchicina en diferentes períodos de la gestación y luego estudiado su correspondencia con la extensión del ciclo estral siguiente, es decir, con el tiempo al cual la oveja retorna a servicio. Se muestra un resumen de estos trabajos en el cuadro 9.1.

En este cuadro se observa lo que ya se ha descrito anteriormente. Cuando la muerte embrionaria ocurre al día 13 o después, los ciclos se prolongan significativamente si se comparan con los ciclos de ovejas control (Edey, 1967; Thwaites, 1972; Edey, 1972). También se observa que la muerte del embrión en el estadio de 15 días (clave 1, 6) y de 19 días (clave 1, 2), trae

Cuadro 9.1

| | Día en que muere el embrión | | | | | | | | | | | F. de D. | |
|--------------------------------------|-----------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|-----------|-------|--------|---------|----|----------|----|
| | Control | 5 | 7 | 9 | 11 | 13 | 15 | 17 | 19 | 20 | 25 | | 30 |
| D i e | 17.44 | 15.38 | 17.50 | 16.63 | 18.25 | 19.75 | 31.50 | | 35.75 | | | | 1 |
| | ± 1.06 | ± 2.16 | ± 0.94 | ± 1.56 | ± 2.49 | ± 0.90 | ± 7.16 | | ± 6.34 | | | | |
| d e | 17.40 | | | | | 20.00 | 25.30 | 35.20 | 40.00 | | | | 2 |
| | ± 0.3 | | | | | ± 1.3 | ± 1.1 | ± 0.9 | ± 3.8 | | | | |
| r e t o r n o | | | | | | | | | | (E1) 30 | 35 | 45 | 3 |
| | | | | | | | | | | (E2) 35 | 40 | 50 | |
| a | | | | | | | (G1) 36.6 | | | | | | 4 |
| | | | | | | | (G2) 31.7 | | | | | | |
| s e r v i c i o | | | | | | | (G1) 32.1 | | | | | | 5 |
| | | | | | | | + 1.8) | | | | | | |
| | | | | | | | (G2) 29.4 | | | | | | 6 |
| | | | | | | | ± 1.59 | | | | | | |
| | | | | | | | 30.50 | | | | | | 6 |
| | | | | | | | ± 8.3 | | | | | | |

Clave de la
fuente de da-
tos (F de D)

1 Edey (1967)

2 Thwaites (1972)

3 Sawyer and Knight (1975) dos experimentos (E) tratados igual

4 Edey (1972) dos grupos (G) tratados igual

5 Edey et.al. (1975) dos grupos (G) iguales

6 Dooley, Wodzicka-Tomaszewska and Edey (1974)

consigo, además de la extensión del ciclo estral, una variación en la longitud de la extensión observada entre individuos, expresada por el error estándar. Este hecho se debe probablemente a la mayor cantidad de despojos embrionarios que deben reabsorberse, además de que, como han indicado Edey (1967) y Land and Wilmut (1977), quizá cuando varios embriones mueran en una sola oveja, aún en etapas no muy tardías, puede esperarse que haya un retraso de varias semanas en el retorno a servicio como consecuencia de la gran cantidad de despojos que quedan en el útero.

En resumen, la muerte embrionaria después del día 13 de gestación, causa extensión del ciclo estral siguiente, dicha extensión puede ser variable y las principales consecuencias que tiene sobre la eficiencia reproductiva de la oveja son: atrasar la fecha de parto si la oveja pueda volver a quedar gestante o dejar a la oveja vacía si esta extensión del ciclo impide otro servicio para la oveja, ya sea porque haya terminado la época de empadre o porque en las razas estacionales la extensión del ciclo estral se haya prolongado hasta al período de anestro (Quinliven et. al., 1966 a; Edey, 1970).

II Efecto de la muerte embrionaria sobre la fertilidad en el ciclo estral siguiente.

Algunos autores, al estudiar los efectos de la nutrición sobre la mortalidad embrionaria, paralelamente han observado como se comporta la fertilidad de la oveja cuando esta retorna a servicio, después de haber sufrido la muerte del embrión o embriones que portaba. Por ejemplo, Edey (1970 a, b, c, d), en una serie de estudios en los que se trató de inducir la muerte embrionaria por subnutrición, observó que en uno de tres años que abarcó el experimento, hubo cierta tendencia en la fertilidad de las ovejas que, después de haber sufrido muerte embrionaria, retornaban a servicio y eran apareadas. Esta tendencia consistió en que un 75% de las ovejas que retornaban a servicio después de un ciclo estral normal (21 días o menos), concibieron y posteriormente parieron, mientras que sólo un 25% de las ovejas que retornaron a servicio después de ciclos largos (más de 21 días), concibieron y posteriormente parieron. La diferencia fué significativa estadísticamente. Cuando se compararon los datos de los tres años, se notó que la tendencia era semejante y también significativa. Mackenzie and Edey (1975 a, b) en dos experimentos nutricionales muy parecidos al anterior, observaron también el fenómeno descrito, aunque las diferencias sólo alcanzaron significancia en uno de ellos (1975 b).

Por otra parte, Edey (1972); Edey et. al. (1975) y Sawyer and Knight (1975), han desarrollado estudios específicamente diseñados para evaluar la fertilidad de las ovejas cuando vuelven a presentar estró después de ciclos largos, posteriores a la muerte embrionaria; con este propósito, han matado a los embriones con inyecciones de colchicina en diferentes períodos de la gestación. Los resultados se resumen en el cuadro 2.2; de los datos presentados en este cuadro, se puede concluir que hay un efecto perjudicial de la muerte embrionaria, asociada con ciclos estrales largos, sobre la fertilidad subsiguiente de la oveja cuando esta es servida al volver a entrar en estró. Por los demás, se debe notar que Edey (1972), indica que en ovejas ciclando, la colchicina administrada a un proscidio de 14.7 días antes del servicio, no tiene efecto detectable sobre la fertilidad, por lo que el deterioro de la fertilidad, observado en estos reportes, es improbable que se deba a la colchicina.

En lo que se refiere al mecanismo por el cual se produce la disminución de la fertilidad en los casos descritos, tenemos que O'Shea et. al. (1974) - citado por Sawyer (1977), reporta un deterioro en el transporte espermático en ovejas apareadas al siguiente estró después de sufrir muerte embrionaria. Edey et. al. (1975) también reportan un experimento diseñado para investigar la fertilidad y el transporte espermático al primer estró después de muerte embrionaria inducida al día 17. El examen del tracto reproductor reveló que la población espermática en vagina y cérvix, no difería entre ovejas que retornaron a servicio después de perder su embrión (experimentales) y ovejas control; sin embargo, en algunas ovejas experimentales, los espermatozoides no alcanzaron el útero o el oviducto y en las que los alcanzaron, los números fueron significativamente menores a los vistos en ovejas control. Asimismo, pudo comprobarse que en las ovejas experimentales, las carúnculas eran más grandes que en las ovejas control y que muchas estaban ligeramente hemorrágicas, lo que coincide con lo observado por Thwaites (1972), quien además, al examen histológico, observó erosiones en el epitelio de estas carúnculas. Así, estos dos autores postulan que la disminución en la fertilidad puede deberse a un deterioro en el transporte espermático o en la supervivencia embrionaria, en caso de haber fertilización en dicho servicio (Thwaites, 1972; Sawyer and Knight, 1975). Además, también se ha postulado que el deterioro en el transporte espermático puede ser agudizado por la gran proliferación bacteriana y leucocitaria observada en la vagina de ovejas a las que se indujo la muerte embrionaria (Sawyer and Knight, 1975). Sawyer (1977), estu--

Cuadro 9.2

| Día de la muerte del embrión | Día de retorno a servicio | Fertilidad estimada (%) | Fuente del dato |
|------------------------------|---------------------------|-------------------------|--------------------------|
| Día 17 (grupo 1) | 36.6 | 44.4 | Edey (1972) |
| Control 1 | | 80.0 | |
| Día 17 (grupo 2) | 31.7 | 42.8 | |
| Control 2 | | 75.0 | |
| Grupos 1 y 2 combinados | | 43.8 | + |
| Control 1 y 2 combinados | | 77.0 | |
| Día 17 | 29.4 | 12.5 | Edey et.al. (1975) |
| Control | | 59.0 | + |
| Día 20 | Promedio de 15.0 | | Sawyer and Knight (1975) |
| Día 25 | + 3.5 días con un | 22.7 | |
| Día 30 | rango de 6-32 días | | + |
| Control | | 80.0 | |

+ = Diferencia significativa

diando estas proliferaciones bacterianas, agrega que hay un cambio cualitativo y cuantitativo de la flora vaginal con respecto a la observada en ovejas ciclando normalmente, notándose gran número de microorganismos potencialmente patógenos, coincidiendo con lo reportado por Pathak and Kohli (1982) para ovejas que retornaron a servicio.

Corolario:

- Aunque la mortalidad embrionaria es una fuente importante de pérdidas en la gestación, puede tener poco efecto directo sobre el porcentaje de partos si las muertes embrionarias ocurren temprano en la gestación y las ovejas pueden ser servidas de nuevo.
- Algunos efectos directos de la mortalidad embrionaria sobre la eficiencia reproductiva del rebaño son: Reducir la tasa de partos múltiples, aumentar el número de ovejas vacías, dispersar las fechas de partos.
- Los embriones que mueren después del día 13, prolongan la vida secretora del cuerpo lúteo, resultando en un ciclo estral prolongado. La tasa de concepción en el servicio siguiente es a menudo baja.

10. Diagnóstico y estimación de la muerte embrionaria.

Diagnosticar la muerte embrionaria y estimar la magnitud de su ocurrencia en un conjunto de ovejas, son dos procedimientos básicos en las investigaciones sobre mortalidad embrionaria, tanto si se trata de identificar factores inductores de muerte embrionaria como cuando se intenta determinar cuál es la tasa de mortalidad embrionaria basal en una raza ovina o en un rebaño. La mayoría de las técnicas desarrolladas para un diagnóstico confiable de muerte embrionaria, sólo están al alcance de los trabajos experimentales por su alto costo y porque requieran ser realizadas por personal especializado.

- I) A continuación se describirán los métodos más usuales para llevar a cabo la determinación y cuantificación de la mortalidad embrionaria.
 - a) A partir de material de rastro.

En el caso de la oveja, si ocurren varias ovulaciones pero sólo un embrión se implanta, se formará y mantendrá un cuerpo lúteo en cada ovulación. Así, mientras un embrión persista, hay un registro en forma de cuerpos lúteos del número de óvulos originalmente liberados, aún cuando no todos hayan sido fertilizados (Edey, 1969), hecho que probablemente no sucede a menudo, ya que Restall et. al. (1976 a) y Geisler, Newton and Mohan (1977) han reportado que la fertilización se comporta como un fenómeno de todo o nada. También se ha visto que, dado el caso de que todos los embriones portados por una oveja murieran, aún después de que el último embrión muere, el cuerpo lúteo permanece por algún tiempo a causa de los restos embrionarios en degeneración presentes aún en el útero. Estas características, permiten cierta recopilación de datos acerca de la mortalidad embrionaria ocurrida en ovejas cuya historia reproductiva es desconocida y que son examinadas después del sacrificio en el rastro (Edey, 1969).

Donde se encuentran presentes uno o más cuerpos lúteos, el tracto reproductivo puede ser examinado para buscar la presencia y viabilidad de embriones. Puesto que la historia reproductiva no se conoce, los cuerpos lúteos jóvenes pueden ser meramente cíclicos sin embrión asociado o pueden estar manteniendo un cigoto o embrión, como lo mostraría un lavado del tracto. Donde ha ocurrido muerte temprana del embrión y reabsorción de este, un cuerpo lú-

teo debe estar presente aún y, en tal caso, no puede ser diferenciado de un cuerpo lúteo cíclico en ovejas no apareadas. En consecuencia, debido a la posibilidad de diagnósticos erróneos, este tipo de cuantificación subestima la mortalidad embrionaria temprana. Generalmente, la oveja tiene solamente un embrión y si este muere, la gestación termina. A menos que el sacrificio ocurra durante el período de reabsorción del embrión, no habrá evidencia de que haya ocurrido muerte embrionaria (op.cit.)

En este tipo de estimación, el resultado es expresado habitualmente como el porcentaje de óvulos liberados no representados por embriones vivos -- (op.cit.).

b) Sacrificio (estimación directa).

En rebaños cuya historia reproductiva es conocida, la forma más simple de obtener una estimación segura de la mortalidad embrionaria, es mediante el sacrificio de ovejas. Este consiste, primero, en sacrificar una muestra a decuadamente grande de la ovejas alrededor del tercer día de gestación con el fin de determinar el número de óvulos liberados y el porcentaje de estos que ha sido fertilizado, tal como ha sido hecho por Dutt (1963); Quinlivan et. al. (1966 a); Mattner and Braden (1957); Braden (1971) y Macra and Bryant (1979); o, alternativamente, recolectar por laparotomía los óvulos del útero y determinar el porcentaje fertilizado (Giles, 1971; Edey, 1979). Posteriormente, una opción es permitir al resto de las ovejas que llege al parto y registrar el número de nacimientos, obteniéndose una estimación de la mortalidad embrionaria ocurrida mediante la fórmula (Dutt, 1963):

$$\begin{aligned} \text{\% de óvulos fertilizados que} \\ \text{fallaron en sobrevivir} &= \frac{\text{óvulos fertilizados} - \text{corderos nacidos}}{\text{óvulos fertilizados}} \times 100 \end{aligned}$$

Suponiendo que los resultados de las muestras para evaluar la tasa de fertilización y nacimientos sean representativas del rebaño, es obvio que este método nos proporciona una cuantificación de la mortalidad ocurrida a lo largo de toda la gestación; sin embargo, varios autores (e.g. Dutt, 1963; Dutt, Falcon and Dame, 1967; Marshall, Reston and Lightfoot, 1976) lo han adoptado, bajo el supuesto de que la gran mayoría de la mortalidad prenatal corresponde a la mortalidad embrionaria y que la magnitud de la mortalidad fetal es muy baja, como ha sido argumentado por Quinlivan et. al. (1966 a); Delling and Nicolson (1967) y Chapman (1950).

Si se quiere obtener mayor exactitud en la evaluación de la mortalidad embrionaria, la opción indicada es, después de sacrificar la primera muestra

como se ha dicho, realizar el sacrificio de otra muestra en un momento estratégico, digamos al día 40, momento en que, como se ha explicado, podría considerarse terminado el período embrionario o bien, realizar aún más sacrificios, tal como en el trabajo de Quinlivan et. al. (1966 a), quien sacrificó muestras en los días 2, 16, 30 y 140, permitiendo a otra parte de las ovejas llegar al parto.

Basándose en los datos obtenidos en los sacrificios, se pueda obtener - la siguiente estimación: Número de cuerpos lúteos que se esperaba estuvieran asociados con embriones viables de acuerdo a los datos de fertilización. Esto puede expresarse como sigue (Hentall et. al., 1976 a):

Mortalidad embrionaria = $1-t$, donde t = supervivencia embrionaria y se denota por $t = \frac{\text{número de embriones viables}}{\text{número de óvulos fertilizados}}$

Ciertamente, las estimaciones basadas en sacrificio están asociadas al grado de certeza para diagnosticar, no sólo la muerte embrionaria, sino también si un embrión dado puede o no ser viable y llegar al parto (Delling and Nicolson, 1967). Respecto a esto, Boshier (1968), menciona que probablemente la evaluación macroscópica convencional del embrión para determinar su viabilidad -- especialmente alrededor de los 18 días -- adolece de imprecisiones, ya que en comparación, la observación histológica de las membranas extraembrionarias da una evaluación de viabilidad más exacta y, en muchos casos, identifica no viabilidad en embriones clasificados al exámen macroscópico como dentro de un rango de desarrollo normal.

Aunque el método de estimación directa por medio del sacrificio es la forma más simple y segura de que se dispone para cuantificar la mortalidad embrionaria, es claro que si cada muestra es de tamaño significativo, un gran número de ovejas deba ser sacrificado, haciendo este tipo de investigación demasiado costoso.

c) A partir de laparotomía, registro de retornos a estro y registro de nacimientos.

El desarrollo de técnicas rápidas de laparotomía hizo posible que esta fuera una forma relativamente práctica y segura para inspeccionar los ovarios y poder contar los puntos de ovulación entre los días tres y cinco post coito (Edey, 1969); dicha inspección arroja un censo del potencial reproductivo en las ovejas revisadas y permite, además, seguir observando su desempeño reproductivo posterior.

La segunda fase de esta metodología consiste en detectar las ovejas en

las que el estro vuelve a hacer su aparición, es decir, los retornos a estro o retornos a servicio. Un registro bastante seguro de estos retornos a estro puede ser obtenido permitiendo que las ovejas en observación permanezcan en compañía de carneros equipados con dispositivos marcadores de ovejas (Edey, 1969; Chapman, 1980). La indicación manifiesta más temprana de gestación en la oveja es el no retorno a servicio al tiempo esperado (Horton et. al., 1979); en el diagnóstico de muerte embrionaria mediante los datos de retorno a estro, ha sido tradicional considerar ciclos de hasta 21 días como de duración normal (e.g. Dolling and Nicolson, 1967; Edey, 1970 a,b,c; Gunn, Doney and Russel, 1972), no obstante, en ovejas no apareadas, los ciclos estrales que exceden de 19 días son raros (Edey, 1967; Mackenzie and Edey, 1975 a), - por lo que, en ovejas apareadas, se obtienen indicaciones más seguras de la ocurrencia de muertes embrionarias si los ciclos de 20 días o más, son tomados como indicadores de muertes embrionarias ocurridas después del día 12, es decir, muertes embrionarias tardías, de acuerdo con la terminología ya explicada. Los retornos a estro ocurridos hasta 19 días post coito, representarán fallas en la fertilización más muertes embrionarias ocurridas antes del día 13 -- mortalidad embrionaria temprana -- (Edey, 1969, 1979; Tyrrell et. al., 1979; Chapman, 1980). Parece que aún no se ha determinado qué proporción de la tasa de retorno a estro en los 19 días post coito corresponde a falla en la fertilización y qué proporción a muertes embrionarias ya que, aunque no se objeta que ambos rubros contribuyen a constituir tal tasa, hay situaciones que modifican su prorrateo. Entre los cálculos más cercanos, vemos que Restall and Griffiths (1976), sustentan la opinión de que la tasa de no retorno a servicio a los 21 días, es una estimación razonable de la tasa de fertilización; se basan en que han encontrado evidencias de que hay una correspondencia cercana entre el porcentaje de fertilización, medido directamente mediante la recolección de óvulos fertilizados en una muestra de ovejas, y el porcentaje de ovejas que no retornaron a servicio a los 21 días en el resto del rebaño estudiado. Esta correspondencia fué válida para ocho rebaños de varias razas y los autores argumentan que no parece haber razón alguna para que la misma relación no comprenda otros rebaños; indican, asimismo, que las estimaciones indirectas de pérdidas embrionarias que pueden derivarse de la diferencia entre tasa de fertilización y tasa de no retorno a servicio a los 21 días, muestran que si ocurre mortalidad embrionaria temprana, esta es muy pequeña. En forma similar, Geisler, Newton and Mohan (1977), reportan que el valor de la tasa de retorno a servicio da una sobreestimación de la falla en la fertilización, pero que su valor está dentro de un --

10% del valor de esta. No obstante la validez de esta relación en situaciones, digamos, "normales", tanto Restall and Griffiths (1976) como Geisler, - Newton and Mohan (1977) señalan que deben exceptuarse los casos en que como consecuencia de factores inductores (e.g. elevadas temperaturas ambientales, tratamientos nutricionales), se provoque un alto número de muertes embrionarias tempranas; en estos casos puede ser útil la sugerencia de Edey (1979), que indica que en ausencia de una estimación de la tasa de fertilización, se puede asumir que su valor sea de un 85% a 90%, contando con un manejo al servicio y una fertilidad del carnero aceptables. Los retornos a estro indicarán el porcentaje de pérdidas sobre este nivel, que corresponderán a la mortalidad embrionaria temprana.

La tercera y última fase, comprende el registro de nacimientos y del número de corderos nacidos. Aquí, hay que hacer algunas consideraciones. Si una oveja ha sido apareada, no retorna a estro, pero no produce al menos un cordero, es posible que:

- 1) Concibió y el embrión (es) o feto (s) fueron reabsorbidos después o fueron abortados.
- 2) Falló para concebir y exhibió calor silencioso a la siguiente ovulación.
- 3) Falló para concebir y luego entró en anestro.
- 4) Falló para concebir pero, a causa de la longitud de la época de empadre, no tuvo oportunidad de ser montada de nuevo. (Chapman, 1980)

Una vez completas las tres fases mencionadas, se obtiene una estimación en la cual, debido a que la tasa de fertilización no se determina, los resultados tienen que ser expresados como el porcentaje de óvulos liberados que no fueron representados por corderos vivos a término.

Hay alguna evidencia de que la laparotomía puede tener un efecto perjudicial sobre la fertilidad y de que las manipulaciones del tracto reproductivo poco después del servicio pueden afectar la supervivencia de los cigotos en ovulaciones múltiples (Chapman, 1980), por tal motivo, la laparoscopia -- puede ser usada en vez de laparotomía para hacer el conteo de cuerpos lúteos y tiene la ventaja de que el procedimiento tiene muy poco efecto sobre el -- performance reproductivo, permitiendo además que grandes números de ovejas -- sean examinadas en corto tiempo (Chapman, 1980; Kelly, 1982). Entre las técnicas de laparoscopia, Phillippo and Rhind (1977) describen una que, a diferencia de las técnicas convencionales con la oveja anestesiada y en decúbito dorsal (Boyd and Ducker, 1973), se realiza con las ovejas de pie y con la -- que se pueden examinar ambos ovarios en un tiempo de 7 a 10 minutos, la efectividad mostró ser similar a la obtenida con técnicas convencionales, pero --

causando menos disturbios en la oveja, gracias a que el régimen preoperatorio es más simple y no hay riesgos asociados a la posición del animal durante la cirugía.

Tanto la laparoscopia como la laparotomía puedan utilizarse para diagnosticar gestación desde la segunda mitad del período embrionario, con una seguridad superior al 90% (Richardson, 1972; Phillippe and Rhind, 1977).

d) Estimación indirecta.

Este método de estimación se basa solamente en datos del rebato como son los registros de monta, retornos a estro y registros de nacimientos; es muy similar al método anteriormente descrito y, como este, requiere también de una eficiente y rigurosa recolección rutinaria de datos, así como de una efectiva identificación de las ovejas. En este método, además de que no se estima la tasa de fertilización, tampoco se conoce la tasa ovulatoria o potencial reproductivo de las ovejas, por lo que además de asumir las consideraciones explicadas en el inciso anterior con respecto a la interpretación de los retornos a estro y nacimientos, se debe tomar en cuenta que muchas ovejas pueden registrarse como paridas sin distinguir entre ovejas con una ovulación, produciendo un cordero, y ovejas con dos o más ovulaciones, produciendo un cordero (Lurán del campo, 1980; Chapman, 1980), lo que resultaría en una subestimación de la mortalidad ocurrida.

El cálculo de pérdidas embrionarias totales se basa en la siguiente fórmula:

$$\frac{N}{N + L} \times 100 = \text{Pérdidas embrionarias totales; donde:}$$

L = Número de ovejas que fueron apareadas, no retornaron a servicio en los primeros 19 días post coito y parieron normalmente.

N = Número de ovejas que fueron apareadas, no retornaron a servicio en los primeros 19 días post coito y no parieron.

(Modificada de: Korley, 1954 a citado por Edey, 1969; Bolling and Nicolson, 1967).

Como puede observarse, tanto en este método como en el anterior, se está aceptando de modo tácito que la mortalidad fetal puede no layarse debido a que, como se ha convenido, parece tener una magnitud muy baja, comparada con la mortalidad embrionaria.

II) Se describen algunas formas -- además de las ya vistas -- que se han desarrollado para diagnosticar muerte embrionaria; se mencionan separadamente por no constituirse en métodos completos para hacer una estimación

ción de mortalidad embrionaria, pero que son susceptibles de ser empleadas como diagnóstico o parte del diagnóstico en dichos métodos. La razón por la que se ha dado en buscar otras técnicas de detección de muerte embrionaria reside en que, como se ha visto, las técnicas hasta ahora revisadas adolecen de uno u otro defecto: alto costo por requerir el sacrificio de las ovejas; inseguridad, al proporcionar informaciones incompletas o equívocas; inexactitud en determinar el momento en que ocurren las pérdidas.

a) Tapones de algodón vaginales.

Esta técnica se desarrolló con dos propósitos fundamentales: tener una forma para determinar el momento exacto en que muere el embrión; preservar la vida de la oveja.

Como se ha aplicado en el cuadro 9.1, cuando la muerte embrionaria ocurre del día 15 en adelante, el intervalo transcurrido hasta el siguiente estró, además de alargarse, se hace cada vez más variable. Debido a lo anterior, es difícil determinar, basándose en este periodo, el día aproximado en que sucedió la muerte del embrión; una forma de determinar con gran aproximación este día, se basa en el hecho de que en los estados iniciales de degeneración del embrión muerto, algunos restos se descargan hacia la vagina y pueden ser detectados mediante tapones de algodón colocados en el hocico del cérvix. Los despojos comienzan a ser desalojados dentro de los primeros dos días posteriores a la muerte del embrión, aparentemente se incrementan hasta el cuarto día y luego se hacen menos evidentes (Sawyer and Knight, 1975). El exámen microscópico de frotis tomados de los algodones revela gran proliferación bacteriana y leucocitaria, contrastando marcadamente con el estado normal de la vagina en ovejas no gestantes y gestantes en el mismo período (Sawyer and Knight, 1975; Sawyer, 1977). La técnica es sugerida para determinar muerte embrionaria en animales experimentales, dado que los tapones vaginales son cambiados y examinados diariamente para mayor exactitud en el diagnóstico. El método a más de ser sencillo y económico, no involucra el sacrificio de la oveja.

b) Método inmunológico.

El desarrollo de las técnicas inmunológicas ha hecho posible que la gestación en las ovejas pueda ser diagnosticada cada vez más tempranamente a través del descubrimiento y detección de antígenos específicos originados durante la preñez temprana.

Cerini, Findlay and Lawson (1978), reportaron el descubrimiento de antígenos específicos de la gestación derivados del embrión, estos pueden ser de

tectados en los tejidos maternos, incluida la sangre, por medio de inmunofluorescencia o hemaglutinación, a partir de etapas tan tempranas como el día seis de gestación. No obstante, se ha llegado aún más lejos. Evison et. al. (1977), reportó un método inmunológico que es una modificación hecha a la Prueba de Inhibición de Roseta, utilizada en humanos para detectar un factor de gestación temprana en el suero. Tal prueba modificada, permite diagnosticar preñez temprana en ovejas, así como muerte embrionaria en un lapso comprendido en las primeras 24 horas después de la muerte del embrión. Ulteriormente, Morton et. al. (1979), reportan que las diferencias en los títulos de la prueba, entre ovejas gestantes y no gestantes, aparecen a las 24 horas después de la monta, también indican que la prueba pueda ser usada para detectar fertilización, muerte embrionaria temprana o continuación de la preñez, al menos durante los primeros 21 días de gestación.

Nancarrow et. al. (1979), examinaron la posibilidad de monitorear la desaparición del "factor de gestación temprana" después de causar muerte embrionaria por interferencia quirúrgica o por inducción de la luteólisis con Cloprostenol (análogo de la PGF_{2α}). Brevemente, la prueba se basa en que el factor de gestación temprana (presente en el suero de ovejas gestantes del día 1 al 21 de gestación) aumenta la acción inmunosupresiva de un antisuero para linfocitos ovinos, el cual puede inhibir el número de rosetas formadas entre linfocitos ovinos y glóbulos rojos humanos (tres o más hemalias ligados a un linfocito).

Los resultados mostraron que la remoción quirúrgica del embrión resultó en una caída inmediata de los títulos en la inhibición de roseta, indicando que la cantidad de factor de gestación temprana presente en la sangre de las ovejas también había disminuido; la declinación fué completa a las 48 horas, siendo similar a los valores obtenidos para ovejas no gestantes. Cuando se indujo la muerte embrionaria con Cloprostenol también la declinación fué completa a las 48 horas de la muerte del embrión.

Se concluye que la muerte embrionaria puede ser identificada de manera decisiva 48 horas después de la muerte del embrión, mediante la prueba del suero de la oveja en cuestión. No ha sido determinado si esta prueba es válida para períodos posteriores a los 22 días de gestación pero los autores lo creen muy factible.

Una de las utilidades principales de este método es el poder determinar la finalización de la preñez por muerte embrionaria ocurrida antes del día 13, que, como ya hemos visto, no extiende el ciclo estral y no puede ser diferenciada de falla en la fertilización. Desafortunadamente, no se pueden de

terminar pérdidas parciales en las gestaciones múltiples; también debe ser ideado un método más simple para apreciar el factor de gestación temprana, pues la técnica descrita depende de un suministro de animales donadores que provean los linfocitos.

c) Medición de progesterona plasmática.

Después de la ovulación, la pared folicular se engrosa gradualmente debido a la hipertrofia e hiperplasia de las células granulosa. La rápida proliferación de células llena la cavidad remanente y comienza a secretar progesterona. El cuerpo lúteo resultante continúa aumentando de tamaño y peso y obtiene su crecimiento y función total de siete a nueve días después de la ovulación en la borrega. El tamaño del cuerpo lúteo está muy correlacionado con la habilidad para secretar progesterona (Hafar, 1964).

Los niveles endocrinos inmediatamente después de la concepción, son iguales a los que se observan durante el ciclo estral. El primer cambio en el patrón hormonal durante la gestación se asocia con el mantenimiento del cuerpo lúteo y su secreción continua de progesterona (op. cit.). En sobre este primer cambio que se hacen la prueba de medición de progesterona plasmática - para, primero, diagnosticar gestación y después, continuación de la gestación (Tyrrell et. al., 1979). Bindon (1971), reporta que la progesterona plasmática media en ovejas gestantes y no gestantes, no difiere significativamente hasta el día 16 post concepción, esto concuerda con el reporte de Cumming et. al. (1971), quien encontró que en ovejas fertilizadas que sufrieron muerte embrionaria temprana, los niveles de progesterona plasmática cayeron, pero la caída no fué significativa hasta el día 15 post coito. Estos resultados muestran que la medición de progesterona plasmática no puede detectar fertilización y/o muerte embrionaria temprana y que el límite inferior para determinar si una oveja está o no gestante, se sitúa en los días 15-16 post coito. En cuanto a períodos posteriores de la fase embrionaria, la prueba no parece tener gran exactitud para determinar, en caso de ocurrir muerte del embrión, el momento en que esta tuvo lugar ya que Dooley and Wodricka-Tomaszewska (1972) reportan que los niveles de progesterona plasmática de ovejas en las que se indujo la muerte embrionaria al día 15 post coito, no fueron diferenciables de los obtenidos en ovejas gestantes, por un período de, al menos, 11 días posteriores a la muerte embrionaria.

Por otra parte, Shemesh, Ayalon and Lazor (1979), han demostrado que en las ovejas gestantes, la concentración de progesterona en el plasma y la leche son similares, así como el margen de seguridad para diagnosticar gestación basándose en su medición, al menos durante la temporada de cría, pues -

fuera de temporada, la medición de progesterona en la leche no ofrece el mismo margen de seguridad que la progesterona plasmática.

d) Ultrasonido.

Entre lo más reciente que se ha reportado en la literatura, aparecen los métodos de diagnóstico de gestación por ultrasonido en dos dimensiones. Básicamente, la técnica se fundamenta en la producción de ecogramas a una velocidad tal que con ellos se pueden producir imágenes de los contenidos, en este caso, abdominales (Fowler and Wilkins, 1982 a).

Wilkins et. al. (1982) reportan que el embrión ovino puede ser observado, usando ultrasonido, al día 30 o menos post concepción; de hecho, se ha reportado que el diagnóstico de gestación por ultrasonido a partir del día 20 p.c. da resultados similares a la medición de progesterona plasmática (Eotero-Herrera et. al., 1983). Sin embargo, la determinación del número presente de embriones es difícil en etapas tempranas de la gestación (Wilkins et. al., 1982; Fowler and Wilkins, 1982 b; 1984). Por su parte, Taverner (1984), reporta que la técnica puede ser usada en el diagnóstico temprano de preñez, confirmación temprana de no preñez, así como en la determinación y cuantificación de mortalidad embrionaria y fetal en ovejas y cabras; respecto a estas, Eotero-Herrera et. al. (1984) reporta márgenes de seguridad en el diagnóstico de 80% a los 20 días p.c. y de 90% entre los días 21 y 23 p.c.; asimismo Tainturier et. al. (1983), indica que las gestaciones gemelares pueden ser detectadas alrededor del día 40 p.c.

La importancia de estas técnicas, cuando sean de fácil disponibilidad en nuestro país, radicará, entre otras cosas, en poder seguir la distribución de pérdidas a lo largo de la gestación, determinando, tal vez, pérdidas embrionarias tardías y, con mayor seguridad, pérdidas fetales. De esta manera, en aquellos métodos que estiman mortalidad embrionaria de forma indirecta, será posible saber exactamente qué porcentaje de la mortalidad prenatal corresponde a pérdidas fetales.

11. La mortalidad embrionaria y su relación con las técnicas usadas para elevar la eficiencia reproductiva.

11.1 Inseminación artificial.

Parece haber muy poca información reciente sobre la posible relación entre la inseminación artificial y la mortalidad embrionaria en pequeños rumiantes. Muchos de los estudios sobre mortalidad embrionaria en ovejas utilizan la monta natural o la inseminación artificial de manera indistinta, oscureciendo el efecto que esta última pudiera tener sobre la supervivencia embrionaria posterior, quizá debido a que este se considere despreciable en condiciones de un buen manejo del semen y de la técnica.

En términos generales, el almacenamiento y mantenimiento de espermatozoides fuera del tracto reproductor femenino usualmente involucra su exposición a diluyentes artificiales y a bajas temperaturas. Así, se ha visto que en el bovino, cuando se incrementa la duración del almacenamiento de semen refrigerado o congelado, aumenta la tasa de mortalidad embrionaria después de una fertilización exitosa (Salisbury, 1965 citado por Edey, 1969). En lo que corresponde a la inseminación artificial en ovejas, vemos que en un experimento con un número limitado de ovejas Longinova (1962) citado por Edey (1969), observó que la inseminación a nivel cervical con semen congelado no produjo fertilización en ninguna de las ocho ovejas utilizadas. Luego, usando inseminación a nivel de oviducto, se obtuvieron cigotos en cada una de las tres ovejas utilizadas, sin embargo, sólo dos de siete ovejas inseminadas de este modo parieron posteriormente, indicando que hubo muerte embrionaria después de una fertilización exitosa. Posteriormente, Salamon and Lightfoot (1967), inseminaron intrauterinamente 68 ovejas con semen congelado y observaron que a los 22 días sólo 23 ovejas (34%) no habían retornado a estro, pese a que la tasa de fertilización, previamente verificada en otras ovejas, fué de 93% (25 de 27 ovejas fertilizadas). Esto quiere decir que al menos un 60% de las ovejas sufrieron muerte embrionaria y esta, posiblemente, es una subestimación; de cualquier manera, la mortalidad registrada sobrepasa por mucho el rango de mortalidad embrionaria registrada usualmente después de servicio natural en condiciones supuestamente ideales. Es improbable que la técnica de inseminación haya causado cambios en el ambiente uterino predisponiendo a la muerte embrionaria pues Lopyrin et. al. (1965) citados por Sala-

son and Lightfoot (1967), han obtenido gestaciones normales después de inseminación intrauterina (75%) o a nivel de oviducto (75%) con semen fresco. De esta manera, la mortalidad observada parece haber sido debida a la utilización de semen congelado. Evidencias recientes (Lillo, 1984 a,b) muestran que la tasa de concepción, tasa de parición y tamaño de la camada son superiores en ovejas inseminadas con semen fresco, en comparación con ovejas inseminadas con semen congelado; no se estimó mortalidad embrionaria.

Rak (1963) ha reportado un estudio realizado en 730 ovejas de varias edades y entre las observaciones sobresalientes informa que las tasas de concepción fueron mayores cuando las ovejas fueron montadas una vez por un carnero vasectomizado después de la inseminación (87.5%), que cuando fueron montadas varias veces antes de la inseminación (75.9%). Las tasas fueron intermedias cuando las ovejas fueron inseminadas de la manera usual (82.0%) o servidas naturalmente (80.5%). Los porcentajes de mortalidad embrionaria calculados para las cuatro categorías fueron de: 0.0%; 5.4%; 2.6% y 5.1% respectivamente. Además, se observó que la mortalidad embrionaria fue mayor cuando las ovejas fueron inseminadas con semen de carneros importados que no habían tenido tiempo de aclimatarse, en comparación con la observada en ovejas inseminadas con semen de carneros de la localidad.

Corolario:

- Hay alguna evidencia de que la inseminación artificial con semen congelado puede ser seguida de una mortalidad embrionaria por encima del nivel observado en los servicios naturales o en la inseminación artificial con semen fresco.

11.2 Sincronización estral e inducción del estro.

1) Sincronización estral.

Con frecuencia han sido reportadas tasas de concepción bajas después de usar progesterona para sincronizar el estro en ovejas (Revisiones por Lamond 1964; Binson, 1967; Hunter, 1968 citados por Edey, 1969; Knight and Lynch, - 1963). Mientras que ocasionalmente puede estar involucrada la mortalidad embrionaria, parece probable que no es el factor más importante y que las aberraciones del transporte oopármico y posiblemente del transporte del óvulo sean más importantes (Robinson, 1967; Quinlivan and Robinson, 1967 citados - por Edey, 1969; Quinlivan and Robinson, 1969 citados por Hafes, 1984). Foote and Waite (1965) reportan un experimento que muestra como se comporta el fenómeno reproductivo después de la sincronización estral con progesterona. Se sincronizó el estro con inyecciones diarias de 10 mg de progesterona durante 17 días, luego las ovejas fueron servidas conforme al siguiente esquema:

Grupo 1: Ovejas servidas al primer estro después del tratamiento.

Grupo 2: Ovejas servidas al segundo estro después del tratamiento.

Grupo 3: Ovejas servidas al tercer estro después del tratamiento.

Grupo 4: Ovejas control, servidas cuando mostraron estro natural.

Se encontró un porcentaje de óvulos normales significativamente alto - en el grupo uno, en comparación con los grupos dos y tres o el grupo control (43.5%; 16.1%; 4.4% y 8.3% respectivamente). Las anomalías encontradas - en el grupo control fueron zonas pelúcidas rotas; en los grupos uno y dos - fueron zonas pelúcidas rotas y anomalías citoplasmáticas en igual proporción; en el grupo tres fueron anomalías citoplasmáticas. La fertilidad - en las ovejas del grupo uno fué significativamente más baja (26%) que en las control (66.7%) o en los grupos dos y tres (67.9% y 86.4% respectivamente). Los autores concluyen teóricamente que la fase lútea prolongada puede tener un efecto perjudicial sobre el óvulo en desarrollo, disminuyendo así las oportunidades de fertilización o supervivencia embrionaria; también se infiere que las ventajas de la sincronización estral con progesterona pueden ser aprovechadas con mínimos problemas de baja fertilidad, mediante el servicio al segundo estro en lugar de al primero después del tratamiento. En el caso

de la oebra, la sincronización estral con progesterona no parece afectar la fertilidad (Hafez, 1964).

Trounson, Willadsen and Moor (1976), realizaron un experimento para determinar el efecto de una inyección única de Cloprostenol (análogo de la FGF 2α) I.C.I. 80996 sobre la sincronización del estro, momento de la ovulación y desarrollo de los embriones en la oveja. Observaron que los cigotos obtenidos de las ovejas tratadas, desarrollaron a blastocistos normales y nació un alto porcentaje de corderos después de la transferencia de estos embriones a receptoras. Concluyen que fué evidente que ni el embrión ni el ambiente uterino se vieron afectados en forma adversa por el tratamiento, por lo que la inyección de 100 µg de Cloprostenol es un método eficiente para sincronizar el estro en ovejas y debe esperarse un desarrollo normal de los embriones en estas ovejas después del tratamiento.

II) Inducción del estro.

Edey (1969) señala en su revisión que la inducción del estro mediante la administración de progestágenos y PMSG a ovejas en anestro ha sido seguida por una variable pero generalmente muy pobre fertilidad, esto se aplica particularmente a las ovejas en lactación; sin embargo, como en la sincronización estral, la falla en la fertilización parece haber sido el problema principal. Por su parte, Moore (1980), menciona que hay sugerencias de que tanto para las ovinas como para las cabras, las tasas de mortalidad embrionaria después de la inducción del estro pueden ser altas, principalmente en aquellos animales que se encuentran en anestro profundo. Nassain (1964), realizó un trabajo en el que comparó la ovulación y la supervivencia embrionaria de ovejas lactantes, no lactantes y corderas, esto se hizo en dos situaciones: durante la temporada de empadre y fuera de la temporada de empadre, en la cual el estro hubo de ser inducido. Los resultados obtenidos se resumen en el cuadro 11.2.1. En ovejas adultas no lactando no se indujo el estro por lo que no hay datos, no obstante, Rhind et. al. (1976), reporta un 40% de cuerpos lúteos no representados por embriones al día 10 post coito en ovejas de esta condición. De los datos presentados en el cuadro, puede observarse que en general resultan las altas tasas de cuerpos lúteos no representados por embriones (que reflejan falla en la fertilización, mortalidad embrionaria al día 18) y principalmente, la gran cantidad de anomalías en los embriones, que probablemente impedirían que estos sobrevivieran hasta término. Adicionalmente, se observó que en ovejas lactando, a las que se indujo el estro con progestágenos orales seguidos de PMSG, la administración -

Cuadro 11.2.1

| | En temporada | | Fuera de temporada | |
|----------------------------|--------------|---------|--------------------|---------|
| | Serie 1 | Serie 2 | Serie 1 | Serie 2 |
| Ovejas adultas no lactando | 70.9% | 77.2% | --- | --- |
| Ovejas adultas lactando | 52.1% | 16.6% | 58.6% | 70.0% |
| Corderas primizas | 61.5% | 57.1% | 61.7% | 62.5% |

Serie 1 = Porcentaje de cuerpos lúteos representados por embriones al día 16 post coito.

Serie 2 = Porcentaje de embriones de la Serie 1 que aparecieron normales y con probable viabilidad a término.

de 125 mg de un progestágeno de larga acción al día 4 y 18 o 10 μ g de estradiol al día 3 o 10 μ g de estradiol al día 3 + 125 mg de progestágeno de larga acción al día 4 y 18, aumentó los porcentajes de ovejas paridas con respecto a ovejas en la misma condición, sin tratamiento post coito (12.5%; --- 27.2%; 15.1%; 5.7% respectivamente). Esto parece atribuir alguna parte de las fallas a un desequilibrio hormonal; asimismo, vesos que Hulet and Foote (1967), han subrayado la importancia de preceder la administración de PMSG con un período adecuado de tratamiento a base de progesterona (14 días), lo que parece no sólo incrementar la incidencia de estros, sino también promover un ambiente uterino más favorable para la placentación. La importancia de este pre-tratamiento para la supervivencia embrionaria también es demostrada por los trabajos de Miller and Moore (1984) en ovejas ovariectomizadas.

En otro orden de metodologías, Tammis and Poilas (1983) reportan la inducción del estro fértil en ovejas Eytelena X East Friesian mediante la administración de 15 mg de PGF₂ un mes antes del inicio de la época de espardo. De 66 ovejas tratadas, 39 mostraron estro en las 96 horas siguientes y de estas, 32 quedaron gestantes y parieron después de haber sido inseminadas.

Corolario:

- Se han reportado tasas de concepción bajas después de sincronizar el estro con progesterona; mientras que ocasionalmente puede estar involucrada la mortalidad embrionaria, probablemente el factor más importante sean las aberraciones en el transporte de los gametos.
- Las ventajas de la sincronización estral con progesterona pueden ser aprovechadas, reduciendo al mínimo los problemas de fertilidad, mediante el servicio al segundo estro post tratamiento.
- Parece ser que la sincronización estral con Cloprostenol no tiene efectos adversos sobre la supervivencia embrionaria.
- Es posible que tanto en las ovejas como en las cabras, las tasas de mortalidad embrionaria sean altas después de inducir el estro, principalmente en aquellos animales que se encuentran en anestro profundo.

11.3 Superovulación.

Robinson (1951) citado por Edey (1969), utilizó PMS para producir superovulación en ovejas, observando que las tasas de fertilización fueron normales; sin embargo, en los primeros 20 días de gestación una fuerte mortalidad embrionaria redujo el número de embriones sobrevivientes a un promedio de 2.5 por oveja. El que no todos los embriones fallaran indicaría que las muertes embrionarias no fueron causadas por la gonadotropina exógena; sobre esto, Eastwood and Donald (1974) citados por Geisler, Newton and Mohan (1977), indican que en ovejas gestantes, los óvulos producidos después de tratamiento con PMS no tienen mayor probabilidad de fallar en su desarrollo que óvulos madurados naturalmente cuando son ovulados en números similares. Rhind et. al. (1980) reporta un trabajo que ilustra muy bien el comportamiento de la mortalidad embrionaria en ovejas superovuladas. El experimento involucró 98 ovejas Finnish Landrace X Dorset Kern, a las que se indujo la superovulación con 500 u.i. de PMSG, siendo montadas por carneros Suffolk; se observó que el tamaño de la camada se incrementó junto con la tasa ovulatoria, llegando al máximo (3 - 3.5) con tasas ovulatorias de 4 a 5, hasta este momento, el porcentaje de mortalidad embrionaria coincidió con el promedio normal (20%). Con tasas ovulatorias de 6 o más, la mortalidad embrionaria se incrementó, sugiriendo que hubiera una ostensible disminución en el tamaño de camada esperado; estas tendencias no alcanzaron significancia estadística debido a que el número de ovejas fué insuficiente, no obstante, coinciden con las tendencias observadas por Hanrahan (1976) citado por Rhind et. al. (1980) y por Land and Wilmut (1977), sugiriéndose así, que hay una tasa ovulatoria intermedia óptima, más arriba de la cual la mortalidad embrionaria se incrementa por sobre lo esperado, debido a que se postula que hay un número limitado de embriones que puede soportar el útero.

Guerra, Thwaites and Edey (1971), investigaron en ovejas Merino la relación entre el peso corporal, la respuesta ovárica a la PMSG y la mortalidad embrionaria, observando que la respuesta ovulatoria a una dosis estándar de PMSG (750 u.i.), se incrementaba progresivamente con el incremento del peso corporal y se vió que las ovejas de menor peso experimentaron significativa-

mente menos ovulaciones múltiples y mayor mortalidad embrionaria que las ovejitas más pesadas.

En la cabra, Armstrong, Pfitzner and Seamark (1982), han reportado que se registra un alto porcentaje de mortalidad embrionaria después de provocar la superovulación, independientemente del método de sincronización (con FGF-2a o esponjas intravaginales con progesterona) o de la temporada del año (antes y durante la temporada de cría). La causa parece ser de origen materno (caracterizada por la involución del cuerpo lúteo), pues estos embriones, cuando fueron transferidos a otras receptoras, mostraron una mortalidad embrionaria mucho más baja.

Corolario:

- Cuando se induce la superovulación en ovejitas se ha visto que hay una tasa ovulatoria óptima hasta cuyo nivel la mortalidad embrionaria se mantiene en los niveles observados después de ovulaciones naturales; más arriba de esta tasa ovulatoria, la mortalidad embrionaria se incrementa por sobre lo esperado. Es posible que el valor de la tasa ovulatoria óptima varíe entre razas y entre individuos.
- Se ha reportado que hay altas tasas de mortalidad embrionaria en cabras -- después de inducir la superovulación. Las causas probablemente sean de origen materno.

11.4 Cultivo y Transplante embrionario.

Hace varias décadas se informó de lo que al parecer fueron los primeros trasplantes embrionarios exitosos en ovejas y cabras (Jarwick and Berry, 1949 citados por Hafez, 1984); desde entonces, el desarrollo alcanzado ha sido muy grande, pudiendose observar que en la actualidad hay varias metodologías para realizar el trasplante embrionario. El cultivo de embriones es una técnica que a la fecha también ha alcanzado gran desarrollo, para cuya realización igualmente existen varias metodologías. El trasplante embrionario se puede realizar después de un cultivo embrionario mínimo que comprendería desde la recolección de los embriones en un medio de cultivo, su selección y mantenimiento hasta que son depositados en el animal receptor; también puede realizarse después de cultivos prolongados de hasta varios días de duración, como se verá más adelante.

El éxito de cualquier técnica usada para llevar a cabo un trasplante embrionario se verá reflejado por el mantenimiento de la gestación en las receptoras, dicho éxito puede ser medido de dos formas: mediante las frecuencias de gestación (porcentaje de ovejas gestantes) o mediante el porcentaje de supervivencia embrionaria (Hafez, 1984). Es el propósito de este capítulo el revisar de qué forma se comporta la supervivencia embrionaria (o su contraparte, la mortalidad embrionaria), en relación al trasplante embrionario y al cultivo de embriones, asumiendo para este último la premisa de que aunque la observación de un desarrollo aparentemente normal en cultivo provee de una evaluación confiable sobre el potencial del embrión para su desarrollo posterior in vivo (Moore, 1979), el criterio último sobre la viabilidad del embrión será dado por la supervivencia en una receptora.

Debido a que tanto para el trasplante como para el cultivo embrionario hay más de una metodología reportada y a que hay diversas variaciones en mayor o menor grado sobre dichas metodologías así como combinaciones de estas, aquí no se tratará de describir los procedimientos seguidos, sino que se revisará en forma general cómo se comporta la mortalidad embrionaria con relación a aspectos comunes de tales procedimientos.

En la literatura reportada sobre el cultivo de embriones ovinos, es posible notar que ha habido dos variables principales relacionadas con el desarrollo viable del embrión: período de tiempo durante el cual se cultivan los embriones y estado de división celular al momento de iniciar el cultivo.

En cuanto al tiempo durante el cual se cultivan los embriones con relación a su supervivencia posterior in vivo, las observaciones varían. Así, vemos que Moore (1970) reporta que de un total de 113 cigotos --- recolectados entre 48 y 64 horas después de detectado el estro y que fueron incubados a 37°C por 48 horas --- transplantados, sólo nueve se desarrollaron hasta término. Un resultado similar fué obtenido por Peters et. al. (1976), pero con un número mucho menor de ovejas. Observaron que ninguna de cuatro receptoras de embriones --- recolectados entre 72 y 96 horas después de iniciado el estro y cultivados a 37°C por 48 horas --- produjo corderos a término, mientras que cinco de nueve receptoras (55.5%), recibiendo embriones cultivados sólo 24 horas, produjeron siete corderos, para una tasa de supervivencia de 38.8%. Buttle and Hancock (1964) citados por Peters et. al. (1976), reportaron la supervivencia hasta término de dos de siete y uno de catorce embriones cultivados por 24 y 48 horas respectivamente. Contrariamente a estas observaciones, Tervit and Rowson (1974), reportan que de 15 embriones transplantados, después de cultivarlos por tres días, diez sobrevivieron hasta corderos vivos, mientras que en embriones cultivados por cinco y seis días, se obtuvo una supervivencia de 37% y 25% respectivamente.

Las razones de que se hayan reportado resultados tan variables pueden atribuirse a múltiples variables, entre las que se cuentan diferencias en los medios de cultivo utilizados, raza de las ovejas, método de trasplante, etc. lo que hace que sea virtualmente imposible realizar comparaciones válidas; sin embargo, hay una condición común al cultivo embrionario a la que todos los autores citados atribuyen las altas tasas de mortalidad embrionaria observadas, y esta consistió en que al finalizar el período de cultivo, todos los embriones estaban, en lo que toca a su estado de división celular, de uno a dos días menos avanzados que embriones de la misma edad pero divididos in vivo; como los trasplantes se realizaron a receptoras sincronizadas con las ovejas donadoras, esto trajo como consecuencia que hubiese una asincronía entre la etapa de desarrollo del embrión y el estado de diferenciación endometrial de la receptora. Esta circunstancia, como se explicará más adelante, puede haber sido definitiva para el destino de los embriones transplantados, en forma tal que Peters et. al. (1976) concluye que para embriones cultivados por más de 24 horas, puede ser necesario que sean transplanta

dos a receptoras cuyo ciclo estral sea sincrónico con el de la donadora perisincronizado con la etapa de desarrollo del embrión.

Sobre el estadio de división celular al momento de iniciar el cultivo, se ha visto que los embriones ovinos "vacilan" en una etapa particular de su desarrollo; así, se ha reportado (Moore and Cragle, 1971 citados por Peters et. al. 1976) que hasta en un 60% de los embriones ovinos se produce desarrollo a blastocisto si se cultivan a partir de la etapa de mórula, pero cuando el cultivo se inicia en etapas más tempranas, la tasa de desarrollo es baja (Tervit and McDonald, 1969 citados por Peters et. al., 1976). Entre los experimentos que demuestran esto está el de Moore (1970), quien cultivando cigotos de dos a ocho células, observó que de 194 cigotos examinados después del cultivo por 48 horas, sólo 11 se habían dividido más de una vez; ocho cigotos se desarrollaron del estadio de dos a cuatro células al de ocho o más y sólo tres se desarrollaron de ocho células a 16-20 células. Peters et. al. (1976), reporta que un porcentaje más grande de embriones de ocho células (93.7%) experimentó divisiones comparado con sólo un 64.7% para embriones en etapa menos avanzada; la diferencia fué estadísticamente significativa. Igualmente, Wright et. al. (1976) reportan que en general los embriones que contenían menos de ocho células al momento de ser recolectados, fallaron para dividirse in vitro, esto contra un 72% de embriones de ocho células que experimentaron al menos una división en cultivo. Según Peters et. al. (1976), Moore (1973) citado por Moore (1973) y el propio Moore (1979), la falla de dichos embriones se ha interpretado como una barrera para continuar el desarrollo en cultivo, la cual, como se ha visto, se sitúa alrededor del estadio de ocho células; también se ha observado que para superar dicha barrera se necesitan condiciones de cultivo específicas, tales como bajas tensiones de oxígeno (Tervit, Whittingham and Rowson, 1972; Trounson, 1974 citados por Moore, 1979; Tervit and Rowson, 1974), que permiten a los embriones progresar a través y más allá de la etapa de ocho células. El significado de que los embriones de menos de ocho células puedan desarrollarse in vitro se relaciona también con el hecho de que al ser transplantados, tengan el mínimo de atraso en su desarrollo con respecto a sus similares divididos in vivo.

Acerca de los medios de cultivo utilizados, se ha visto que el enriquecimiento de estos con ESA (Bovine Serum Albumin), promueve el desarrollo de los embriones ovinos, habiéndose hecho trabajos para determinar las concentraciones más adecuadas de ESA. Lindner et. al. (1979, 1980), ha concluido que cuando medios simples como el de Brinster o de Whitten son adicionados con 0.1, 0.5, 1.5 o 2.0% de ESA, el éxito del cultivo (medido por la ocurrencia

cia de al menos dos divisiones en los embriones cultivados) se incrementa -- con la concentración de BSA, siendo las concentraciones 1.5% y 2.0% superiores estadísticamente con respecto a las concentraciones 0.1% y 0.5%. Tal observación fué igual en todos los estadios de división celular clasificados -- al iniciar el cultivo (1-4 células; 5-8 células; 9-16 células). También se -- observó una interacción significativa entre el estadio celular inicial de -- los cigotos y la concentración de BSA para su desarrollo a la etapa de blastocisto: un alto porcentaje de cigotos en etapa de cinco o más células, cultivados en medios suplementados con 1.5% o 2.0% de BSA, se desarrollaron hag ta blastocistos. Un medio que se ha visto que mejora la supervivencia embrionaria in vivo, posterior al cultivo, con respecto a la sola utilización de -- medios simples (como el de Brinster), es el basado en fluido oviductal (Schwartz et. al., 1972; Schwartz and Ulberg, 1973), incluso el preparado sinté-- ticamente como el SCF (Synthetic Oviduct Fluid Medium), mencionado por Ter-- vit and Rowson (1974). Se ha visto que al cultivar cigotos de dos a ocho cé-- lulas en medio hecho de fluido oviductal por 24 horas, se alcanzan porcenta-- jes de supervivencia posterior al trasplante que casi igualan al vólo trans-- plante (54.2% vs 58.3%).

Cuando se realizan transferencias de embriones que no han sido cultiva-- dos, se ha visto que el principal factor que afecta la supervivencia y desar-- rrollo embrionario es el grado de sincronización del estro de animales doná-- dores y receptores (Moore, 1960). Al respecto, hay algunos trabajos que muestran la relación entre la exactitud de la sincronización y la supervivencia embrionaria que se alcanza. Moore and Shelton (1964) reportan que hay un e-- fecto significativo del grado de sincronización sobre el número de ovejas -- que paren y el número de corderos nacidos; indican que la máxima superviven-- cia embrionaria, en sus trasplantes embrionarios, ocurrió en receptoras que entraron en estro desde 12 horas antes, hasta 12 horas después de sus respec-- tivas donadoras; además, las oportunidades de supervivencia de los embriones que fueron trasplantados "fuera de fase" no parecieron relacionarse con el hecho de si eran más jóvenes o más viejos que el estado relativo de desarro-- llo del tracto reproductivo de la receptora. Rowson and Moor (1966), reporta-- ndo también un trabajo diseñado para evaluar la importancia de sincronizar el estro de donadora y receptora, indican igualmente que la sincronización -- exacta es un requisito para el desarrollo normal de los embriones transplan-- tados entre los dos y once días después del estro; ellos observaron que to-- dos los embriones murieron en receptoras que entraron en estro tres días an--

tes que sus donadoras, y que sólo un 6% sobrevivió cuando las receptoras entraron en estro tres días después que sus donadoras; por otro lado, cuando la diferencia fué de dos días, un alto porcentaje de embriones sobrevivió, - siendo, de hecho, casi tan alto como en las transferencias realizadas entre ovejas cercanamente sincronizadas (75%). Por su parte, Cumming and McDonald (1970) y Moore (1960), mencionan que las mayores tasas de supervivencia se alcanzan cuando entre la donadora y receptora hay menos de 14 horas de asincronía. Así, en conjunto, todos los datos muestran que entre mayor sea la -- sincronización donadora-receptora, menor será la mortalidad embrionaria ocurrida, habiendo, al parecer, situaciones en que se tolera hasta 48 horas de asincronía sin aumentos muy grandes en la mortalidad embrionaria.

Las pérdidas de embriones a causa de trasplante no sincronizado tienen dos explicaciones posibles. La razón más probable por la cual un embrión -- "fuera de fase" muere, es que el ambiente uterino no sea apropiado para él - (Moore and Shelton, 1964; Rowson and Moor, 1966; Mañez, 1984); también se ha manejado la posibilidad de que el embrión fuera de fase sea incapaz de ejercer una acción lutalútrica suficiente sobre el cuerpo lúteo de la receptora, dando como resultado que su involución no sea detenida (Rowson and Moor, --- 1966; Mañez, 1984). Sea cual fuere la causa de las pérdidas, los experimentos de Moore and Shelton (1964) y de Rowson and Moor (1966), sugieren que -- cuando el trasplante retrasa el umbral de sincronización necesaria, la mortalidad embrionaria ocurrida se extiende a la totalidad de embriones transplañ tados.

En relación al efecto que tiene el número de embriones transferidos sobre la supervivencia embrionaria obtenida, la literatura muestra que esta es mayor cuando se transplanta sólo un embrión, y que disminuye a medida que au menta el número de embriones transferidos. Así, Moore (1968), reporta una su pervivencia embrionaria de 75% en ovejas que recibieron un embrión, y de --- 54.8% en ovejas que recibieron tres embriones. Cumming and McDonald (1970), reportan que la mortalidad embrionaria fué menor cuando se transplantó un em brión que cuando se transplantaron dos (47% vs 62%) y esta, a su vez, fué me nor que cuando se transplantaron cuatro (62% vs 67%), también mencionan que las frecuencias de gestación en los tres grupos fueron similares (50%), de - manera que la transferencia de varios embriones no hizo mayor la oportu- nidad de que las ovejas quedaran gestantas; esto indica que el éxito o falla del - embrión para desarrollar después de la transferencia a una receptora adecu ada, puede depender en mucho de la capacidad inherente de la oveja para mante

ner la gestación y por tanto en estas ovejas hubo una fuerte tendencia de -- los factores causantes de muerte embrionaria a actuar sobre la camada completa y no sólo en algunos individuos dentro de la camada.

Ha sido observado que hay diferencias raciales en cuanto al efecto que tiene el número de embriones transplantados sobre la supervivencia embrionaria, estas diferencias están asociadas a algunos parámetros del performance reproductivo natural de la raza, como son la tasa ovulatoria y el tamaño de camada promedio. Así, vemos que Mambahan and Quirke (1977) reportan que las razas Galway (tasa ovulatoria $\bar{x} = 1.7$; tamaño de camada $\bar{x} = 1.4$) y Finnish Landrace (tasa ovulatoria $\bar{x} = 3.8$, tamaño de camada $\bar{x} = 2.6$), exhiben supervivencias embrionarias similares cuando reciben por trasplante uno, dos o tres embriones; sin embargo, cuando este número aumenta, la supervivencia embrionaria es mejor en las Finnish Landrace. Algo similar es reportado por Moore (1966), que comparó ovejas Border Leicester (tasa ovulatoria $\bar{x} = 2.75$) con ovejas Merino (tasa ovulatoria $\bar{x} = 1.27$), transplantando tres embriones por oveja. Observó que mientras que el número de ovejas que quedaron gestantes no fué diferente, las ovejas Border Leicester tuvieron supervivencias embrionarias superiores a las Merino, teniendo también más gestaciones triples y menos gestaciones sencillas que las Merino (estadísticamente significativo).

En el mismo orden de ideas, Land and Wilmut (1977), investigando acerca de cuál es el tamaño máximo de camada que se puede esperar de una raza ovina después del trasplante embrionario, han expuesto la hipótesis de que el -- máximo tamaño de camada para una raza es de 1.8 veces su tasa ovulatoria media normal y que esto se conseguiría transplantando un número de embriones igual a cinco veces dicha tasa ovulatoria; también proponen que incrementos adicionales en el número de embriones transplantados, conduciría a una disminución en el número de sobrevivientes; se esperaba, asimismo, que la proporción de embriones sobrevivientes fuera similar cuando el número de embriones transplantados a diferentes razas fuera el mismo múltiplo (5) de sus tasas ovulatorias naturales. Dichas hipótesis se pusieron a prueba mediante el -- trasplante de embriones (siguiendo las especificaciones explicadas arriba) a ovejas Finnish Landrace y Scottish Blackface, siendo la tasa ovulatoria de estas últimas aproximadamente la mitad de la observada en las Finnish Landrace. Después de realizar las transferencias, sólo los resultados en las ovejas Blackface apoyaron las hipótesis planteadas, no pudiéndose demostrar así que estas funcionen en razas con tasas ovulatorias mayores.

En lo referente a la etapa de desarrollo en que los embriones transplantados mueren, Moore (1966), menciona que los factores responsables de la re-

ducción del número de embriones al número que pueda ser llevado a término -- por la oveja, deben operar en una etapa muy temprana, ya que en su estudio -- se observó poca diferencia entre la mortalidad embrionaria registrada al decimoquinto día de gestación (39.3%) y la mortalidad prenatal (41.1%), así, -- prácticamente toda la mortalidad prenatal se constituyó por mortalidad em-- brionaria y se calculó que al menos un 80% de esta fué antes de la preimplan-- tación.

En lo que toca al sitio del tracto reproductivo de la receptora al que se hace el trasplante embrionario, se ha reportado que este depende de la edad del embrión, pues, como se ha explicado, los embriones jóvenes son especialmente susceptibles a daño en el útero. De tal forma, los embriones recolectados al tercer día o menos (embriones de ocho células o menos), deben ser transplantados al oviducto (Moore and Shelton, 1964; Moore, 1960; Hafaz, 1964), obteniéndose hasta un 60% de supervivencia según Moore (1960). Aquellos embriones de cuatro días o más (embriones de 16 a 70 células o más), deben ser transplantados al útero, obteniéndose supervivencias de hasta 75%; además de dar más alta supervivencia, las transferencias al útero son más fáciles que a los oviductos. Aunque las tasas de supervivencia son altas, la recolección y transferencia de embriones más allá de los días siete u ocho, pueden causar mayores problemas de identificación y manejo, por lo que usualmente no se intentan.

En los caprinos, la información es más escasa que para los ovinos. Moore (1960), menciona, en términos generales, que para el cultivo embrionario lo más utilizado son las soluciones salinas balanceadas enriquecidas con suero o albúmina sérica; en el trasplante embrionario, la supervivencia y desarrollo de los embriones transplantados depende de su edad y es modificada -- por el sitio al que son transplantados. Armstrong, Pfitzner and Seamark (1982), condujeron experimentos para determinar los métodos óptimos de transferencia embrionaria en cabras y reportan que en embriones de dos a cuatro -- días, transplantados a los oviductos de cabras receptoras, se vió que el porcentaje de supervivencia fué óptimo cuando el inicio del estro en las receptoras coincidió con el de las donadoras o cuando inició un día más tarde (a este respecto, Moore, 1960 menciona que en la cabra hay indicaciones, de que los embriones pueden tolerar tanto como 36 horas de asincronía en los transplantes). La transferencia de dos embriones a cada receptora, resultó en tasas de supervivencia significativamente más altas que cuando se transplantó

sólo un embrión a cada receptora; en las receptoras de dos embriones, la supervivencia embrionaria fué significativamente mayor al ambos embriones se colocaban en el mismo oviducto en vez de colocar uno en cada oviducto. La supervivencia embrionaria fué correlacionada positivamente con el número de cuerpos lúteos en los ovarios de las receptoras.

Corolario:

- Se han reportado tasas variables de mortalidad embrionaria después del transplante de embriones cultivados por un mínimo de 24 horas. Se sugiere que esto se debe al atraso en el desarrollo que sufren tales embriones, lo que hace que al momento del transplante no estén sincronizados con el estado de diferenciación endometrial de la receptora.
- Se ha visto que la suplementación de los medios de cultivo con BSA o con SOF promueve el desarrollo embrionario y aumenta la supervivencia después del transplante a receptoras.
- Cuando se realizan transferencias de embriones no cultivados, se ha reportado que el principal factor que afecta la supervivencia y desarrollo embrionario es el grado de sincronización del estrógeno de donadora y receptora.
- En el caso de la oveja, se ha observado que el porcentaje de mortalidad embrionaria es mayor a medida que se aumenta el número de embriones transferidos a una receptora. Hay diferencias raciales en la tasa de mortalidad embrionaria cuando las ovejas tienen gestaciones múltiples.

11.5 Conservación de embriones a bajas temperaturas y congelamiento de embriones.

El desarrollo de métodos confiables para la preservación de embriones de ovejas y cabras es de gran importancia, ya que facilitaría mucho una más amplia difusión de la aplicación de la transferencia embrionaria, el transporte rápido y barato de material genético y, en el caso del congelamiento embrionario, la retención de este material genético para su uso futuro.

Moore (1979), ha revisado los experimentos en que se ha intentado almacenar embriones a bajas temperaturas: "Después de almacenar embriones a temperaturas entre 5 y 10°C, se han obtenido nacimientos después de su transferencia a receptoras (Averill and Fewson, 1959; Kardymowicz et. al., 1963; -- Moore and Bilton, 1973). El desarrollo, evidenciado por la continuación de la división, es detenido durante el almacenamiento, pero la duración de este almacenamiento está limitada a pocos días. La duración del almacenamiento es sin pérdida apreciable de la viabilidad parece estar influenciada por la temperatura de conservación. Kardymowicz and Kremer (1971), almacenaron embriones a 10°C durante cinco días y reportan el nacimiento de 11 corderos después de la transferencia de 15 embriones. Un trabajo posterior del mismo autor (Kardymowicz, 1972), sugiere que el almacenaje a 10°C puede extenderse a 10 días sin pérdida marcada de la viabilidad. Cuando se emplean temperaturas de unos 5°C, la viabilidad se pierde más rápidamente. Moore and Bilton (1973), encontraron que sólo uno de siete embriones, conservados dos días a 5°C, sobrevivió luego de la transferencia embrionaria; en estudios adicionales -- (Moore and Bilton, 1976), donde la duración del almacenaje a 5°C se extendió a 12 días, la proporción de embriones que mostró desarrollo continuado en -- cultivo, decayó después del tercer día de conservación. Se han llevado a cabo más estudios con embriones de ocho células y hasta blastocistos tempranos. No obstante, los estudios de Moore and Bilton (1973), sugieren que embriones de dos días (1,2 y 4 células), sobreviven a la conservación a 5°C tan bien -- como los de cinco días (20 o más células)".

No parece haber duda de que mórulas y blastocistos tempranos de origen ovino pueden sobrevivir al congelamiento y luego desarrollar hasta corderos aparentemente normales (Willadsen et. al., 1976), aunque, como se ha visto - también en la cabra (Bilton and Moore, 1976 a, citados por Moore, 1979), los porcentajes de supervivencia son muy bajos.

Los factores que más probablemente influyen en la supervivencia embrionaria durante el congelamiento y descongelamiento son el medio, el crioprotector y los procedimientos para su adición y remoción, las tasas de congelamiento y descongelamiento, así como la etapa de desarrollo de los embriones al momento de su congelación (Moore, 1979; Tervit, 1983). Willadsen et. al. (1976), reportan que la resistencia de los embriones ovinos al congelamiento aumenta con la edad.

Corolario:

- Cuando se almacenan embriones ovinos a bajas temperaturas, se ha visto que la duración del almacenamiento sin pérdida apreciable de la viabilidad parece estar influenciada por la temperatura de conservación.
- Se han registrado bajos porcentajes de supervivencia embrionaria después de la congelación, esto tanto en ovejas como en cabras.

11.6 Utilización de hormonas exógenas.

Debido a que el estradiol o compuestos relativos posiblemente tengan utilidad potencial para mejorar el transporte espermático en los animales domésticos, fue llevado a cabo un estudio para determinar si la administración de estradiol al momento del servicio afectaría perjudicialmente la fertilización o la supervivencia embrionaria en la oveja (Hawk and Cooper, 1976). Se observó que el tratamiento con estradiol no causó una reducción significativa en la proporción de ovejas gestantes a los 25 días (día del sacrificio), aunque 3 de 8 ovejas tratadas con 750 μ g de estradiol (25 veces la dosis recomendada para mejorar el transporte espermático) retornaron a estro, comparadas con 0 de 8 en las ovejas control. Tampoco el crecimiento embrionario se vio afectado por el tratamiento con estradiol.

Así, este experimento con ovejas indica que 30 o 150 μ g de estradiol 17 β , administrados al momento del servicio, no tuvieron, aparentemente, efecto negativo sobre la fertilización o la supervivencia embrionaria, también indicó que una dosis de 750 g causó cambios morfológicos en algunos óvulos.

12. Mortalidad embrionaria en híbridos interespecíficos.

Se han hecho numerosos intentos para llevar a cabo la hibridación entre la especie ovina (Ovis aries) y la caprina (Capra hircus), sin embargo, en su mayoría han sido infructuosos (Warwick, Berry and Horlacher, 1932, 1933, 1934, 1935; Quinlivan et. al., 1941 citados por Turner, McGovern and Hancock 1974); pareciendo ser el de Bratanov and Dikov (1961) citados por Alexander, Williams and Bailey (1967), el único reporte de gestaciones exitosas con nacimiento de híbridos borrego-cabra, tanto en borragas como en cabras, después de que estas fueran sujetas a un tratamiento de inyecciones intramusculares de sangre de la otra especie. En condiciones naturales, el momento en que la hibridación fracasa parece depender, como concluyen Eppleston and Moore (1977), de la dirección en que se hace la cruce. Así, se ha visto que en las borragas inseminadas con semen de cabra, los óvulos no se fecundan o los cigotos perecen en las primeras divisiones (Hancock, 1964; Eppleston and Moore, 1977; Hafez, 1964). Por el contrario, se ha visto que los óvulos de cabra son fácilmente fertilizados por el semen de carnero (Hancock, 1964; McGovern and Hancock, 1974; Eppleston and Moore, 1977), pero está bien demostrado que los productos no sobreviven más allá de los dos meses, y aunque se ha discutido sobre la posibilidad de que los productos que alcanzan la etapa de feto mueran como resultado de la destrucción de sus hematias, causada por anticuerpos que atraviesan la placenta (Alexander, Williams and Bailey, 1967; Tucker, McGovern and Hancock, 1974), lo cierto es que los datos de algunos autores (Hancock, 1964; Alexander, Williams and Bailey, 1967; Eppleston and Moore, 1977) sugieren que una buena parte (fluctuando entre el 40% al 80%) de los productos podrían morir durante la etapa embrionaria.

Corolario:

- Se ha visto que una buena parte de los híbridos borrego-cabra podrían morir durante la etapa embrionaria.

13. Profilaxis de la mortalidad embrionaria.

En el estado actual de los conocimientos que se tienen sobre la mortalidad embrionaria en los ovinos, y sobre todo en los caprinos, aún es irreal -pretender el dictar reglas de manejo o métodos que permitan prevenir eficazmente la ocurrencia de la mortalidad embrionaria; apenas si es posible esbozar, por el momento, pautas generales a seguir para tratar de reducir la mortalidad embrionaria o, quizá, atenuar sus efectos sobre la eficiencia reproductiva del rebaño.

Respecto a la mortalidad embrionaria basal, hasta que se conozca más sobre las razones por las cuales los óvulos fertilizados desarrollan un período de tiempo y luego mueren, las perspectivas de reducir el número de tales muertes no son grandes. No obstante, si puede ejercerse algún control sobre muchos de los factores que, se sabe, están asociados con la mortalidad embrionaria inducida.

Donde el clima sea extremo, si es posible, deberá proporcionarse a los animales sitios en los que puedan procurarse resguardo del medio, principalmente en la época de empadre y principio de la gestación.

Los procedimientos de manejo deberán ajustarse para alcanzar altos pesos corporales antes del servicio y proveer una nutrición adecuada en las primeras tres semanas de gestación; si es necesario reducir el consumo alimenticio, este debería ser sólo de las semanas 4 a la 12 de gestación. En vista de las elevadas tasas de mortalidad embrionaria registradas en ovejas de bajo peso corporal, la sobrepoblación deberá evitarse (Chapman, 1980).

La muerte embrionaria por deficiencia de selenio puede prevenirse por la administración de 5 mg de selenio (11 mg de selenito de sodio) per oca a ovejías y carneros un mes antes de que los carneros sean colocados con las ovejías (op. cit.).

Las plantas venenosas deben ser evitadas si las ovejas de cría están pastando en praderas libres de la planta en cuestión o, alternativamente, si esto no es posible, ampliar la alimentación suplementaria (heno) ayudaría a reducir al mínimo el deseo de comer esas plantas (op. cit.).

Acercas de las elevadas pérdidas embrionarias reportadas para ovejas servidas al inicio de la temporada de cría, Miller and Moore (1976) y Miller et.

al. (1977), mencionan que en la oveja intacta, los estrógenos secretados durante el proestro y estró y la progesterona secretada antes del estró, tienen efectos sobre el útero, el cual regula la subsecuente supervivencia y desarrollo normal de los embriones. Se sugiere en consecuencia que si apareo y fertilización ocurren en la primera ovulación de la temporada de cría o post parto, el desarrollo embrionario temprano puede fallar. Sería recomendable, por tanto, que si es posible, el apareo deberá tener lugar al segundo estró presentado por la oveja al iniciar la temporada de cría.

Aunque no se sabe mucho acerca de los efectos genotípicos sobre la mortalidad embrionaria, se ha visto que es muy factible que exista variación genética para esta característica, por lo que puede ser posible hacer selección para supervivencia embrionaria (Bradford, 1972 citado por Kelly and Allison, 1979; Burfening, Friedrich and Van Horn, 1977; Chapman, 1980).

Donde se detecta que las ovejas primerizas sufren elevados porcentajes de mortalidad embrionaria, su contribución a la infertilidad general del rebaño puede ser reducida mediante la alteración de la estructura de edades de el rebaño, a través de la retención de ovejas adultas por otros dos años y reduciendo proporcionalmente las ovejas primerizas. Un 10% extra de corderos resultaría proveído por aquellas ovejas adultas que conservaran su fertilidad (Restall et. al. 1976 b).

El examen del performance reproductivo de ovejas en años consecutivos, muestra que ovejas vacías en un año, tienden a quedar vacías al siguiente año; el descarte de ovejas vacías, donde es posible, puede esperarse que reduzca el problema (op. cit.).

A pesar de que la relación entre la mortalidad embrionaria y el stress no es muy clara, sería sensato evitar situaciones que lo provoquen. Durante el servicio y gestación, es de particular importancia que el rebaño no sea molestado por perros o personas (Chapman, 1980). Para las majadas trabajadas en inseminación artificial, la profilaxis recomendada es fundamentalmente el manejo de la misma, de modo de disminuir al máximo el efecto nocivo producido por el calor y el movimiento diario (Durán del campo, 1980).

Ha sido ya demostrado el efecto nocivo de las pasturas estrogénicas sobre la fertilidad de la oveja, es por tanto necesario recomendar al que se evita, en lo posible, que las ovejas consuman este tipo de plantas.

En lo referente a causas infecciosas, Jensen (1981) menciona que en el caso de la Border Disease, los principios para minimizarla o evitarla son:

A. Separar las ovejas reproductoras del ganado bovino.

B. Los corderos afectados y sus placentas deben alejados del alcance del re-

baño y las ovejas afectadas deben aislarse hasta que las descargas genitales hayan cesado.

C. Las ovejas reproductoras podrían ser inmunizadas con vacuna contra la DVB una vez que su eficacia y seguridad hayan sido establecidas.

14. Bibliografía.

- Abenes, F.B. and Woody, C.O. (1971). Embryo migration in ewes. *J. Anim. Sci.* 33: 314-315.
- Adams, N.R. (1975). A pathological and bacteriological abattoir survey of -- the reproductive tracts of Merino ewes in Western Australia. *Aust. -- Vet. J.*, 51(7): 351-354.
- Alexander, G., Williams, D. and Dalley, L. (1967). Natural immunization in - pregnant goats against red blood cells of their sheep X goat hybrid - foetuses. *Aust. J. Biol. Sci.*, 20: 1217-1226.
- Alliston, C.W. and Ulberg, L.C. (1961). Early pregnancy loss in sheep at ambient temperatures of 70° and 90°F. As determined by embryo transfer. *J. Anim. Sci.*, 20: 606-613.
- Arbiza, A.S.I. (1975). Estado actual de la producción animal en México. *Boletín Ruminantes.*, 2(2): 26-89.
- Arbiza, A.S.I. Estado actual de la ovicultura en México. *Perspectivas. Memorias del curso: Bases de la cría ovina.* Toluca, Méx., 1984: 28-35. Ed. Pigeon, A.P.J. y Arbiza, A.S.I., F.B.S.-C.
- Armstrong, D.I., Pfisterer, A.F. and Seemark, R.F. (1982). Ovarian responses and embryo survival in goats following superovulation and embryo --- transfer. *Theriogenology*, 17(1): 76.
- Ashworth, C.J., Sales, D.I. and Wilmut, I. (1984). Patterns of progesterone secretion and embryonic survival during repeated pregnancies in Damli ne ewes. In 10th International Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination, June 10-14 1984, University of Illinois at Urbana-Champaign, Illinois, USA. Volume II. Brief communications. Urbana, USA; University of Illinois (1984) Paper No. 74, 3 pp. (A.B.A., 53, No. 1382).
- Barret, J.F., George, J.H. and Lamond, D.M. (1965). Reproductive performance of Merino ewes grazing Red Clover (Trifolium pratense L.), improved - pasture, or native pasture. *Aust. J. Agric. Res.*, 16: 189-200.
- Bindon, B.M. (1971). Role of progesterone in implantation in the sheep. *J. - Reprod. Fert.*, 24: 146.
- Bishop, H.W.H. (1964). Paternal contribution to embryonic death. *J. Reprod. Fert.*, 7: 383-396.
- Blewett, D.A. and Watson, W.A. (1983). The epidemiology of ovine toxoplasmosis. II Possible sources of infection in outbreaks of clinical disease. *Br. Vet. J.*, 139: 546.

- Blockey, M.A. de L., Cumming, I.A. and Baxter, R.W. (1974). The effect of -- short term fasting in ewes on early embryonic survival. *Proc. Aust. Soc. Anim. Prod.*, 10: 265-269.
- Eoshier, D.F. (1966). Histological examination of serosal membranes in studies of early embryonic mortality in the ewe. *J. Reprod. Fert.*, 15: 81-86.
- Botero-Herrera, O., González-Stagnaro, C., Poulin, N. et Cognie, Y. (1983). Diagnostic précoce de gestation chez la brebis et la chèvre à l'aide d'échographie à ultrasons. In 34th Annual Meeting of the European --- Association for Animal Production, Madrid, Spain (1983), 3rd-6th October, 1983. Volume II. Summaries. (A.E.A., 57, No. 3327).
- Botero-Herrera, O., González-Stagnaro, C., Poulin, N. et Cognie, Y. (1984). Diagnóstico precoz de la gestación en las cabras y ovejas utilizando la ecografía de ultrasonido por vía rectal. In 10th International Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination, June 10-14 1984, University of Illinois at Urbana-Champaign, Illinois, USA; Volume II Brief Communications. Urbana, USA; University of Illinois (1984) Paper No. 79, 3 pp. (A.E.A., 53, No. 1846).
- Eoyazoglu, F.A., Jordan, R.E. and Meade, H.J. (1967). Sulfur-Selenium-Vitamin E interrelations in ovine nutrition. *J. Anim. Sci.*, 26: 1390-1396.
- Boyd, H. (1965). Embryonic death in cattle, sheep and pigs. *Vet. Bull., Weybridge.*, 35(5): 251-266.
- Boyd, H. and Ducker, E.J. (1973). A method of examining the cyclic changes -- occurring in the sheep ovary using endoscopy. *Vet. Rec.*, 93: 40-43.
- Braden, A.W.H. (1964). The incidence of morphologically abnormal ova in --- sheep. *Aust. J. Biol. Sci.*, 17: 499-503.
- Braden, A.W.H. (1971). Studies in flock mating of sheep. 3.- Effect of under nutrition of ewes during joining. *Aust. J. Exp. Agric. Anim. Husband.*, 11: 375-378.
- Furfening, P.J., Friedrich, R.L. and Van Horn, J.L. (1977). Estimates of early embryonic loss in ewes mated to rams selected for high and low prolificacy. *Theriogenology.*, 7(5): 285-291.
- Casida, L.E., Woody, C.O. and Pope, A.L. (1966). Inequality in function of -- the Right and left ovaries and uterine horns of the ewe. *J. Anim. Sci.* 25: 1169-1171.
- Cerini, L., Findlay, J.K. and Lawson, R.A.S. (1976). Pregnancy-specific anti- gens in the sheep: Application to the diagnosis of pregnancy. *J. --- Reprod. Fert.*, 46: 65-69.

- Cockrem, P.R.M. (1979). A review of the influence of liveweight and flushing on fertility made in the context of efficient sheep production. Proc. N.Z. Soc. Anim. Prod., 39: 23-42.
- Cole, H.H. and Cupps, P.F.: Reproduction in domestic animals, 3rd ed. Academic Press Inc., New York, London, 1977.
- Coop, I.E. and Clark, V.R. (1969). The influence of nutritional level in early pregnancy of the ewe. J. Agric. Sci., Camb., 73: 387-394.
- Cumming, I.A. and McDonald, M.F. (1970). Embryo survival in mature Romney ewes relative to live weight and face cover. N. Z. J. Agric. Res., 13: 372-384.
- Cumming, I.A., Mola, B.J., Obet, J., Blockey, M.A. de B., Winfield, C.G. and Goding, J.R. (1971). Increase in plasma progesterone caused by under-nutrition during early pregnancy in the ewe. J. Reprod. Fert., 24: 146-147.
- Cumming, I.A. (1972). A comparison between the contribution of increasing and decreasing liveweight to ovulation and embryonic survival in the Border Leicester X Merino ewe. J. Reprod. Fert., 28: 148.
- Cumming, I.A., Blockey, M.A. de B., Winfield, C.G., Parr, H.A. and Williams, A.H. (1975). A study of relationships of breed, time of mating, level of nutrition, live weight, body condition, and face cover to embryo survival in ewes. J. Agric. Sci., Camb., 84: 559-565.
- Chapman, H.H. (1980). II Prenatal loss (ewe). In Current therapy in theriogenology. Edited by Morrow, D.A., 120-126, W.B. Saunders Co., Philadelphia, U.S.A.
- Davis, I.F., Kenney, P.A. and Cumming, I.A. (1976). Effect of time of joining and rate of stocking on the reproduction of Corriedale ewes in Southern Victoria. 5.- Ovulation rate and embryonic survival. Aust. J. Exp. Agric. Anim. Husb., 16: 13-18.
- Dolling, C.H.S. and Nicolson, A.D. (1967). Vital statistics for an experimental flock of Merino sheep. IV Failure in conception and embryonic loss as causes of failure to lamb. Aust. J. Agric. Res., 18: 767-788.
- Doney, J.M. and Smith, W.F. (1968). Infertility in inbred ewes. J. Reprod. Fert., 15: 277-282.
- Doney, J.M., Gunn, R.C. and Smith, W.F. (1973). Transuterine migration and embryo survival in sheep. J. Reprod. Fert., 34: 363-367.
- Dooley, M., Wodzicka-Tomaszewska, M. and Edey, T.N. (1974). Luteal function following embryonic mortality in ewes. J. Reprod. Fert., 36: 462.

- Durán del campo (1980). Mortalidad embrionaria en ovinos con especial referencia a mortalidad embrionaria tardía. Segundas jornadas veterinarias de ovinos. Tacuarembó, Uruguay.: 1-16.
- Dutt, R.H., Ellington, E.F. and Carlton, W.W. (1959). Fertilization rate and early embryo survival in shewred and unshewred ewes following exposure to elevated air temperatura. J. Anim. Sci., 18: 1308-1318. (A.B.A. 28, No. 755).
- Dutt, R.H. (1963). Critical period for early embryo mortality in ewes exposed to high ambient temperatura. J. Anim. Sci., 22: 713-719.
- Dutt, R.H., Falcon, G.J. and Dame, P.R. (1967). Influence of short-term exposure to continuous or restricted light on ovulation, fertility and embryo survival rates in ewes. Progr. Rep. Ky agric. Exp. Stn., No. 170 : 62-63. (A.B.A., 36, No. 463).
- Edey, T.H. (1965). Undernutrition and early embryonic mortality in Merino ewes. Nature (London), 208: 1232.
- Edey, T.H. (1966). Nutritional stress and pre-implantation embryonic mortality in Merino sheep. Anim. Breed. Abstr., 37, No. 2651.
- Edey, T.H. (1967). Early embryonic death and subsequent cycle length in the ewe. J. Reprod. Fert., 13: 417.
- Edey, T.H. (1969). Prenatal mortality in sheep: A review. Anim. Breed. Abstr. 37(2): 173-190.
- Edey, T.H. (1970 a). Nutritional stress and pre-implantation embryonic mortality in Merino sheep, 1965. J. Agric. Sci., Camb., 74: 181-186.
- Edey, T.H. (1970 b). Nutritional stress and pre-implantation embryonic mortality in Merino sheep, 1966. J. Agric. Sci., Camb., 74: 187-192.
- Edey, T.H. (1970 c). Nutritional stress and pre-implantation embryonic mortality in Merino sheep, 1967. J. Agric. Sci., Camb., 74: 193-198.
- Edey, T.H. (1970 d). Nutritional stress and pre-implantation embryonic mortality in Merino sheep, (1964-7). General discussion and conclusions. - J. Agric. Sci., Camb., 74: 199-204.
- Edey, T.H. (1972). Fertility at the first oestrus following embryonic death. J. Reprod. Fert., 28: 147.
- Edey, T.H., Thwaites, C.J., Pigett, P.A. and O'Shea, T. (1975). Fertility -- and spera transport in Merino ewes at the first oestrus following embryonic death. J. Reprod. Fert., 43: 485-494.
- Edey, T.H., Kilgour, R. and Brenner, K. (1978). Sexual behaviour and reproductive performance of ewe lambs at and after puberty. J. Agric. Sci. Camb., 90: 83-91.

- Edey, T.N. (1979). Embryo mortality. In Sheep breeding. 2nd ed. Edited by To mes, J.G., Robertson, D.E. and Lightfoot, R.J., 315-325, Butterworths London-Boston, 1979.
- Edgar, D.G. (1962). Studies on infertility in ewes. J. Reprod. Fert., 3: 50-54. (A.B.A., 30, No. 1836).
- Entwistle, K.W. (1972). Early reproductive failure in ewes in a tropical environment. Aust. Vet. J., 48: 395-401.
- Eppleston, J. and Moore, H.W. (1977). Fertilisation between sheep and goats and survival of hybrid embryos. Theriogenology., 8(4): 165.
- Evison, E., Nancarrow, G., Morton, N., Scaramuzzi, R. and Clunie, J.A. (1977). Detection of early pregnancy and embryo mortality in sheep by the Hoesette Inhibition Test. Theriogenology., 8(4): 157.
- Foots, W.C. and Waite, A.E. (1965). Some effects of progesterone on oestrous behaviour and fertility in the ewe. J. Anim. Sci., 24: 151-155.
- Fowler, D.G. and Wilkins, J.F. (1982 a). An evaluation of real time ultrasonic scanners for use in identifying litter number in pregnant ewes. - Anim. Prod. Aust., 14: 491-494.
- Fowler, D.G. and Wilkins, J.F. (1982 b). The accuracy of ultrasonic imaging with real time scanners in determining litter number in pregnant ewes. Proc. Aust. Soc. Anim. Prod., 14: 636.
- Fowler, D.G. and Wilkins, J.F. (1984). Presentation of pregnant ewes for ultrasonic scanning. Proc. Aust. Soc. Anim. Prod., 15: 681.
- Geisler, P.A., Newton, J.E. and Mohan, A.E. (1977). A mathematical model of fertilization failure and early embryonic mortality in sheep. J. --- Agric. Sci., Camb., 89(2): 309-317.
- Giles, J.R. (1971). Fertilization and return rates in Bangaree and Peppin Merino ewes mated in Autumn. Aust. J. Exp. Agric. Anim. Husb., 11: 476-482.
- Griffiths, J.G., Gunn, R.G. and Doney, J.M. (1970). Fertility in Scottish --- Blackface ewes as influenced by climatic stress. J. Agric. Sci., Camb. 75: 485-488.
- Guerra, J.C., Thwaites, C.J. and Edey, T.N. (1971). The effects of liveweight on the ovarian response to Pregnant Mare Serum Gonadotrophin and on embryo mortality in the ewe. J. Agric. Sci., Camb., 76: 177-178.
- Gunn, R.G., Doney, J.M. and Russell, A.J.F. (1969). Fertility in Scottish --- Blackface ewes as influenced by nutrition and body condition at mating. J. Agric. Sci., Camb., 73: 289-294.

- Gunn, R.G., Doney, J.M. and Russel, A.J.F. (1972). Embryo mortality in Scottish Blackface ewes as influenced by body condition at mating and by post-mating nutrition. *J. Agric. Sci., Camb.*, 79: 19-25.
- Gunn, R.G. and Doney, J.M. (1975). The interaction of nutrition and body condition at mating on ovulation rate and early embryo mortality in Scottish Blackface ewes. *J. Agric. Sci., Camb.*, 85(3): 465-470.
- Gunn, R.G. and Doney, J.M. (1979). Fertility in Cheviot ewes. 1.- The effect of body condition at mating on ovulation rate and early embryo mortality in North and South country Cheviot ewes. *Anim. Prod.*, 29: 11-16.
- Gunn, R.G., Doney, J.M. and Smith, W.F. (1979 a). Fertility in Cheviot ewes. 2.- The effect of level of pre-mating nutrition on ovulation rate and early embryo mortality in North and South country Cheviot ewes in moderately-good condition at mating. *Anim. Prod.*, 29: 17-23.
- Gunn, R.G., Doney, J.M. and Smith, W.F. (1979 b). Fertility in Cheviot ewes. 3.- The effect of level of nutrition before and after mating on ovulation rate and early embryo mortality in South country Cheviot ewes in moderate condition at mating. *Anim. Prod.*, 29: 25-31.
- Gunn, R.G., Doney, J.M. and Smith, W.F. (1984). The effect of different durations and times of high-level feeding prior to mating on the reproductive performance of Scottish Blackface ewes. *Anim. Prod.*, 39(1): 99-105.
- Hafez, E.S.E. (1984). Reproducción e inseminación artificial en animales. 4th ed. Ed. Interamericana. México, 1984.
- Hanra, A.M. and Bryant, M.J. (1979). Reproductive performance during mating and early pregnancy in young female sheep. *Anim. Prod.*, 28: 235-243.
- Hancock, J.L. (1964). Attempted hybridization of sheep and goats. *Anim. Breed. Abstr.*, 33, No. 420.
- Hanrahan, J.P. and Quirke, J.F. (1977). An egg-transfer study of uterine capacity and embryo mortality in sheep. *J. Anat.*, 124(2): 490-491.
- Hanrahan, J.P. and Quirke, J.F. (1985). Contribution of variation in ovulation rate and embryo survival to within breed variation in litter size. In *Genetics of reproduction in sheep*. London, UK; Butterworths -- (1985) 193-201. (A.B.A., 53, No. 2630).
- Hare, W.C. (1980). Embryonic and fetal mortality. In *Current therapy in the ruminology*. Edited by Morrow, D.A., 120-126, W.B. Saunders Co., Philadelphia, U.S.A.
- Hasnain, H.U. (1964). Embryonic mortality in sheep. *Anim. Breed. Abstr.*, 33, No. 412.

- Hawk, H.W. and Cooper, B.S. (1976). Ovarian fertilization and embryo survival - in ewes treated with estradiol immediately prior to mating. *J. Anim. Sci.*, 42(3): 677-680.
- Rowat, B.(Jr.) and Hawk, H.W. (1966). Effect of hydrocortisone on embryo -- survival in sheep. *Abstr. in J. Anim. Sci.*, 25: 924.
- Horsley, V., Hoveland, A.G., Blackmore, D.W. and Van Horn, J.L. (1960). --- Effect of pre-breeding and post-breeding feed treatments on reproductive phenomena of range ewes. *J. Anim. Sci.*, 19: 959.
- Hulet, C.V., Foote, W.C. and Blackwell, R.L. (1965). Relationships of semen quality and fertility in the ram to fecundity in the ewe. *J. Reprod. Fert.*, 9: 311-315.
- Hulet, C.V. and Foote, W.C. (1967). Induction of fertile estrus in lactating and dry anestrus ewes using oral progestogens and repeated PMS treatment. *J. Anim. Sci.*, 26: 545-548.
- Hulet, C.V., Price, D.A. and Foote, W.C. (1968). Effects of variation in --- light, month of year and nutrient intake on reproductive phenomena in ewes during the breeding season. *J. Anim. Sci.*, 27: 684-690.
- Hutchinson, J.C.D. and Wodnicka-Tomaszewska, M. (1961). Climate physiology - of sheep. *Anim. Breed. Abstr.*, 29(1): 1-14.
- Jensen, R. Border Disease (B.D.; Hairy shaker disease). Aspectos de reproducción ovina (memorias). México, 1960. 94-96. Universidad Nacional Autónoma de México (1961).
- Kelly, R.W. and Allison, A.J. (1979). Returns to service, Embryonic mortality and lambing performance of ewes with one and two ovulations. In --- Sheep breeding. 2nd ed. Edited by Tomes, J.C., Rebertson, D.E. and --- Lightfoot, R.J., 335-340, Butterworths, London-Boston, 1979.
- Kelly, R.W., Shackell, G.E. and Allison, A.J. (1980). Reproductive performance of ewes grazing Red Clover (Grasslands Pavers) or White Clover-grass pasture at mating. *N. Z. J. Exp. Agric.*, 8: 87-91.
- Kelly, R.W. (1982). Reproductive performance of commercial sheep flocks in - South Islands districts. 1.- Flock performance and sources of wastage between joining and tailing. *N. Z. J. Agric. Res.*, 25: 175-183.
- Kelly, R.W. and Johnstone, P.D. (1982). Reproductive performance of commercial sheep flocks in South Islands districts. 2.- Relationships between ovulation rate, liveweight, mating and lambing performances. *N. Z. J. Agric. Res.*, 25: 519-523.

- Knight, T.W., Oldham, C.M., Smith, J.F. and Lindsay, D.R. (1975). Studies in ovine infertility in agricultural regions in Western Australia: Analysis of reproductive wastage. *Aust. J. Exp. Agric. Anim. Husb.*, 15: -- 183-188.
- Knight, T.W. and Lynch, P.R. (1983). Effect of shearing on embryo mortality. In New Zealand Ministry of Agriculture and Fisheries, Agricultural Research Division. Annual Report 1981/82: 115. (A.B.A., 52, No. 1805.)
- Lamberton, W.R. and Thomas, D.L. (1984). Effects of inbreeding in sheep: a review. *Anim. Breed. Abstr.*, 52(5): 187-297.
- Land, R.B. and Wilmut, J. (1977). The survival of embryos transferred in large groups to sheep of breeds with different ovulation rates. *Anim. Prod.*, 24: 183-187.
- Lillo, A. (1984a). Lambing rates after single inseminations of ewes with liquid or deep-frozen semen. In 10th International Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination, June 10-14 1984, University of Illinois at Urbana-Champaign, Illinois, USA. Volume III. Brief communications. Urbana, USA; University of Illinois (1984) Paper No. -- 373, 2 pp. (A.B.A., 53, No. 1408).
- Lillo, A. (1984 b). Results of sheep AI in 1983-84. *Värskötet.*, 64(7-8): 15 (A.B.A., 53, No. 1409).
- Lindner, G.W., Dickey, J.F., Hill, J.R. Jr. and Knickerbocker, J.J. (1979). Effect of bovine serum albumin concentration on the development of ovine embryos cultured in Brinster's and Whitten's medium. *J. Anim. Sci.*, 49(supp 1): 314-315.
- Lindner, G.W., Dickey, J.F., Grimes, L.W., Hill, J.R. Jr. and Milliken, S.L. (1980). Effect of bovine serum albumin concentration on the development of ovine embryos in vitro. *J. Anim. Sci.*, 51(supp 1): 299.
- Lindsay, D.R., Knight, T.W., Smith, J.F. and Oldham, C.M. (1975). Studies in ovine fertility in agricultural regions of Western Australia: Ovulation rate, fertility and lambing performance. *Aust. J. Agric. Res.*, 26: 189-198.
- Lino, E.F. and Eraden A.W.H. (1968). An investigation of early prenatal loss in a commercial sheep flock. *Aust. J. Exp. Agric. Anim. Husb.*, 8: 505
- Long, S.B. and Williams, C. (1978). Chromosomal abnormalities in ova and zygotes from normal ewes mated to normal rams. *Vet. Rec.*, 102(7): 153.
- Mackenzie, A.J. and Edey, T.N. (1975 a). Short-term undernutrition and prenatal mortality in young and mature Merino ewes. *J. Agric. Sci., Camb.*, 84: 113-117.

- Mackenzie, A.J. and Edey, T.N. (1975 b). Effects of pre-mating undernutrition on oestrus, ovulation and prenatal mortality in Merino ewes. *J. Agric. Sci., Camb.*, 84: 119-124.
- Marshall, T., Beeton, P.R. and Lightfoot, E.J. (1976). A study of reproductive wastage among commercial sheep flocks grazing non-oestrogenic pastures in South Western Australia. *Proc. Aust. Soc. Anim. Prod.*, 11: 229-232.
- Martal, J., Lacroix, M.C., Loudes, C., Saunier, E. and Wintenberger-Torres, S. (1979). Trophoblastin, an antiluteolytic protein present in early pregnancy in sheep. *J. Reprod. Fert.*, 56: 63-73.
- Mattner, P.E. and Braden, A.W.H. (1967). Studies in flock mating of sheep. 2.- Fertilization and prenatal mortality. *Aust. J. Exp. Agric. Anim. Husband.*, 7: 110-116.
- Mayer, H., Kämpfner, J. und Scholz, H. (1970). Influence of magnesium upon embryonal and fetal development in sheep. *Dtsch. Tierärztl. Wochschr.*, 85(6): 197-200.
- Miller, B.G. and Moore, N.W. (1976). Effects of progesterone and oestradiol on RNA and protein metabolism in the genital tract and on survival of embryos in the ovariectomized ewe. *Aust. J. Biol. Sci.*, 29: 565-573.
- Miller, B.G., Moore, N.W., Murphy, L. and Stone G.M. (1977). Early pregnancy in the ewe: Effects of oestradiol and progesterone on uterine metabolism and on embryo survival. *Aust. J. Biol. Sci.*, 30(4): 279-288.
- Miller, B.G. and Moore, N.W. (1984). Progesterone priming and early embryo survival in the ewe. In Proceedings of the sixteenth Annual Conference of the Australian Society for Reproductive Biology. Melbourne, Australia, 26-29 August, 1984. Paper No. 32, 1 p. (A.R.A., 53, No. 1411).
- Moor, R.M. and Rowson, L.E.A. (1966). The corpus luteum of the sheep: Functional relationship between the embryo and the corpus luteum. *J. Endocrinol.*, 34: 233-239.
- Moore, N.W. and Shelton, J.M. (1964). Egg transfer in sheep. Effect of degree of synchronization between donor and recipient, age of egg and site of transfer on the survival of transferred eggs. *J. Reprod. Fert.* 7: 145-152.
- Moore, N.W. (1966). The survival and development of fertilized eggs transferred between Border Leicester and Merino ewes. *Aust. J. Agric. Res.*, 19: 295-302.

- Moore, N.W. (1970). Preliminary studies on in vitro culture of fertilized -- sheep ova. *Aust. J. Biol. Sci.*, 23: 721-724.
- Moore, N.W. (1979). Culture, storage and transfer of sheep embryos. In *Sheep breeding*. 2nd ed. Edited by Tomen, J.G., Robertson, D.E. and Lightfoot, R.J., 457-461, Butterworths, London-Boston, 1979.
- Moore, N.W. (1980). Embryo transfer. Procedures and results obtainable in -- sheep and goats. In *Current therapy in theriogenology*. Edited by Morrow, D.A., 89-94, W.B. Saunders Co., Philadelphia, U.S.A.
- Morton, H., Fancarrow, C.D., Scaramuzzi, R.J., Evison, B.W. and Clunie, G.J. A. (1979). Detection of early pregnancy in sheep by the Rosette Inhibition Test. *J. Reprod. Fert.*, 56: 75-80.
- Fancarrow, C.D., Evison, B.W., Scaramuzzi, R.J. and Turnbull, K.B. (1979). - Detection of induced death of embryos in sheep by the Rosette Inhibition Test. *J. Reprod. Fert.*, 57: 385-389.
- Fattah, V.K. and Kohli, I.S. (1982). Vaginal aerobic bacteria in ewes and -- their likely role in causing infertility. *Indian Vet. J.*, 59(6): 454
- Peters, D.F., Anderson, C.B., Bradford, G.E. and Cupps, P.T. (1976). Culture and transfer of sheep embryos. *Proc. West. Soc. Am. Soc. Anim. Sci.*, 27: 217-220.
- Phillippo, K. and Rhind, S.M. (1977). A new laparoscopic technique for the -- diagnosis of pregnancy and the estimation of foetal loss in sheep. *J. Agric. Sci., Camb.*, 89(1): 251-252.
- Prasad, S.P., Joshi, B.C. and Bhattacharyya, N.K. (1979). A study on the mag-- nitude of early embryonic loss in nullipara Barbari goats under differ-- ent ambient environment. *Indian J. Anim. Sci.*, 49(12): 1043-1047.
- Quinlivan, T.D., Martin, C.A., Taylor, W.B. and Cairney, I.M. (1966 a). Esti-- mates of pre and perinatal mortality in the New Zealand Romney Marsh ewe. I Pre and perinatal mortality in those ewes that conceived to -- one service. *J. Reprod. Fert.*, 11: 379-390.
- Quinlivan, T.D., Martin, C.A., Taylor, W.B. and Cairney, I.M. (1966 b). Esti-- mates of pre and perinatal mortality in the New Zealand Romney Marsh ewe. II Pre and perinatal loss in those ewes that conceived to second service and those that returned to second service and were mated a -- third time. *J. Reprod. Fert.*, 11: 391-398.
- Quintana, A.F.G. y Heredia, A.F. (1982). Introducción a la bioestadística, -- Tomo 1. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, U.N.A.M., Méxi-- co, 1982.

- Quirke, J.P. and Hanrahan, J.P. (1977). Comparison of the survival in the uteri of adult ewes of cleaved ova from adult ewes and ewe lambs. *J. - Reprod. Fert.*, 51(2): 487-489.
- Rak, L.P. (1963). Embryonic mortality in Merino-type sheep. *Anim. Breed. --- Abstr.*, 31, No. 2161.
- Restall, B.J., Brown, G.H., Blockey, M.A. de E., Cahill, L. and Kearins, E. (1976 a). Assessment of reproductive wastage in sheep. 1.- Fertilization failure and early embryonic survival. *Aust. J. Exp. Agric. Anim. Husb.*, 16: 329-335.
- Restall, B.J. and Griffiths, L.A. (1976). Assessment of reproductive wastage in sheep. 2.- Interpretation of data concerning embryonic mortality. *Aust. J. Exp. Agric. Anim. Husb.*, 16: 336-343.
- Restall, B.J., Wilkins, J., Milgour, E., Tyrrell, B.N. and Hearnshaw, N. --- (1976 b). Assessment of reproductive wastage in sheep. 3.- An investigation of a commercial sheep flocks. *Aust. J. Exp. Agric. Anim. Husb.* 16: 344-352.
- Reynolds, L.P., Magness, R.R. and Ford, S.P. (1984). Uterine blood flow during early pregnancy in ewes: Interaction between the conceptus and the ovary bearing the corpus luteum. *J. Anim. Sci.*, 58(2): 423-429.
- Rhind, S.M., Robinson, J.J., Fraser, C. and McHattie, I. (1976). Ovulation rate and embryo survival at a hormonally induced oestrus in Finnish Landrace X Dorset Horn ewes. 62nd meeting of the British Society of Animal Production, Harrogate 15, 16 and 17, March, 1976.
- Rhind, S.M., Robinson, J.J., Fraser, C. and McHattie, I. (1980). Ovulation and embryo survival rates and plasma progesterone concentrations of prolific ewes treated with FMSG. *J. Reprod. Fert.*, 58(1): 139-144.
- Rhind, S.M., Gunn, R.G. and Doney, J.M. (1983). A note on reproductive performance and plasma progesterone level during early pregnancy of Scottish Blackface and Cheviot ewes in relation to body condition and level of nutrition prior to mating. *Anim. Prod.*, 37(3): 455-458.
- Rhind, S.M., Doney, J.M., Gunn, R.G. and Leslie, I.D. (1984 a) Effects of body condition and environmental stress on ovulation rate, embryo survival, and associated plasma follicle stimulating hormone, luteinizing hormone, prolactin and progesterone profiles in Scottish Blackface ewes. *Anim. Prod.*, 38(2): 201-209.

- Bhind, S.M., Gunn, R.G., Doney, J.M. and Leslie, I.D. (1984 b). A note on -- the reproductive performance of Greyface ewes in moderately fat and -- very fat condition at mating. *Anim. Prod.*, 38(2): 305-307.
- Ricordeau, G., Nasungles, J., Eychenne, F. et Tchamitchian, L. (1976). Per-- formances de reproduction des brebis Berrichonnes du Cher, Romanov et Croisées. II Composantes de la prolificité. *Annales de Génétique et -- de Sélection Animale.*, 8(1): 25-35.
- Rich, T.D. and Alliston, C.W. (1970). Influence of programmed circadian tem-- perature changes on the reproductive performance of ewes. *J. Anim. -- Sci.*, 30: 966-969.
- Richardson, C. (1972). Pregnancy diagnosis in the ewe: A review. *Vet. Rec.*, 90: 264-275.
- Howson, L.E.A. and Moor, R.M. (1966). Embryo transfer in the sheep: The sig-- nificance of synchronizing oestrus in the donor and recipient animal. *J. Reprod. Fert.*, 11: 207-212.
- Salamon, S. and Lightfoot, R.J. (1967). Fertilization and embryonic loss in sheep after insemination with deep-frozen semen. *Nature, U.K.*, 216: -- 194-195.
- S.A.R.H. Subsecretaría de Agricultura y Operación, Dirección General de Eco-- nomía Agrícola. Estadística del subsector pecuario en los Estados Uni-- dos Mexicanos. 1981.
- Sawyer, G.F. and Knight, T.W. (1975). Detection of embryonic death and obser-- vations on resorption and subsequent fertility in the ewe. *Aust. J. -- Exp. Agric. Anim. Husb.*, 15: 189-192.
- Sawyer, G.J. (1977). Observations on the bacterial population of the os cer-- vix of the ewe before and after embryo death. *Aust. Vet. J.*, 53(1): -- 542-544.
- Schwartz, F.L., Thompson, L.H., Goods, L. and Ulberg, L.C. (1972). Viability of sheep embryos cultured in oviduct fluid collected via canula. *J. -- Anim. Sci.*, 35: 254.
- Schwartz, F.L. and Ulberg, L.C. (1972). Viability of sheep embryos after cul-- ture. *J. Anim. Sci.*, 35: 254.
- Shelton, M. (1962). Relation of one dry season to subsequent reproductive -- performance of fine wool ewes. *Anim. Breed. Abstr.*, 31, No. 2164.
- Shelton, M. (1964). Relation of environmental temperature during gestation to birth weight and mortality of lambs. *J. Anim. Sci.*, 23: 360-364.

- Shelton, M. and Huston, J.E. (1968). Effects of high temperature stress during gestation on certain aspects of reproduction in the ewe. *J. Anim. Sci.*, 27: 153-158.
- Shemesh, H., Ayalon, H. and Mazor, T. (1979). Early pregnancy diagnosis in the ewe, based on milk progesterone levels. *J. Reprod. Fert.*, 56: 301
- Sittmann, K. (1972). Intrauterine migration and mortality of sheep embryos. *Can. J. Anim. Sci.*, 52: 195-196.
- Smith, J.F. and Smith, B.L. (1984). Effect of prenatally selenium and zinc treatments on ovulation rate and embryonic mortality in ewes. In New Zealand, Ministry of Agriculture and Fisheries, Agricultural Research Division. Annual Report. 1982/83. Wellington, New Zealand (1984): 50 (A.B.A., 53, No. 5228).
- Sorensen, A.M. Jr. (1982). Reproducción animal. Principios y prácticas. McGraw-Hill, México, 1982.
- Speedy, A.W., Black, W.J.M. and Fitzsimons, J. (1976). The performance of Friesian Landrace & Dorset Horn ewes mated every six months. 62nd meeting of the British Society of Animal Production, Harrogate 15, 16 and 17, March, 1976.
- Tainturier, D., Lijour, L., Chazari, M., Sardjans, K.W. et Nat, J.L. (1983). Pregnancy diagnosis in the goat by ultrasound. *Revue de Médecine Vet.* 134(11): 597-599. (A.B.A., 52, No. 4745).
- Tassell, R. (1967). The effects of diet on reproduction in pigs, sheep and cattle. III Plane of nutrition in sheep. *Br. Vet. J.*, 123: 257-264.
- Taverna, K.A. (1984). The use of linear-array real-time echography in veterinary obstetrics and gynecology. *Tijdschr. Diergeneesk.*, 109(12): 494
- Tervit, H.R. and McDonald, M.F. (1968). Cleavage of ova in New Zealand Romney ewes. *N. Z. J. Agric. Res.*, 11: 39-46.
- Tervit, H.R. and Rowson, L.E.A. (1974). Birth of lambs after culture of sheep ova in vitro for up to 6 days. *J. Reprod. Fert.*, 38: 177-179.
- Tervit, H.R. (1983). Deep freeze preservation of domestic animal embryos. In New Zealand Ministry of Agriculture and Fisheries, Agricultural Research Division. Annual Report 1981/1982. (1983): 49. (A.B.A., 52: 1848)
- Thwaites, C.J. (1967). Embryo mortality in the heat stressed ewe. I The influence of breed. *J. Reprod. Fert.*, 14: 5-14.
- Thwaites, C.J. (1969). Embryo mortality in the heat stressed ewe. II Application of hot-room results to field conditions. *J. Reprod. Fert.*, 19: 255-263.

- Thwaites, C.J. (1970). Embryo mortality in the heat stressed ewe. III The role of the corpus luteum, thyroid and adrenal glands. *J. Reprod. Fert.* 21: 95-107.
- Thwaites, C.J. (1971). Short term heat stress and embryo mortality in the ewe. *Aust. J. Exp. Agric. Anim. Husb.*, 11: 265-267.
- Thwaites, C.J. (1972). The time course of embryonic resorption in the ewe. *Aust. J. Biol. Sci.*, 25: 597-603.
- Trounson, A.O., Willadsen, S.M. and Moor, R.M. (1976). Effect of prostaglandin analogue Cloprostenol on oestrus, ovulation and embryonic viability in sheep. *J. Agric. Sci., Camb.*, 86(3): 609-611.
- Trounson, A.O., Willadsen, S.M. and Moor, R.M. (1977). Reproductive function in prepubertal lambs: Ovulation, embryo development and ovarian steroidogenesis. *J. Reprod. Fert.*, 49: 69-75.
- Tsamis, K. and Poilas, S. (1983). Induction of fertile oestrus in ewes by administration of prostaglandin (F2_α) a month before the beginning of the breeding season. *Bull. Hell. Vet. Med. Soc.*, 34(2): 149-153. (A.B.A., 52, No. 2598).
- Tucker, E.M., McGovern, P.T. and Hancock, J.L. (1971). Serological investigations into the cause of death of goat X sheep hybrid foetuses. *J. Reprod. Fert.*, 27: 417-425.
- Turnbull, K.E., Braden, A.W.H. and George, J.M. (1966). Fertilization and early embryonic losses in ewes that had grazed oestrogenic pastures for 6 years. *Aust. J. Agric. Res.*, 17: 907-917.
- Turner, H.W. and Dolling, C.H.S. (1965). Vital statistics for an experimental flock of Merino sheep. II The influence of age on reproductive performance. *Aust. J. Agric. Res.*, 16: 699-712.
- Tyrrell, B.N., Olsson, A.R., Ferguson, B.D., O'Halloran, W.J. and Kilgour, R.J. (1979). Evidence and confirmation of late embryo loss in a flock of Merino ewes. In *Sheep breeding*. 2nd ed. Edited by Tomes, J.C., Robertson, D.E. and Lightfoot, R.J., 327-333, Butterworths, London-Boston, 1979.
- Ulberg, L.C. and Burfening, P.J. (1967). Embryo death resultin from adverse environment on spermatozoa or ova. *J. Anim. Sci.*, 26: 571-577.
- Van Kampen, K.R., Binns, W., James, L.F. and Balls, L.D. (1969). Early embryonic death in ewes given Veratrum californicum. *Am. J. Vet. Res.*, 30: 517-519.

- Vincent, C.K. and Ulberg, L.C. (1965). Survival of sheep embryos exposed to high temperature. *J. Anim. Sci.*, 14: 931-932.
- Watson, R.H. and Radford, H.M. (1966). Seasonal variation in fertility in Merino ewes: The reproductive wastage associated with mating - in Winter, Spring, Summer and Autumn. *Aust. J. Agric. Res.*, 17: 335-345.
- Whiteman, J.V. (1965). Relationships between ovulation rate and lambing rate. *J. Anim. Sci.*, 14: 911.
- Wilkins, J.F., Fowler, D.G., Piper, L.R. and Emdin, L.M. (1962). Observations on litter size and reproductive wastage using ultrasonic scanning. *Proc. Aust. Soc. Anim. Prod.*, 14: 637.
- Willadsen, S.K., Polge, C., Rowson, L.E.A. and Moor, R.M. (1976). Deep freezing of sheep embryos. *J. Reprod. Fert.*, 46(1): 151-154.
- Willoughby, S.S. (1974). *Probabilidad y estadística*, 3^a ed. Publicaciones Cultural, México, 1974.
- Wilmut, I. and Sales, D.I. (1983). Does hormonal imbalance cause death of embryos in sheep. *Animal Breeding Research Organization, Edinburgh, U.K.; Agricultural Research Council.*, 25-30.
- Woody, C.O., Alliston, G.W., Goode, L. and Ulberg, L.C. (1962). Critical period of reproduction in ewes at 90°F. *J. Anim. Sci.*, 21: 1032.
- Woody, C.O. and Ulberg, L.C. (1964). Viability of one-cell sheep ova as affected by high environmental temperature. *J. Reprod. Fert.*, 7: 275-280.
- Wright, R.W., Anderson, G.B., Cupps, F.T., Drost, M. and Bradford, G.E. (1975). In vitro culture of embryos from adult and prepubertal ewes. *J. Anim. Sci.*, 42(4): 912-917.
- Wroth, R.H. and Lightfoot, R.J. (1976). A study of reproductive wastage among commercial sheep flocks grazing oestrogenic pastures in South Western Australia. *Proc. Aust. Soc. Anim. Prod.*, 11: 225-228.