

84
2 y.



*Universidad Nacional Autónoma
de México*

*Facultad de Estudios Superiores
Cuautitlán*

*Comparación de la Eficiencia de las Soluciones
Dulbecco y de Hartmann como medio para la
Recolección y Transferencia Quirúrgica en Fresco
de Embriones Bovinos*

T E S I S
*Que para obtener el Título de
Médico Veterinario Zootecnista
P r e s e n t a*

Luis Suárez de los Cobos



Director de Tesis:

M.V.Z. Humberto Arellano Sánchez



Cuautitlán Izcalli Edo. de México 1989

OCT. 27 1989

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



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.

INDICE

I. RESUMEN	1
II. INTRODUCCION	2
III. OBJETIVO	6
IV. HIPOTESIS	7
V. MATERIAL Y METODO	8
VI. RESULTADOS	15
VII. ANALISIS ECONOMICO	17
VIII. DISCUSION	19
IX. CONCLUSIONES	20
X. BIBLIOGRAFIA	21

R E S U M E N

Para evaluar comparativamente la eficiencia de las soluciones de Dulbecco (PBS) y de Hartmann (SH) modificadas para la transferencia en fresco de embriones bovinos, se transfirieron por el método quirúrgico (111) embriones. 63 con P.B.S. y 48 con S.H.. Obteniendo al diagnóstico de gestación a 90 días 21 y 33 receptoras gestantes respectivamente; lo que equivale a 33.33% y 68.75% (P 0.05).

El costo de preparación de un litro de cada una de las soluciones fue de ----- \$13,860.00 para S.H. y de \$25,250.00 para P.B.S.. Considerando otros gastos directos para el proceso de transferencia de embriones y la eficiencia obtenida - con cada medio el costo final por gestación fue de \$209,256.36 para solución -- Hartmann y de \$667,333.33 para solución Dulbecco.

Por lo anterior expuesto se recomienda la utilización de solución Hartmann modificada para la recolección, mantenimiento y transferencia quirúrgica en fresco de embriones bovinos

I N T R O D U C C I O N

La primera transferencia embrionaria exitosa fue realizada el 27 de Abril de 1890 en Cambridge, Inglaterra, por Walter Heape utilizando conejas a fin de determinar el efecto del útero sobre las crías ajenas y el efecto de éstas sobre las crías propias (Heape, 1891).

En términos generales, la transferencia de embriones consiste en la extracción de embriones en las primeras fases de su desarrollo de una hembra que fue fecundada previamente (donadora) y su subsecuente transferencia al aparato reproductor de otra hembra (receptora) donde completará su desarrollo embrionario y fetal hasta el momento del nacimiento. Durante el proceso se sigue una serie de pasos que incluyen la superovulación e inseminación de la donadora, la sincronización estral con las receptoras, la recuperación y almacenamiento in vitro de los embriones y finalmente su transferencia a las receptoras (Seidel, 1981 a).

Las ventajas que se pueden obtener con la transferencia de embriones son muchas y muy importantes: se pueden obtener genotipos deseables en un periodo corto de tiempo, acelerar la tasa anual de mejoramiento genético, reducir el intervalo generacional, el cual es determinante en el cambio genético anual (Mc. Daniels y Cassell, 1981; Smith, 1988), inducir partos gemelares, inducir y adaptar razas a lugares diferentes a su medio, incrementar por medio de la superovulación, el número de descendientes de animales de calidad genética superior (Saumande y Col; 1986) y emplear donadoras o receptoras a ciertos tipos de vacas infértiles (Elsden, 1979).

Entre los factores de mayor importancia para el éxito de la transferencia de embriones, Foote y Onuma (1970) citan en primer lugar en una amplia revisión bibliográfica, el medio empleado para la recolección, almacenamiento a corto plazo y transferencia de embriones.

Los embriones deben mantenerse viables en una solución nutritiva durante el periodo comprendido entre la recolección de la donadora y la transferencia a las receptoras, ya que son bastantes frágiles y no resisten cambios físicos y/o químicos bruscos. Los factores que pueden aceptar la viabilidad embrionaria durante el almacenamiento a corto plazo son la temperatura, PH, osmolaridad, esterilidad y toxicidad del medio (Elsden y Seidel, 1985). Los embriones bovinos pueden mantenerse a temperatura ambiente (15-25°C) o en incubadoras a 37°C. El medio debe mantener un PH fisiológico (7.2 a 7.6) y tener una osmolaridad de 270 a 310 mOsm/Kg. La mayoría de los medios son soluciones complejas que tienen sales, vitaminas, aminoácidos, un sistema amortiguador del PH, carbohidratos, antibióticos para mantener su esterilidad y macromoléculas para prevenir la flotación de los embriones y adherencia al vidrio o plástico; (usualmente se emplea suero sanguíneo homólogo o albumina sérica bovina, que es uno de los componentes del suero (Elsden y Seidel, 1985). También puede emplearse suero fetal bovino, suero de oveja menor de un año, suero de becerro recién nacido, suero de novillo normal de 185 a 218 días de edad castrado antes de los cuatro meses (Voelkel y Col., 1981). Chang (1947) demostró que el suero de algunas especies, incluyendo el bovino y ovino contienen un factor termolábil, el complemento que es letal para los embriones de conejo después de 10 minutos de exposición, pero que se destruye al calentar el suero a 55°C durante 30 minutos (Termoinactivación).

El agua constituye el 98% del contenido del medio, por lo cual es de vital importancia que sea de alta calidad. Normalmente se emplea agua tridestilada desionizada esterilizada mediante filtración milipore (Kane, 1974). En cuanto a sus tratamentos energéticos se ha observado que el medio que contiene glucosa como único carbohidrato no es apropiado para el desarrollo de embriones bovinos en estadio de morula por lo que se recomienda la utilización de piruvato o lactato de sodio, importan-

tes para la supervivencia de blastocitos (Boone y Dickey, 1978).

Desde los primeros intentos de recolección de embriones se han empleado diferentes medios, tales como una solución de cloruro de sodio al 0.75% empleados por Spee en 1883 (Betterdige, 1981), suero sanguíneo homólogo (Chang 1947), fluido folicular (Seidel, 1977), solución salina fisiológica al 0.9% (Hafez y Sugie, 1963), solución de Ringer y suero homólogo (Sugie, 1965), EMOC-2 y EMOC-3 (Brinster, 1963), F-10 de Ham modificado (Onuma y Foote, 1969), medio de cultivo de tejidos TCM-199 (Rowson y Col., 1969), solución salina amortiguada con fosfatos (PBS) de Dulbecco suplementada con albúmina sérica bovina, lactato y piruvato de sodio, glucosa y antibióticos (Whittingham y Wales, 1969), solución de Hartmann suplementada con bicarbonato de sodio, suero homólogo y antibióticos (Kane, 1974) y medio B-Z de Menezes (Renard y Col., 1976; Seidel, 1981. b).

El medio empleado para la recolección y transferencia en los primeros trabajos exitosos fue suero homólogo (Willet y Col., 1947 y 1953). Mutter y Col. (1964) informaron de la primera transferencia no quirúrgica exitosa en ganado bovino, para la cual utilizaron como medio de recolección y transferencia solución salina fisiológica al 0.9%.

La solución de dulbecco, que posee un PH de 7.2 y una osmolaridad de 287.6 miliosmoles/Kilogramo; es la que actualmente se emplea casi de manera universal para la recolección, almacenamiento y transferencia de embiones en las especies domésticas (Sreenan y Diskin, 1982), debido principalmente a que en la mayoría de los otros medios mencionados el PH debe amortiguarse con bicarbonato de sodio y se requiere de una atmósfera con 5% de CO₂ para lograrlo (Dulbecco y Vogt, 1954).

Recientemente se ha estado usando en nuestro país la solución de Hartmann como medio alternativo de menor costo y mayor disponibilidad que la solución de Dulbecco

para la transferencia en fresco de embriones de rata (Verros, 1985; Soto Valle, 1985), de bovino (Astiazarán y Longoria, 1988; Asprón y Col., 1988 a) o utilizándola para la recolección, congelamiento, descongelamiento y transferencia de embriones bovinos (Ponce, 1988; Ponce y Col., 1988; Asprón y Col., 1988 b), debido a que su composición y propiedades son similares.

La solución de Hartmann ha resultado efectiva en la transferencia de embriones bovinos, además de que su costo es mucho menor que el de la solución de Dulbecco (que es de importación) y se consigue fácilmente casi en cualquier farmacia del país. Sin embargo, hay pocos reportes en la literatura (Asprón y Col., 1987 y - 1988 b) en los que se compara la eficiencia de ambas soluciones en la transferencia en fresco de embriones bovinos, aunque con un número de observaciones relativamente baja.

OBJETIVO

Evaluar de manera comparativa la eficiencia de las soluciones de Dulbecco y de Hartmann en la recolección, mantenimiento y transferencia quirúrgica en fresco de embriones bovinos en base a su visibilidad in vivo en función de su desarrollo fetal a los 90 días de gestación.

H I P O T E S I S

Si la solución de Dulbecco posee componentes salinos y energéticos y propiedades físico-químicas equiparables a los de la solución de Hartmann modificada, es de esperarse que ésta última pueda emplearse de igual manera en los procesos de recolección, almacenamiento a corto plazo y transferencia quirúrgica en fresco de embriones bovinos.

MATERIAL Y METODO

LOCALIZACION

El presente estudio se realizó en el laboratorio del departamento de transferencia de embriones del Centro Nacional de Mejoramiento Genético y Reproducción Animal dependiente de la Dirección General de Normatividad Pecuaria de la Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos, ubicado en el kilómetro 50 de la carretera Querétaro - Bernal, en Ajuchitlán, Municipio de Colón, Querétaro.

MATERIAL BIOLOGICO

Se utilizaron (111) embriones bovinos procedentes de donadoras de las razas Salers, Charolais, Indobrasil y Nelore.

Los embriones se obtuvieron mediante superovulación con (18-36 mg.) de FSH-P (Lab. Scheramex) inseminación artificial múltiple con semen congelado de toros de las mismas razas y se recolectaron con técnica no quirúrgica (Elsden y Col. 1976) utilizando un filtro concentrador de embriones (Pugh y Col., 1980).

SUPEROVULACION

En el presente trabajo se utilizaron (111) embriones procedentes de 25 donadoras, recolectados en 25 lavados, las cuales se superovularon con FSH-P (Lab. Scheramex). Se utilizaron dosis con rango de (18-36 mg.) aplicadas por vía intramuscular en dosis descendentes con intervalo de 12 horas cada una a partir del noveno día del estro base de las donadoras siendo en el día del ciclo estral.

La inducción de los estros se logró mediante la aplicación de la prostaglandi-

na pg2 alfa (Lutalise Lab. Tuco) en dosis de 25 mg. de pg2 alfa administrado por vía intramuscular en dosis fraccionadas a las 48 horas del inicio del tratamiento con FSH-P y manifestando el estro a las 72 horas de haber aplicado - la primera dosis de pg2 alfa.

La inseminación artificial se realizó a todas las donadoras con semen congelado con dos dosis por servicio siendo éstos a las 12, 24, 36 horas después de detectado el estro.

RECOLECCION DE EMBRIONES

La recolección de embriones se realizó por el método no quirúrgico siendo la técnica diseñada por (Elsden, 1976) con lavados simultáneos y cuerno por cuerno según la respuesta ovárica y se utilizó un filtro concentrador de embriones. En general e independientemente de la solución empleada (SH ó PBS) se tomó como base la preparación de un litro de solución, sin embargo la cantidad utilizada para efectuar cada lavado estuvo determinada por el número de cuerpos lúteos palpables en cada ovario, en promedio la cantidad utilizada fue de 875 ml. por vaca.

La edad de los embriones recolectados fue de 6-8 días después de haber mostrado el estro la donadora (tomando éste como día cero) las veinticinco recolecciones se realizaron el séptimo día después del estro base.

Se aplicó anestesia epidural utilizando de 4-7 ml. de Xilocaína al 2% (Lab. - Astra) dependiendo del peso y tamaño de la vaca donadora. La utilización de - anestesia epidural, provoca la relajación muscular del área pélvica lo cual - facilita la manipulación del recto y el tracto reproductor durante el lavado. Luego de aplicar la anestesia se lavó la región vulvar con agua y jabón, se - sujetó la cola del animal a un costado para evitar molestias y contaminación

y por último se desinfectó la región vulvar con alcohol dejando secar perfectamente.

PREPARACION DE SOLUCIONES

A) Solución salina amortiguada con fosfatos (PBS) de Dulbecco.-

Se empleó PBS de Laboratorios Gibco, en polvo disuelto en un litro de agua tridestilada estéril y desmineralizada, haciendo por separado las soluciones de los dos sobres de sales de que consta esta presentación de - PBS. Esta se utilizó en (14) donadoras.

B) Solución de Hartmann.-

Se empleó la solución de Hartmann 1000 de Laboratorios Abbott, la cual está lista para usarse y se le adicionó 350 mg./Lt. de bicarbonato de sodio para ajustar su PH a 7.2 - 7.6. Esta solución se utilizó en (11) donadoras.

A ambas soluciones se les adicionaron 100,000 UI/Litro de penicilina "G" sólida cristalina (Laboratorios Lakeside) y 50 mg./lt. de estreptomycin "S" (Laboratorios Lakeside).

COMPOSICION DE LAS SOLUCIONES UTILIZADAS PARA LA
RECOLECCION Y TRANSFERENCIA DE EMBRIONES/LITRO

<u>Ingredientes</u>	<u>SH</u> <u>Modificada (*)</u>	<u>PBS</u> <u>de Dulbecco (**)</u>
<u>Sales Orgánicas</u>		
NaCl	6,000 mg.	8,000 mg.
KCl	300 mg.	200 mg.
CaCl	200 mg.	100 mg.
MgCl ₂ 6H ₂ O	-----	100 mg.
Na ₂ H PO ₄	-----	1,500 mg.
KH ₂ PO ₄	-----	200 mg.
<u>Fuentes Energéticas</u>		
Glucosa	-----	1,000 mg.
Piruvato de Sodio	-----	36 mg.
Lactato de Sodio	310 mg.	-----
<u>Suplementos Proteicos</u>		
Suero de Ternera		
Recolección 1X	10 ml.	10 ml.
Transferencia 10X	100 ml.	100 ml.
<u>Antibióticos</u>		
Penicilina "C" Sódica	100,000 UI.	100,000 UI.
Estreptomina "S"	50 mg.	50 mg.

(*) Lab. Abbott-Mex.

(**) Lab. Gibco-U.S.A.

TECNICA DE RECOLECCION

Se introdujo un dilatador de acero inoxidable desinfectado y lavado con la solución (SH ó PBS) por vía vaginal atravesando el cérvix para reconocer obstrucciones y dilatar el mismo, el cual se encuentra cerrado en el séptimo día después del ciclo estral, que es el día del lavado.

Una vez retirado el dilatador se introduce la sonda de Foley de calibre y globo determinado según el tipo de cuello y longitud del cuerno en cuestión. A la sonda de Foley se le cubre con una camisa sanitaria que sirve para evitar contaminación de la vulva y vagina con la sonda, ya que esta camisa se retiró --- cuando la punta de la sonda llega a la flor radiada u orificio de tenca del cérvix. A la sonda se le proporcionó rigidez utilizando un estilete de metal previamente lavado y desinfectado; luego de colocar la sonda en posición se procedió a inflar el globo de la misma con el líquido de la recolección o lavado y de este modo obstruir la salida del medio de lavado y solo permitirlo por el interior de la sonda.

Los lavados se realizaron permitiendo la entrada de medio de recolección de -- (80-100 ml.) y masajeando por vía rectal con un guante para inseminación artificial previamente lubricado y recolectando éste fluido por gravedad en un filtro colector de embriones. Este proceso se realizó hasta terminar de lavar con (850-1000 ml.) con lavado simultáneo sea (PBS ó SH).

Este filtro se enjuaga con la misma solución del lavado a presión con una jeringa y se decanta en una caja de Petri para la localización y clasificación de los embriones colectados.

EVALUACION Y CLASIFICACION DE EMBRIONES

La evaluación de los embriones se realizó inmediatamente después de la recolec

ción. Se buscaron en el medio original de recolección (PBS ó SH suplementados con 1% de suero homólogo de ternero) en un microscopio estereoscópico (Nausch & Lomb) a 15 aumentos. Una vez identificados se pasaron a su respectiva solución suplementada ahora con 10% de suero de ternera y se clasificaron y evaluaron a 70 aumentos con el mismo microscopio y manteniéndolos en ésta solución - hasta el momento de su transferencia.

TECNICA DE TRANSFERENCIA

La técnica empleada en el método quirúrgico para la transferencia de embriones es la laparatomía media vertebral con el animal en pie. En el flanco correspondiente al cuerno uterino ipsilateral al cuerpo lúteo presente en el ovario de la receptora detectado previamente por palpación transrectal.

Se lavó perfectamente la zona y se rasuró en una área de 20 por 25 cms. en la región del "hijar". Se anestesió localmente a la receptora en los planos muscular y subcutáneo en dirección dorso ventral con 35-50 ml. de Xilocaína al 2% (Laboratorios Astra). En la región anestesiada se realizó un corte con bisturí en piel, los músculos oblicuo interno, oblicuo externo y recto abdominal se separaron por tracción manual en dirección de sus fibras y por último el peritoneo se cortó con tijeras en dirección dorso ventral.

Después de confirmar la presencia del cuerpo lúteo en el ovario por palpación directa se procedió a localizar y exteriorizar el cuerno uterino con el dedo índice y pulgar como pinzas de sujeción; con un estilete de punta roma se realizó una punción que nos comunica con el lumen del cuerno uterino, inmediatamente después se introdujo una micropipeta de vidrio con el embrión en una pequeña cantidad de (0.2 ml.) de su respectiva solución y se depositó en el lumen del cuerno uterino en dirección al tercio anterior.

Después de revisar cuidadosamente al microscopio la micropipeta, para asegurarnos de que el embrión no se encuentra en ella y que si fue depositado en el cuerno uterino de la receptora, procedimos a saturarla por planos, utilizando cat-gut crómico # 2 con puntos en "X" para peritoneo y músculo y para piel se utilizaron puntos en "U" con seda quirúrgica. Finalmente se aplicó cicatrizante en la herida y penicilina estreptomocina por vía parenteral por tres días postoperatorios.

Los embriones se transfirieron a las receptoras en un lapso de 3-6 horas después de su obtención de las donadoras.

EVALUACION DE RESULTADOS

Las receptoras transferidas se palparon transrectalmente a los 50 y 90 días después de su estro sincronizado, para realizar su diagnóstico de gestación. Los resultados de porcentaje de gestación empleando cada solución se sometieron a análisis estadístico por el método de Xi-cuadrada.

Así mismo, se realizó un análisis económico de costo-beneficio para cada una de las soluciones, tomando el costo de materias primas, productos terminados y mano de obra empleada para su preparación.

R E S U L T A D O S

De los (111) embriones transferidos quirúrgicamente hubo 54 gestaciones detectadas por palpación transrectal a los 90 días (48.64%). Utilizando como medio la solución de Dulbecco, 21 de los 63 embriones transferidos produjeron preñeces (33.33%) y 33 de los 48 embriones transferidos con solución de Hartmann -- (68.75%) produjeron preñeces. Esta diferencia fue estadísticamente significativa (P 0.05).

En el cuadro #1 y gráfica #1 a continuación, se muestran los resultados obtenidos.

CUADRO #1

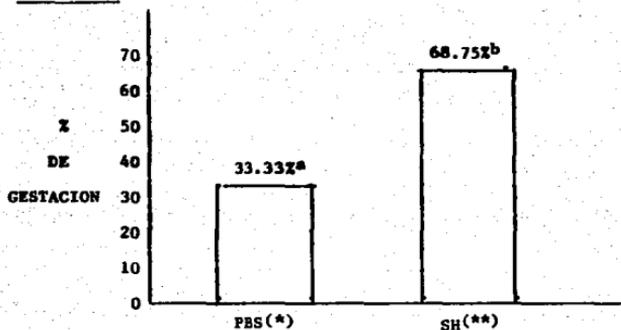
EFFECTO DEL MEDIO DE RECOLECCION ESTANCIA Y TRANSFERENCIA SOBRE EL PORCENTAJE DE GESTACION CON EMBRIONES BOVINOS TRANSFERIDOS QUIRURGICAMENTE EN FRESCO.

MEDIO UTILIZADO	EMBRIONES TRANSFERIDOS	RECEPTORAS GESTANTES	% DE GESTACION
PBS(*)	63	21	33.33% a
PBS(**)	48	33	68.75% b
TOTAL	111	54	48.64%

x² a,b (p < 0.05)

(*) Solución salina amortiguada con fosfato de Dulbecco modificada

(**) Solución de Hartmann modificada

GRAFICA #1

χ^2 a,b ($p < 0.05$)

(*) Solución salina amortiguada con fosfatos de Dulbecco modificada

(**) Solución de Hartmann modificada

ANALISIS ECONOMICO

En el cuadro #2 se hace la comparación del costo de materias primas, mano de obra y preparación de cada una de las soluciones empleadas considerando el tipo de cambio actual de \$2,600.00 M.N. por dólar U.S. para aquellos materiales de importación.

CUADRO #2

COSTO DE PREPARACION DE UN LITRO DE SOLUCION PARA RECOLECCION ESTANCIA Y TRANSFERENCIA QUIRURGICA DE EMBRIONES BOVINOS EN FRESCO

CONCEPTO/SOLUCION	PBS	SH
Solución Hartmann	-----	\$4,500.00
PBS en polvo	\$3,900.00	-----
Bicarbonato de Sodio (0.35 g)	-----	\$ 10.00
Estreptomina (50 mg)	\$ 200.00	\$ 200.00
Penicilina G Sódica (100,000 U.I.)	\$ 250.00	\$ 250.00
Suero de ternera termoinactivado	\$5,000.00	\$5,000.00
Filtro Millipore (0.45 Um)	\$3,900.00	\$3,900.00
Agua tridestilada 1 lt.	\$4,000.00	-----
Mano de Obra (medio salario mínimo por día)	\$5,000.00	-----
Gasto de Importación	\$3,000.00	-----
T O T A L	\$ 25,250.00	\$ 13,860.00

NOTA:

Los precios marcados en este cuadro se indican en M.N.

Como se muestra en el cuadro anterior el costo de la solución de Dulbecco fue \$11,390.00 M.N. superior al de la solución de Hartmann modificada, lo cual representa un 54.9% de diferencia.

Si consideramos que para obtener los embriones empleados en éste trabajo se realizó la recolección de 14 donadoras con PBS y 11 donadoras con SH. El costo promedio por gestación fue de \$16,833.33 M.N. para la primera solución y de \$4,620.00 M.N. para la segunda; lo cual representa un costo 3.64 veces más en el caso de la solución PBS.

Tomando en cuenta que el costo por cada transferencia quirúrgica fue de \$73,500.00 M.N. y que el costo de alimentación de las receptoras que no resultaron gestantes fue de \$215,000.00 M.N. por el periodo del día de la transferencia al diagnóstico de gestación ($\$5,000 \times 43 \text{ días} = \$215,000$); el costo promedio por gestación cuando se empleó PBS fue de \$667,333.33 M.N. y para solución Hartmann de \$209,256.36 M.N. y ésto representó un gasto 3.19 veces mayor para la preñeces logradas con PBS.

D I S C U S I O N

El promedio de 4.5 embriones transferibles por donadora obtenido en este estudio concuerda con lo reportado por varios autores (Batteridge, 1977; Elsdén y Col., 1976; Lindsel y Col., 1985) pero es menor a lo reportado por Leibo (1986). En lo referente al porcentaje de gestación logrado con la transferencia quirúrgica en fresco el 68.75% obtenido con la solución Hartmann es superior a lo reportado por Astiazarán y Longoria (1988) que obtuvieron 35.3% empleando esta solución y es similar a lo obtenido con PBS por Evans y Col. (1979); Godkin y Col. (1987) y King (1985).

Con los embriones manejados con PBS se obtuvo 33.3% de preñez, lo cual es similar a lo reportado por Curtis y Col. (1981); Nelson y Col. (1982); Nibert y Col. (1986), pero es inferior a lo reportado por Evans y Col. (1979); Godkin y Col. (1987); King (1985); Rouson y Col. (1969).

El bajo porcentaje de gestación obtenido al emplear como medio de recolección, estancia y transferencia quirúrgica la solución salina amortiguada con fosfatos de Dulbecco pudo haberse debido a contaminación del medio durante su preparación o a la calidad del agua utilizada

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

CONCLUSIONES

- 1).- El medio empleado para la recolección, mantenimiento y transferencia quirúrgica en fresco, afectó significativamente ($p < 0.05$) el porcentaje de gestación obtenido con embriones bovinos, habiéndose logrado 21 gestaciones con 63 embriones procesados con solución de Dulbecco (33.33%) y 33 gestaciones con 48 embriones manejados con solución de Hartmann (68.75%).
- 2).- El costo de preparación de un litro de la solución de Hartmann fue 54.9% menor que el de la solución de Dulbecco (\$13,860.00 M.N. y \$25,250.00 -- M.N. respectivamente)
- 3).- Si se tomaran en cuenta otros costos directos del proceso de transferencia de embriones como alimentación de las receptoras que no lograron la preñez a 90 días y los gastos de la transferencia quirúrgica el costo final por preñez fue 3.19 veces mayor cuando se empleó PBS (\$667,333.33), que cuando se utilizó solución Hartmann (\$209,256.36).
- 4).- Se concluye que la solución de Hartmann por su menor costo, disponibilidad en el mercado nacional y mayor porcentaje de preñez logrado, se recomienda para la recolección, mantenimiento y transferencia quirúrgica en fresco de embriones bovinos.

B I B L I O G R A F I A

1. Asprón, P.M.A., Paredes, R.L.R., Crespo, O.F. y Rivera, S.R.: Determinación de la eficiencia de la Solución Hartmann como medio para la recolección y transferencia de embriones bovinos. Memorias Reunión Invest. Pec. México 1987, México, D.F., p 410. (1987)
2. Asprón, P.M.A., Paredes, R.L.R., y Crespo, O.F.: Transferencia quirúrgica de embriones bovinos frescos con solución de Dulbecco o solución de Hartmann. Memorias XIV Congr. Nal. Buiatría, Querétaro, Qro., p. 24 (1988a)
3. Asprón, P.M.A., y Crespo, O.F.: Eficiencia de las soluciones de Dulbecco y de Hartmann en la transferencia de embriones bovinos congelados/descongelados. Memorias XIV Congr. Nal. Buiatría, Querétaro, Qro., p.25 (1988b)
4. Astiazarán, J.R. and Longoria, J.: Hartmann's solution as a medium for -- collection and transfer of rat and cow embryos. Theriogenology 29 p.215 (1988)
5. Berroa, D.: Valoración de la solución Hartmann suplementada para la recolección de embriones. Tesis de licenciatura. Fac. Med. Vet. Zoot. U.N.A.M, México, D.F., (1985)
6. Betteridge, J.K.: Superovulation in embryo transfer in farm animals. Editado por: J.K. Betteridge Canada Dep. Agricultura. Monografía 16, p.1-9 --- (1977)
7. Betteridge, J.K.: An historical look at embryo transfer. J.Reprod.Fert. 62 p.1-13 (1981)
8. Boone, W.R. and J.F. Dickey.: Culture of ovine and bovine ova. J.Anim.Sci. 47 p.908 (1978)
9. Brinster, R.L.: A method for in vitro cultivation of mouse ova from two-cell to blastocyst. Exp.Cell.Res. 32 p.205-208 (1963)
10. Chang, C.M.: Normal development of fertilized rabbit ova stored at low -- temperatures for several days. Nature 159 p.602-603 (1947)
11. Curtis, J.L., R.P. Elsdon and G.E. Seidel, Jr.: Non-surgical transfer of bovine embryos. Theriogenology 15 p.124 (1981)

12. Dulbecco, R. and Vogt, M.: Plaque formation and insulations of pure lines with poliomyelitis viruses. *J. Exp. Med.* 99 p.167 (1954)
13. Elsdon, R.P., Nelson, J.F. and Seidel, G.E. Jr.: Non-surgical recovery of bovine eggs. *Theriogenology* 6 p.523 (1976)
14. Elsdon, R.P., L.D. Nelson and Seidel, G.E. Jr.: Embryo transfer thecnics in fertile and infertile cause. *Theriogenology* 11 p.17-25 (1979)
15. Elsdon, R.P. and Seidel, G.E. Jr.: Procedures for recovery, bisection, -- freezing and transfer of bovine embryos. Colorado State University Ft. -- Collins, Colorado, E.U.A. p.1-4 (1985)
16. Evans, J.F., Hesseltine G.R. and Kenney, R.M.: Standing paralumbar approach for surgical embryo transfer in cattle. *Theriogenology* 11 p.97 (1979)
17. Farrand, G.D.: Identification, clasification and handling of embryos. --- Proc. Short course on embryo transfer in beef cattle. Colorado State University, Ft. Collins, Colorado, E.U.A. (1981)
18. Foote, R.H. and Onumma, H.: Superovulation ovum collection, culture and - transfer: A review. *J. Dairy Sci.* 53: p.1681-1692 (1970)
19. Godkin, A.M., Leslie, K.E., Wain, G.M. and Leslie, B.E.: Factors effecting pregnancy rate following non-surgical transfers of froozen bovine embryos. *Theriogenology* 27 No. 1 p.230 (1987)
20. Hafez, E.S.E. and Sugie, T.: Reciprocal transfer of cattle and rabbit embryos. *J. Anim. Sci.* 22: p.45-49 (1963)
21. Heape, W.: Preliminary note on the transplantation and growth of mammalian ova within a uterine foster mother. *Proc. Roy. Soc. (London)* 48: p.457 -- (1890)
22. Kane, T.M.: The effects of pH on culture of one cell rabbit ova to blasto_ cyst on bicarbonate buffered medium. *J. Reprod. Fert.* 38: p.477-480 (1974)
23. King, W.A.: Intinsic embrionic factors that may affect survival after --- transfer. *Theriogenology* 3 No.1 p.161-171 (1985)
24. Leibo, S.P.: Comercial production of pregnancies from one-step diluted -- froozen-thawed bovine embryos. *Theriogenology* 25 No. 1 p.166 (1986)

25. Lindsel, C.E., Pawlyshyn, U., Beilan, A., Ski and Mapletof, R.J.: Superovulation of heifers with Fsh-p beginning on for different days of the cycle. *Theriogenology* 25 No. 1 p.203 (1985)
26. McDaniel, D.T. and Cassell, B.G.: Effects of embryo transfer on genetic change in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 64 p.2484-2492 (1981)
27. Mutter, L.R., Groden, A.P. and Olds, D.: Successful non-surgical bovine - embryo transfer. *A.I. Digest.*, 12 p.3 (1964)
28. Nelson, L.D., Elsdon, R.P., Seidel, G.E. Jr.: Effect of synchroni between estrus cycles of donors and recipients on pregnancy rates in cattle. *Theriogenology* 17 No. 1 p.101 (1982)
29. Nibart, M.B., Florin, F., Mechekour, P. Humblot and Thibler, M.: Range of pregnancy rates of surgically transferred bovine embryos. *Theriogenology* - 25 No. 1 p-176 (1986)
30. Onuma, H. and Foote, R.H.: Factors affecting superovulation, fertilization and recovery of superovulated ova in prepuberal cattle. *J. Reprod. - Fertil.* 21 p.119-122 (1969)
31. Ponce, V.J.G.: Evaluación de la solución Hartmann modificada como medio - alternativo para la recolección, congelamiento y transferencia de embriones bovinos. Tesis de licenciatura, Div. Cienc. Agrop. y Marit. Dep. Zoot. I.T.E.S.M.-C. Qro., Querétaro, México. (1988)
32. Ponce, V.J.G., Gastelum, P.E., Rodríguez, R.J., Pedroza, P.D., Paredes, - R.L.R. y Asprón, P.M.A.: Transferencia de embriones de raza salers congelados-descongelados. Factores que afectan los resultados. Mem. XIV Cong. Nal. Buiatría, Querétaro, Qro. p.22 (1988)
33. Pugh, A., Trounson, A.O., Aards, M.H. and McPhee, S.: Bovine embryo recovery by filtration of non-surgical flushing. *Theriogenology* 13 p.281-285 (1980)
34. Renard, J.P., DuMensil du Boisson, F., Wintenberger Torres, S. and Menezo, Y.: In vitro culture of cow embryos from day 6 to day 7. En: Egg transfer in cattle. L.E.A. Rousson (Ed) p.159-164 (1976)
35. Rousson, L.E.A., Moor, M.R. and Lawson, R.A.S.: Fertility following egg - transfer in the cow: Effect of method, medium and synchronization of estrus. *J. Reprod. Fert.* 18 p.517-523 (1969)

36. Saumande, J. and Chupin, Y.: The effect of monensin on ovarian response of cyclic heifers to a superovulatory response. *Theriogenology* 25 No. 1 - p.193 (1986)
37. Seidel, G.E. Jr.: Short term maintenance and culture of embryos. EN: Embryo transfer in farm animals. Editado por Betteridge, K.J. Canada Dept. Agric. Monografía 16, p.20-24 (1977)
38. Seidel, G.E. Jr.: Superovulation and embryo transfer in cattle. *Science* - 211 p.351-358 (1981)
39. Seidel, G.E. Jr.: Critical review of embryo transfer procedures with --- cattle. Em: Fertilization and embrionic development in vitro. Mastroianni, L. Jr. and Biggers, J.D. (Ed) Plenum, Nueva York (1981b)
40. Smith, Charles: Applications of embryo transfer in animal breeding. *Theriogenology* 29 No. 1 p.203-212 (1988)
41. Soto Valle, F.A.: Evaluación de la solución Hartmann suplementada como medio alternativo para la recolección y transferencia de embriones de rata de laboratorio. Tesis de licenciatura. Fac. Med. Vet. Zoot. U.N.A.M. México, D.F. (1985)
42. Sreenan, J.M. and Diskin, G.M.: Current efficiency of embryo transfer --- technology and its role in cattle breeding. *Irish Vet. J.* 36 p.138-144 -- (1982)
43. Sugie, T.: Succesfull transfer of fertilized bovine eggs by non-surgical techniques. *J. Reprod. Fert.* 10 p.197-201 (1965)
44. Voelkel, S.A., Arnston-Morgan, K.C. and Godke, R.A.: Heat inactivation of lamb, new born and steer sera for potencial use in embryo transplant procedures. *Theriogenology* 15 p.125 (1981)
45. Wittinghom, G.D. and Wallis, G.R.: Storage of two cells mouse embryos in vitro. *Aust. J. Biol. Sci.* 22 p.1065-1068 (1969)
46. Willet, L.E., Black, G.W., Casida, E.L., Stone, H.L. and Buckner, J.R.: - Succesfull transplantation of a fertilized bovine ovum. *Science* 113 p.247 (1947)
47. Willet, L.E., Buckner, J.R. and Larson, L.G.: Three succesfull transplanta tion of fertilized bovine eggs. *J. Dairy Sci.* 36 p.520-523 (1953)