



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES
"IZTACALA"

"REPETIBILIDAD EN LA RESPUESTA EN CUANTO AL
NUMERO DE EMBRIONES EN BECERRAS
HOLSTEIN SUPEROVULADAS CON FSH.P."

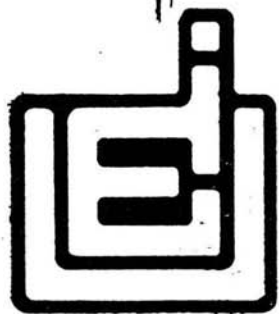
T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

B I O L O G O

P R E S E N T A :

ARTURO SANCHEZ GONZALEZ



Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla Edo. de México 1992

Me gusta escribir en el momento correcto
pero siento coraje que nadie escuche
pienso que es seguro que mis palabras
no se oigan y pase de largo la frase :

La vida es: " Como una canción "
a veces sin sentido, a veces alegre, pero
debe escribirse con amor.

Demasiado tarde sera cuando la verdad se comprenda
la que todos vivimos y no disfrutamos, la que nos
empapa sin despertarnos, entenderemos esto tal vez al
final, cuando ya no se pueda volver atras.

"Asi es el hombre".

Octavio Sánchez González.

DEDICO ESTA TESIS :

A LA MEMORIA DE MI HERMANO OCTAVIO SANCHEZ
GONZALEZ.

SIEMPRE, HOY Y SIEMPRE VIVIRAS EN MI CORAZON,
EN TODAS LAS COSAS BUENAS Y HERMOSAS.
CON ADMIRACION, RESPETO Y AMOR,
ESPERANDO QUE EL TIEMPO NOS VUELVA A REUNIR.

A MIS PADRES QUERIDOS :

OCTAVIO Y SARA.

CON CARINO, A MIS HERMANOS :

JOSEFINA, GEORGINA, JUAN CARLOS,
SARA, OCTAVIO Y ARMANDO.

A MI TRAVIESA SOBRINA : TALIANNE.

AGRADECIMIENTOS.

A todos los excompañeros del CEMEGEN, quienes directa o indirectamente intervinieron para que este trabajo llegara a su término, en especial al MVZ. Victor M. Romero M., por su apoyo y asesoría en la realización de este trabajo, así como a las autoridades de LICONSA, al MVZ. Arturo Sánchez Aldana P. por las sugerencias y facilidades para el desarrollo de esta investigación.

Al M. en C. Juan Rivera Cazares por que de sus clases y consejos se derivan muchas de las cosas que apoyan esta tesis, y mis expectativas futuras.

A todos mis amigos y excompañeros de la ENEP. Iztacala, quienes compartieron conmigo experiencias muy gratas, dentro y fuera del salón de clases.

A mis amigos de ahora y siempre, que son muchos: Alejandro, Ramon, Pablo, Marcos, Ricardo, Daniel, Gustavo, Paty, Norma, victor, Qk, etc.

A todas las personas curiosas que dedican su vida a la investigación.

I N D I C E

PAGINA

	RESUMEN.....	1
I.	INTRODUCCION.....	3
	TRANSFERENCIA DE EMBRIONES.....	4
	SITUACION EN MEXICO.....	7
II.	ANTECEDENTES	
	SUPEROVULACION.....	9
	REPETIBILIDAD.....	15
III.	OBJETIVOS.....	22
IV.	MATERIAL Y METODOS	
	AREA DE ESTUDIO.....	23
	SUPEROVULACION.....	23
	INSEMINACION ARTIFICIAL.....	26
	RECOLECCION DE EMBRIONES.....	26
	EVALUACION DE EMBRIONES.....	28
	ANALISIS ESTADISTICO.....	35
V.	RESULTADOS Y DISCUSION	
	RESULTADOS GENERALES.....	36
	REPETIBILIDAD.....	49
	CALIDAD Y ESTADIO EMBRIONARIO.....	64
VI.	DISCUSION GENERAL Y CONCLUSIONES.....	73
	BIBLIOGRAFIA.....	79
	ABREVIATURAS.....	84

ESTE TRABAJO SE REALIZO EN EL CENTRO DE MEJORAMIENTO GENETICO Y TRANSPLANTE DE EMBRIONES DE LECHE INDUSTRIALIZADA CONASUPO S.A DE C.V. UBICADO EN EL MUNICIPIO DE TEPOTZOTLAN EDO. DE MEXICO BAJO LA DIRECCION DEL MVZ. VICTOR MANUEL ROMERO MEDINA.

R E S U M E N

La aplicación comercial de la transferencia de embriones se ha visto limitada de manera significativa por la gran variabilidad de las respuestas obtenidas en el número de embriones recolectados en las donadoras después de un programa de superovulación. Algunas investigaciones indican que esta variación se debe tanto a factores genéticos como hormonales, dado que en la transferencia de embriones se realiza la superovulación repetida a donadoras muy valiosas para así maximizar la producción de embriones, el conocimiento de la repetibilidad en la respuesta en cuanto al número de embriones morfológicamente normales (EMN), recolectados, puede indicar que proporción de la variabilidad encontrada en las respuestas entre los individuos se debe ya, sea a diferencias genéticas o ambientales.

En este estudio se evaluó la repetibilidad en la respuesta al tratamiento de superovulación en cuanto al número total de estructuras (TE) y EMN recolectados por donadora, se estimó también la correlación entre estas dos características y la calidad y estadio embrionario dentro de cada recolección.

El estudio se inició con 164 becerras raza Holstein- Friesian que fueron superovuladas con FSH-P* cinco veces consecutivas. Con el fin de eliminar variables que pudieran afectar el análisis de resultados, la población evaluada durante cada recolección de embriones fue la siguiente: Primera y segunda recolección: 96 animales, tercera: 83 animales, cuarta: 45 animales y quinta recolección: 20 animales.

Los resultados indican que los índices de repetibilidad son altamente significativos hasta la tercera recolección, (tanto para el número TE como de EMN) de manera que este valor disminuyó conforme el número de recolecciones se incremento. El valor significativo de los índices de repetibilidad se debió probablemente a que en la población hubo un alto porcentaje de animales que mostraron una respuesta individual consistente durante todos los tratamientos de superovulación, la disminución en el valor de estos índices, durante las dos últimas recolecciones, se debió asimismo a la presencia de animales que mostraron respuestas muy variables a los tratamientos con FSH.

Los resultados obtenidos sugieren que el tratamiento de superovulación con FSH-P no afecta de manera evidente el promedio de EMN y TE entre recolecciones, la calidad y la etapa embrionaria son muy semejantes entre los tratamientos, ya que la proporción de embriones que se pueden encontrar en una determinada calidad o estadio embrionario entre las recolecciones es muy similar.

La repetibilidad calculada para la relación entre el número de EMN y TE por recolección individual es también altamente significativa dentro de cada tratamiento de superovulación, lo cual indica a su vez que el fenómeno de sobrestimulación de los ovarios de las donadoras con FSH-P no afecta el número de EMN recolectados y por lo tanto tampoco la calidad y el estado de los embriones, o al menos esto no se hizo evidente durante los cinco tratamientos de superovulación que comprendieron el estudio.

El análisis de los resultados indica que dentro de la población, los animales presentan respuestas diferentes al tratamiento con FSH-P, de manera que podemos encontrar tres tipos principales: Becerras que tienden a responder al tratamiento de superovulación con un bajo número TE y EMN, becerras que muestran una gran variabilidad en sus respuestas entre las recolecciones, y animales que tienden a responder a dicho tratamiento con un número TE y EMN considerado como medio o bueno.

Aquellos animales que muestran respuestas individuales muy variables tienen índices de repetibilidad muy bajos, y el promedio del TE Y EMN así como, la calidad embrionaria varía de manera significativa entre las recolecciones. La existencia de estos animales afecta de manera muy importante la producción de EMN, ya que disminuye la probabilidad de predecir sus respuestas, es por ello que la reducción en la variabilidad en las respuestas dentro de los individuos podría mejorar los resultados obtenidos en la transferencia de embriones, ya que permitiría la selección de donadoras con producciones apropiadas de EMN, reduciendo de manera muy significativa la variabilidad entre las donadoras y por ello atacaría uno de los principales problemas con los que se enfrenta la transferencia de embriones de bovino.

* FSH-P SCHERING, CORP., NJ., USA.

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

Tanto en el pasado como en el presente, el mayor problema para el hombre ha sido asegurarse alimentos suficientes y adecuados para satisfacer sus necesidades nutricionales.

En esta lucha constante por producir alimentos suficientes a fin de solucionar las necesidades de la creciente población humana, los animales y las plantas son parte fundamental en la cadena alimenticia; son fuente de alimentos de alto valor nutritivo y consumen generalmente materias no comestibles para el hombre.

Probablemente el hombre primitivo utilizó al ganado bovino, en primer lugar como fuente de alimento y quizás la domesticación de estos animales, comenzó cuando fueron utilizados como animales de tiro mientras se daban los primeros pasos para cultivar la tierra.

A partir de entonces, el ganado bovino ha sido seleccionado hacia fines convenientes para el hombre (Warwick y Legates, 1980).

Dado que hay diferencias esenciales entre los animales en cuanto a su eficiencia en convertir los tejidos vegetales en alimento y otros productos, el mejoramiento por medio de cruza y selección han tenido y tienen como metas principales mejorar continuamente la eficiencia de los animales como convertidores, y la calidad de sus productos finales.

En la actualidad, esto se logra mediante la aplicación de programas de mejoramiento genético, en los cuales, la

conservación de los recursos genéticos ganaderos a comenzado a ser esencial, (Fraenkel y Soulé, 1981; McDaniel y col., 1981).

La reproducción exitosa en los animales depende de interacciones tanto de factores genéticos como ambientales, las tasas reproductivas óptimas son esenciales para el mejoramiento animal y para una producción comercial adecuada.

El aumento de las tasas reproductivas del macho, por medio de la inseminación artificial, ha permitido rápidos avances en el mejoramiento genético del ganado bovino; a su vez, la transferencia de embriones constituye la posibilidad de elevar aun más dicho ritmo de mejoramiento, ya que permite aumentar las tasas reproductivas de hembras con características superiores auxiliándose de la inseminación artificial (Bearden y Fuquay, 1982).

TRANSFERENCIA DE EMBRIONES

La transferencia de embriones no es una técnica nueva, data de 1890 cuando el Biólogo inglés Walter Heape logró que una liebre de raza Belga produjera una camada tanto de hijos propios como de ejemplares Angora; a partir de entonces esta técnica se ha practicado en muchas especies con fines tanto experimentales como comerciales (Donaldson, 1986), aunque sólo en forma extensiva en conejos, ratas y en ganado ovino y bovino (Randal, 1982).

El primer reporte de una transferencia de embriones en este siglo se registró en Viena en 1922, el conejo fue el animal experimental, aunque los resultados no fueron muy exitosos (una de 70 posibles gestaciones), durante este período se hicieron

descubrimientos de importancia relevante para la transferencia de embriones ya que fue la época en que se establecieron las primeras relaciones entre la hipófisis anterior y las gónadas, se hicieron los primeros estudios con el cultivo de cigotos *in vitro*, y hubo considerables avances en el desarrollo de la técnica de inseminación artificial (Betteridge, 1981).

La investigación sobre la transferencia en el ganado bovino fue motivada por los primeros experimentos realizados en cabras y borregos. La primer transferencia exitosa en el ganado bovino se llevo a cabo en 1951 (Willet y col., 1951), y durante las décadas siguientes muchos investigadores repitieron este hecho. En 1969, Rowson y colaboradores lograron un gran porcentaje de éxito (Betteridge, 1981).

Durante las décadas siguientes el desarrollo y descubrimiento de nuevas técnicas y drogas, acompañado con las demandas comerciales de transferencia de embriones a llevado a avances sorprendentes tanto comerciales como experimentales. (TABLA No. 1)

La industria de la transferencia de embriones se práctica comercialmente desde hace muchos años en los Estados Unidos, Canadá, Australia, Nueva Zelanda y en muchos países de Europa y Sudamérica, extendiendose en la actualidad por todos los continentes; en México, a pesar de que se práctica hace más de una década, sólo recientemente se ha comenzado a explotar a nivel comercial para la cría de animales domésticos, en especial del ganado bovino. (S.A.R.H., 1980).

En estos animales el procedimiento consiste en general en un tratamiento hormonal a las hembras donadoras para inducir la maduración de un gran número de óvulos (superovulación), estos

óvulos después de ser fertilizados por medio de la inseminación artificial son recolectados de la hembra donadora y transferidos a hembras receptoras en las que se desarrollará el embrión hasta el término de la gestación (Elsden y Seidel, 1982).

El éxito depende de la coordinación de muchos componentes separados tales como: La detección y sincronización del estro,

T A B L A N o. 1		
PRIMEROS REPORTE SOBRE TRANSFERENCIA DE EMBRIONES		
FECHA	ESPECIE	REFERENCIA
1891	Conejo o Liebre	Heape
1933	Rata	Nicholas
1934	Conejo	Warwick y col.
1934	Cabra	Warwick y col.
1942	Ratón	Fekete y Little
1949	Vaca	Umbaugh
1949	Cabra	Warwick y Berry
1951	Vaca	Willet y col.
1951	Puerco	Kuashickii
1964	Vaca	Mutter y col.
1968	Hurón	Chang
1974	Caballo	Oguri y Tsutsumi
1976	Mandrill	Kraemer y col.
1978	Hombre	Stephoe y Edwards
1978	Gato	Schrifer y Kraemer
1979	Perro	Kinney y col.
TOMADO DE : Betteridge, 1981.		

superovulación, evaluación embrionaria, congelamiento o transferencia a la receptora.

La principal ventaja que aporta la transferencia de embriones es el incremento en el potencial reproductivo de una vaca o vaquilla de alta calidad genética y de ésta manera reduce el intervalo entre generaciones en un programa de selección por el solo hecho de garantizar un alto porcentaje de progenie, especialmente cuando las donadoras son jóvenes (Seidel, 1981).

SITUACION EN MEXICO

En nuestro país, el bajo nivel tecnológico en que se lleva a cabo la actividad ganadera en general, es un factor que limita de manera importante su desarrollo. El alto porcentaje de ganado criollo (ya que sólo un porcentaje muy pequeño está representado por animales de alta calidad genética) con baja producción de leche o carne es por lo tanto una limitante (Román, 1981).

En México existen alrededor de 8.2 millones de vientres bovinos que se dedican a la producción de leche, de los cuales sólo 700 000 (8.5 %) son de razas especializadas explotadas en sistemas intensivos y 1.5 millones (18 %) en sistemas semi-intensivos de las zonas del altiplano con clima templado. Los restantes se encuentran en las zonas áridas y semiáridas (14.5 %) y zonas tropicales (46 %) principalmente bajo sistemas extensivos y de ordeña estacional (Pérez, 1983).

En diversos informes oficiales se ha establecido que el 32 % de los habitantes del país no toman leche y que un 15 % más sólo lo hace ocasionalmente (Martínez y col., 1988).

Los niveles de producción en lo que a leche y carne de bovino se refieren es bastante reducida si se le compara con países con ganadería más tecnificada y, además, el consumo de leche de vaca y otros productos agropecuarios corroboran que la producción y disponibilidad de estos alimentos en las condiciones presentes de la ganadería no son sólo insuficientes sino que, revisten ya características preocupantes por la alta tasa de natalidad de la población mexicana, (Sánchez, 1984; Cano y Escamilla, 1991).

La transferencia de embriones representa, dentro de los recursos del mejoramiento genético, una alternativa ganadera que mediante programas bien fundamentados puede contribuir al desarrollo y tecnificación de la ganadería en México, y por lo tanto a la solución de problemas de abasto nacional.

A N T E C E D E N T E S

S U P E R O V U L A C I O N.

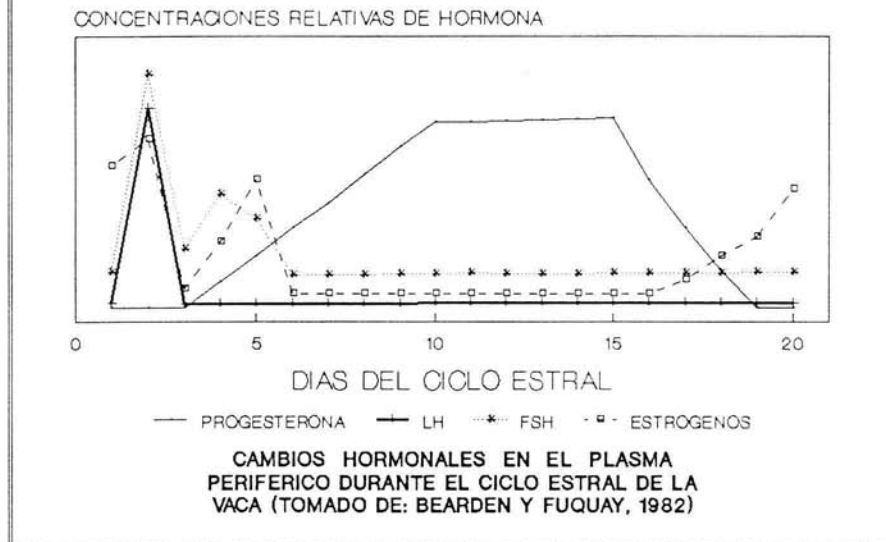
El ciclo estral se define como el tiempo que hay entre dos periodos de estro, en el ganado bovino es de aproximadamente 21 días, sin embargo se consideran normales variaciones individuales de entre 17 y 24 días. El ciclo estral está regulado principalmente por un balance recíproco entre las hormonas esteroides del ovario y las hormonas proteínicas gonadotrópicas de la hipófisis anterior (FIGURA No. 1).

Durante el ciclo estral normal de la vaca o vaquilla, se producen gonadotropinas que son responsables del desarrollo y maduración folicular. La hormona más importante para el desarrollo de los folículos es la hormona folículo estimulante (FSH). Para la maduración de los folículos se requiere FSH y al parecer pequeñas cantidades de hormona luteinizante (LH). Para que se produzca la ovulación se requiere una mayor cantidad de LH.

Los bovinos tienen un sistema de regulación hormonal muy estricto que impide que en un ciclo estral normal se produzcan más de una o dos ovulaciones. Para evitar esto, el folículo en desarrollo produce estrógenos e inhibina, los cuales actúan sobre la hipófisis inhibiendo la secreción de FSH y por lo tanto el desarrollo de otros folículos (Bearden y Fouquay, 1981).

La superovulación es un procedimiento por el cual se trata a una vaquilla o vaca donadora con hormonas gonadotrópicas lo que ocasiona que produzcan numerosos óvulos ya que estimulan el desarrollo folicular.

FIGURA # 1
CONTROL HORMONAL DEL CICLO ESTRAL EN EL
GANADO BOVINO.



Los folículos así estimulados también producen estrógenos e inhibina y por lo tanto inhiben la secreción endógena de FSH, pero continúan desarrollándose más folículos debido a que la gonadotropina exógena continúa estimulando a los ovarios (Bindon y col., 1986).

Las principales hormonas utilizadas en la superovulación del ganado bovino son la FSH y la gonadotropina del suero de la yegua preñada (PMSG), (Screenan y Beehan, 1976).

El tratamiento superovulatorio se inicia usualmente entre los días 9 y 14 del ciclo estral de los bovinos (Foote y Onuma, 1970), dos o tres días después de iniciado el tratamiento se inyecta prostaglandina F-2 α^* o un análogo para terminar la fase lútea de dicho ciclo prematuramente por lisis de los cuerpos

lúteos, dos días después ocurrirá el estro, el cual dura alrededor de 12 horas, la ovulación sucederá un día después de finalizado el estro. El primer momento en que la donadora presenta el estro es el punto de referencia para que se lleve a cabo la inseminación artificial, la fertilización ocurrirá unas cuantas horas después de la ovulación (Betteridge y Fléchon, 1988).

Los embriones en el ganado bovino pasan del oviducto hacia el útero cuatro o cinco días después del estro (tres o cuatro días después de la ovulación), se puede recolectar usualmente un alto porcentaje de embriones seis o más días después de iniciado el estro mediante recolección transcervical no quirúrgica (Foote y Onuma, 1970; Elsdén y Nelson, 1978).

Los embriones desde la etapa de una célula hasta blastocisto temprano (siete a ocho días después del estro) miden entre 120 y 140 μm de diámetro excluyendo la zona pelúcida (Linares y King, 1980; Lindner, Raymond y Wrigth, 1983; Linares, 1981). Entre los días 8 y 10 aumentan de tamaño radicalmente, eclosionan y entonces crecen hasta alrededor de 20 cm. o más en longitud hasta el día 18, tiempo alrededor del cual comienza la implantación lo que impide que los embriones se puedan recolectar después de ese día, a menos que se utilice cirugía, pero el daño que sufren se incrementa mucho después del día 14 (Elsden y Seidel, 1982). El mayor número de embriones morfológicamente normales (transferibles) se obtiene en recolecciones de entre seis y ocho días después de que la donadora presentó el estro (Seidel, 1981; Linares, 1981).

*DINOPROST TROMETAMINA: LUTALYSE TUCO, UPJOHN SA. DE CV., MEXICO.

Como en algunas recolecciones se obtienen embriones en gran cantidad y no es muy común disponer de tantas hembras receptoras, los embriones se congelan en nitrógeno líquido a -196° C. Aunque cerca de una tercera parte de los embriones mueren o sufren daños severos a causa de la congelación y posterior descongelación para la transferencia, el porcentaje de gestación de las otras dos terceras partes no difiere mucho del de los embriones transferidos en fresco (Seidel, 1981). A pesar de estas pérdidas, la congelación debe utilizarse cuando no se tienen disponibles un gran número de receptoras.

El porcentaje de gestaciones alcanzado con embriones morfológicamente normales obtenidos de vacas superovuladas varía desde un 30 a 70 % (Seidel, 1981., Mapletoft, 1987). Han nacido ya decenas de miles de becerros como resultado de la transferencia de embriones, y no hay al parecer evidencia de un incremento en las anomalías genéticas, de cualquier manera, no hay un estudio sistemático que haya hecho comparaciones entre embriones producidos por superovulación y los producidos en forma natural (Foote y Ellington, 1988).

A pesar del desarrollo de los métodos utilizados en la transferencia de embriones, el principal inconveniente es quizás la variabilidad en la respuesta al tratamiento de superovulación, pues disminuye la probabilidad de asegurar que una donadora potencial pueda proveer de un número deseable de embriones transferibles en un determinado tiempo.

La variabilidad en las respuestas ovulatorias se puede atribuir a dos grandes fuentes :

a) Factores externos: tales como la época del año, temperatura, calidad del alimento, variación asociada al programa de superovulación, calidad y concentración de las hormonas utilizadas en la superovulación, edad y estado de salud de las donadoras.

b) Factores internos: que incluyen diferencias entre razas, y variación entre y dentro de individuos.

En muchos reportes las vacas superovuladas de diferentes razas de carne producen un promedio de 6 a 8 embriones transferibles, aunque también se han reportado respuestas muy variables y al parecer inexplicables (Hasler y col., 1983; Screenan y Beehan, 1976). En ganado lechero se ha reportado un promedio de tan sólo tres o cuatro embriones transferibles en algunos estudios (Hasler y col., 1983), y de cinco a siete en otros (Critser y col., 1980; Lerner y col., 1986).

Diversas investigaciones han abordado el estudio de los factores que actúan sobre la variabilidad en la producción de embriones transferibles. Se ha evaluado en estos el efecto de la edad de la donadora sobre la producción de embriones, se ha reportado una asociación entre el decremento en el número de embriones transferibles y la edad de la donadora (Lerner y col., 1986), los mismos resultados han sido previamente reportados para otras especies de mamíferos (Wilmut y col., 1986).

Otros estudios han evaluado el tipo de gonadotropina utilizada en la superovulación (Murphy y col., 1984; Monniaux y col., 1983; Seidel y Elsdén, 1982), el grado de pureza de esta (Murphy y col., 1984), las concentraciones óptimas a utilizar (Lerner y col., 1986), el día del ciclo estral en el cual se inicia el

tratamiento de superovulación (Rowson, 1968; Donaldson, 1985), si los animales están lactando o no, el estado nutricional y de salud (Biggers y col., 1986; Elsdén y Seidel, 1982), etc.

Todos estos estudios reportan resultados muy variables en el número de embriones que fueron recolectados, ya que al someter a tratamiento de superovulación a un grupo de vacas se encuentran desde animales que no ovulan hasta otros que tienen más de 20 ovulaciones; aunque una parte importante de esta variación se puede deber a factores ambientales (época del año, edad de la donadora, estado nutricional y de salud, tipo de gonadotropina utilizada, etc.), se ha demostrado sin embargo que también existen diferencias genéticas en cuanto a la capacidad de superovulación en los diferentes individuos (Critser y col., 1980; Monniaux y col., 1983; Bindon y col., 1986). Estas diferencias genéticas entre individuos parecen deberse a la diferente capacidad de regulación intraovárica de sus índices de ovulación, por lo que no se puede lograr que algunos animales tengan un mayor número de ovulaciones (Zarco, 1989).

Puesto que en la transferencia de embriones es común la superovulación repetida a donadoras muy valiosas para así maximizar la producción de crías, el conocimiento de la repetibilidad de la respuesta a la superovulación se ha considerado útil en investigaciones recientes, dado que asienta los límites superiores de la heredabilidad y el grado de determinación genética del carácter, además la repetibilidad es usualmente fácil de calcular y frecuentemente puede ser conocida cuando aquellas no lo son (Falconer, 1976).

R E P E T I B I L I D A D .

Cuando puede hacerse más de una medición en un carácter en cada individuo, puede hacerse la partición de la varianza fenotípica en varianza dentro de individuos y varianza entre individuos. Esta subdivisión sirve para mostrar cuanto se gana con una repetición de las mediciones y puede indicar también la naturaleza de la variación ambiental.

La repetición temporal de un carácter puede proporcionar mediciones múltiples, el rendimiento lechero y el tamaño de la camada son ejemplos de caracteres repetidos en el tiempo. El primero puede ser medido a través de lactaciones sucesivas y el segundo a través de gestaciones sucesivas. En esta forma se obtienen varias mediciones en cada individuo.

La varianza del rendimiento por lactación o el número de crías por camada puede ser analizada entonces en componentes : Una dentro de individuos, midiendo las diferencias entre las producciones del mismo individuo y la otra entre individuos, midiendo las diferencias permanentes entre los individuos.

La componente dentro de individuos es completamente ambiental en su origen y es causada por diferencias temporales del ambiente entre realizaciones sucesivas. La componente entre los individuos es parcialmente ambiental y parcialmente genética, la parte ambiental siendo causada por circunstancias que afectan a los individuos permanentemente (Falconer, 1976).

La repetibilidad o índice de constancia, como se mencionó antes, es un concepto que esta muy ligado a la heredabilidad, es útil en el caso de genes que se expresan varias veces durante la

vida de un animal, y supone que ni los genes ni las combinaciones de ellos que determinan la expresión sucesiva de un carácter cambian.

La repetibilidad se puede calcular como la regresión del comportamiento futuro sobre el comportamiento pasado. Además de calcularse como una regresión, se le puede derivar a partir de un análisis de varianza como una correlación intraclase entre registros u observaciones de los caracteres del mismo individuo (Warwick y Legates, 1980).

El índice de repetibilidad difiere mucho de acuerdo con la naturaleza del carácter y también debido a las propiedades de la población y a las condiciones ambientales a que están sujetos los individuos.

Algunas investigaciones han abordado el tema de la repetibilidad en la respuesta a la superovulación; se ha encontrado que este tratamiento causa un decremento en la respuesta en algunas especies de mamíferos entre los que se encuentran conejos, ovejas y vacas (Lubbadeh y col., 1980).

En el ganado bovino, este decremento se ha atribuido a la frecuencia de la superovulación, al día del ciclo estral en que se inicia el tratamiento, a la formación de anticuerpos contra la gonadotropina exógena utilizada en la superovulación, etc. De cualquier manera, otros estudios no han corroborado este patrón de respuesta al tratamiento repetido con una misma gonadotropina, por ejemplo:

Jainude y col., (1966) encuentran que al superovular un grupo de vacas durante cuatro periodos sucesivos la respuesta ovárica

no decrece en el segundo tratamiento, pero disminuye en el tercer y cuarto periodo de superovulación.

Foote y Onuma, (1970), indican que la respuesta óvarica decrece durante tratamientos sucesivos en el ganado bovino, y Onuma y col. (1969), reportan que este decremento en la respuesta continúa conforme el número de tratamientos incrementa.

Lubbadeh y col. (1980), no encuentran sin embargo, decremento en la respuesta al tratamiento repetido con la misma gonadotropina durante cuatro periodos sucesivos de superovulación.

Critser y col. (1980), al examinar la repetibilidad en la respuesta (número de cuerpos lúteos) al tratamiento de superovulación por dos periodos consecutivos, reportan una repetibilidad estadísticamente significativa al tratamiento con FSH y PMSG. Sus resultados indican que aquellos animales que fueron estimulados relativamente bien, durante el primer tratamiento tendieron a mostrar una respuesta relativamente buena en el segundo tratamiento de superovulación.

Hasler y col. (1983), realizaron un estudio que comprendió más de cinco periodos de superovulación y no encontraron declinación en el número de óvulos y embriones producidos por lo que concluyen que la capacidad de las vacas en cuanto a su respuesta al tratamiento repetido con FSH fue consistente a través de una serie de 10 superovulaciones.

Donaldson y Perry (1983), encuentran que la producción de embriones transferibles estuvo correlacionada entre las recolecciones durante diez periodos de superovulación, las correlaciones fueron todas significativas para aquellas vacas

superovuladas de dos a diez veces. De acuerdo a sus resultados, y dado que miden la correlación entre la producción de embriones en colecciones sucesivas, ellos estiman que la respuesta de las vacas en una recolección determinada debe ser repetible. Estos resultados concuerdan parcialmente con los reportados por Saumande y Chupin (1977), quienes encontraron que las becerras que mostraron una pobre respuesta en el primer tratamiento, continuaron mostrando una pobre respuesta en los tratamientos siguientes.

Lamberson y Lambeth (1986), al estudiar la respuesta a la superovulación en vacas raza Brangus, no encuentran evidencia que sugiera una declinación sistemática en el número de embriones transferibles, embriones totales y óvulos durante tres tratamientos sucesivos.

Los resultados reportados en las investigaciones anteriores son variables, pero aportan información sobre la posibilidad de que exista un componente genético que influya en la respuesta a la superovulación en el ganado bovino.

Existen algunos trabajos en mamíferos en los que se ha evaluado la heredabilidad en la respuesta a la superovulación:

Land y Falconer (1969), y Bradford (1969), reportan resultados que sugieren la posibilidad de diferencias genéticas en la capacidad de respuesta ovárica al tratamiento con gonadotropinas entre razas de ratones.

Ito y col. (1977), han calculado la heredabilidad en la respuesta a la superovulación en 0.20 a 0.51 para algunas razas de ratón.

La variación genética en la tasa de ovulación se ha reportado también para los ovinos, y Bradford, 1972 (Citado por Land, 1977), concluye de los resultados de estudios sobre transferencia de embriones, superovulación y de la comparación de las respuestas de diferentes razas que este es el límite principal en cuanto al mejoramiento de la eficiencia reproductiva de los animales.

Algunas de estas razas de ganado ovino proveen ejemplos de los efectos genéticos sobre la función ovárica, que pueden ser de importancia relevante en el problema de la superovulación en el ganado bovino.

Dado que la ovulación en estas especies esta bajo un estricto control de regulación "diseñado" para mantener la tasa de ovulación dentro de límites absolutamente estrechos, (tasa de ovulación de uno para los bovinos, y de uno o dos para muchas razas de ovinos) no es sorprendente que los animales no respondan amplia o uniformemente a tratamientos diseñados para tratar de vencer el obstáculo que representa el sistema de control ovárico.

De esta manera, algunas razas de borregos más prolíficas, han tenido éxito en cuanto a sobrepasar o romper su sistema de control ovárico, y es por ello que algunos investigadores han estudiado la fisiología de estos animales para tratar de mejorar los tratamientos de superovulación en el ganado bovino, pues se ha comprobado que algunos animales dentro de estas razas de ovinos tienen tasas de ovulación que podrían muy bien compararse a la superovulación si estos animales fueran seleccionados como donadoras para fines de transferencia de embriones (Bindon, 1986).

Estas razas prolíficas tienen además una alta repetibilidad en sus tasas de ovulación entre ciclos estrales sucesivos, la repetibilidad calculada varía ampliamente según la raza, hay estimaciones de 0.1 para la raza Galway, de 0.3 para la raza Ile France y hasta de 0.9 para borregos de raza Merino (Land, 1977). Bradford y col. (1986), reportan estimaciones de repetibilidad de 0.8 y de 0.35 (en promedio) para la tasa de ovulación y el tamaño de la camada respectivamente para tres razas de borregos Javanese.

Los efectos genéticos de la superovulación en el ganado bovino son poco conocidos. Si bien se han reportado diferencias entre razas en cuanto a la sensibilidad ovárica a PMSG (Piper y Bindon, 1977), hay sin embargo pocos estudios bien diseñados en los que se compare a razas nacidas, criadas y estudiadas en un mismo ambiente. Existen algunos datos preliminares acerca del ganado bovino seleccionado como prolífico. Hay evidencia de que la progenie de toros cuyas madres tienen un alto mérito fenotípico para parir dos becerros tienden a ser más sensitivas a PMSG que la progenie de toros hijos de vacas no seleccionadas para esta característica (Echtemkamp y col., 1990; Gregory y col., 1990).

En otra investigación en la que se comparó la progenie de becerras seleccionadas como prolíficas con becerras no seleccionadas para esta característica, sobre la base de su respuesta a FSH exógena, se encontró que la variabilidad en la respuesta fue similar entre ambos grupos de animales, sin embargo, los animales seleccionados como prolíficos mostraron respuestas de superovulación con 10 mg. de FSH-P, mientras que los animales no seleccionados requirieron mayor concentración (30

mg.) de gonadotropina para alcanzar los mismos resultados (Bindon y col., 1986).

Estos reportes si bien, no han sido reafirmados, ya que no existen más investigaciones al respecto, soportan de cualquier manera la bien documentada evidencia de la gran variabilidad en las respuestas entre los individuos a los tratamientos de superovulación.

La gama de respuestas entre los individuos incluye desde animales que no son estimulados con el tratamiento de superovulación (menos de tres ovulaciones), hasta animales que responden con 70 ovulaciones (Donaldson, 1986). De esta manera, la aplicación comercial de la transferencia de embriones en el ganado bovino se ve limitada en gran medida por la variabilidad de los resultados obtenidos en los programas de superovulación, pues es común que un porcentaje relativamente elevado de vacas o vaquillas tratadas con gonadotropinas no respondan a éstas, de la misma manera, es frecuente que un grupo de vacas o vaquillas muestren una pobre respuesta a un programa de superovulación que previamente había dado buenos resultados.

El problema se presenta tan complejo que probablemente no haya un tratamiento efectivo que funcione en todos los animales. Sin embargo, y de acuerdo a las investigaciones anteriormente descritas, si se realiza un estudio adecuado de los animales a ser tratados, de su ambiente, de resultados anteriores, etc. puede ser posible mejorar las características del programa de superovulación, con lo cuál la probabilidad de obtener buenos resultados aumentaría.

Hay poca información disponible sobre la importancia de la selección de aquellos animales que responden bien a los tratamientos de superovulación; hay también poca y dudosa información en lo que concierne a la repetibilidad en la respuesta a la superovulación tanto dentro como entre individuos en el ganado bovino, es por ello que en el presente trabajo se plantearon los siguientes objetivos.

OBJETIVOS.

- Estimar la repetibilidad en la respuesta a la superovulación en becerras Holstein en base al número de embriones morfológicamente normales y totales (embriones más óvulos) producidos por donadora.

- Determinar posibles diferencias en la calidad y estadio de los embriones obtenidos en los tratamientos de superovulación sucesivos.

MATERIAL Y METODOS

AREA DE ESTUDIO.

Este trabajo se llevó a cabo en el Centro de Mejoramiento Genético y Transplante de Embriones de Leche Industrializada Conasupo S.A. de C.V. (CEMEGEN.), que se encuentra ubicado en Tepetzotlán Estado de México.

El estudio se inició con 160 becerras raza **Holstein Friesian**, las cuales se utilizaron como donadoras de embriones. Todos los animales tenían como característica en común el provenir del mismo hato ganadero (San Antonio, Texas), con edades muy homogéneas que fluctuaban entre los 10 y 14 meses de edad. Durante el experimento todas las unidades experimentales fueron sometidas a las mismas condiciones ambientales en cuanto al tipo de alimentación, corral, cuidados y técnicas. Sin embargo, aquellas becerras que enfermaron o que no respondieron al tratamiento con FSH y por lo tanto no fueron inseminadas, fueron eliminadas del estudio, debido a que no fueron recolectadas.

SUPEROVULACION.

La hormona utilizada para el tratamiento de superovulación fue la hormona folículo estimulante (FSH-P), que se administró intramuscularmente durante cuatro días, empleando dos dosis diarias en concentraciones decrecientes. (Elsden y Seidel, 1982). En el primer tratamiento de superovulación, todas las becerras recibieron una concentración total de 20 mg. de FSH-P.

En los siguientes tratamientos o períodos de superovulación (en total cinco tratamientos), la dosis de FSH-P administrada a

los animales no fue homogénea ya que algunos animales recibieron la misma concentración total que en el primer tratamiento (20 mg.), otros recibieron como dosis total 24 mg. o más de FSH-P, todo ello dependiendo de la respuesta del animal al primer tratamiento de superovulación. Para decidir que dosis administrar a cada animal para el tercero, cuarto y quinto tratamiento de superovulación, la dosis se aplicó en base a la respuesta de las becerras en sus tratamientos anteriores.

La dosis mínima aplicada fue de 20 mg. y la máxima fue de 40 mg. El intervalo de "reposo" para cada donadora entre cada tratamiento de superovulación (o recolección) fue de por lo menos dos ciclos estrales naturales (**VER TABLA No. 2**).

En general, la población estudiada tuvo un patrón de tratamientos superovulatorios muy irregular en cuanto a que las concentraciones de FSH-P aplicadas no fueron homogéneas, debido a que la finalidad del programa en el que estaban incluidos los animales era económica, buscándose la obtención del mayor número de embriones por donadora.

La población estudiada disminuyó marcadamente durante el transcurso del estudio debido a causas diversas, la tabla número 2 muestra las causas principales de esta disminución durante el período de estudio.

Después del tercer día de tratamiento de superovulación todos los animales recibieron una dosis de 50 mg. de prostaglandina F-2 α * ,esta dosis fue constante durante todos los tratamientos de superovulación.

*Dinoprost trometamine: Lutalyse. TUCO División Upjohn, S.A.
C.V., MEXICO, D.F.

T A B L A # 2

PRINCIPALES CAUSAS DE LA DISMINUCION DE LA POBLACION ESTUDIADA		
NUMERO DE ANIMALES	DOSIS DE FSH-P	CAUSAS
164 -32 -12 - 9 - 5	20 mg.	<p>PRIMERA RECOLECCION</p> <p>-BECERRAS QUE NO PRESENTARON SIGNOS DE ESTRO ANTES DE LA PRIMERA O SEGUNDA RECOLECCION.</p> <p>-BECERRAS QUE MURIERON ANTES DE SER RECOLECTADAS.</p> <p>-BECERRAS RECOLECTADAS SOLO UNA VEZ DURANTE EL PERIODO DE ESTUDIO.</p> <p>-BECERRAS CON PROBLEMAS ANTES DE CADA RECOLECCION (INFECCION).</p>
96 -13	60 RECIBIERON 24 mg. 36 RECIBIERON 28 mg.	<p>SEGUNDA RECOLECCION</p> <p>-BECERRAS QUE NO PRESENTARON SIGNOS DE ESTRO, O NO RE-INSEMINADAS.</p>
83 -38	45 RECIBIERON 28 mg. 30 RECIBIERON 32 mg.	<p>TERCERA RECOLECCION</p> <p>-BECERRAS NO RECOLECTADAS (PROBLEMAS SIMILARES A LOS DE LA RECOLECCION 2).</p>
45 -25	10 RECIBIERON 32 mg. 27 RECIBIERON 36 - 40 mg.	<p>CUARTA RECOLECCION</p> <p>-BECERRAS NO RECOLECTADAS (PROBLEMAS SIMILARES A LOS DE LA RECOLECCION 2).</p>
20	36 - 40 mg.	QUINTA RECOLECCION
FIN DEL ESTUDIO.		

INSEMINACION ARTIFICIAL

La señal para la inseminación artificial se presentó con el estro de la donadora, (detección visual) y de acuerdo a la bibliografía se esperó que se presentara alrededor del quinto día de que se había iniciado el tratamiento con la gonadotropina (Donaldson, 1986).

Todos aquellos animales que no presentaron signos de estro, no fueron inseminados, ni recolectados y por lo tanto no pudieron continuar en el estudio, por ello el tamaño de la población disminuyó conforme el estudio avanzaba.

Las becerras fueron inseminadas dos veces durante cada tratamiento de superovulación, en intervalos de 12 horas. La primera dosis de semen se aplicó 12 horas después de que los animales mostraron signos de estro, de acuerdo al procedimiento descrito por Elsdén y Seidel, (1982).

RECOLECCION DE EMBRIONES

La recolección de embriones se realizó entre 6.5 y 7.5 días después de que las donadoras presentaron signos de estro.

Para la recolección de embriones las becerras fueron llevadas a trampas individuales en donde se les sometió al siguiente proceso: (FOTOGRAFIA No. 1; FIGURA No. 2)

Los animales fueron inmovilizados y se les administró una inyección epidural de xilocaina al 2 % y mediante palpación rectal se determinó el número de cuerpos lúteos, el paso siguiente fue abrir los labios vulvares introduciendo en ellos un catéter de foley (que contenía en su interior una varilla de

acero inoxidable : estilete), pasandolo a través del lumen del cervix.

El catéter consiste de dos canales, uno para entrada y salida de líquido y el otro para un globo inflable que previene el escape de fluido después de la inserción del catéter. Este se manipuló y se colocó en el primer cuerno uterino seleccionado y entonces se infló el globo con una solución líquida (solución amortiguadora de fosfatos: PBS) En el tubo del canal del catéter se conectó una manguera con una adaptación en Y (manguera tygon). Uno de los dos extremos de esta manguera se conectó a un frasco que contenía 1000 ml. de una solución amortiguadora de fosfatos (PBS), más suero fetal bovino (SFB) al uno por ciento, y antibioticos (sulfato de estreptomycin : 50 mg/lt. y penicilina G-sódica : 100 000 U.I./lt.).

Esta solución fue mantenida a 37 °C en baño maría. El otro extremo de la manguera tygon se conectó a un filtro contenedor de embriones (filtro Em-con) y la entrada y salida de líquido se reguló con una pinza colocada en ambos extremos de la manguera tygon (FIGURA No. 2).

El procedimiento para el lavado de cada cuerno uterino es el reportado por Elsdén y Seidel, (1982). De acuerdo a este método cada cuerno uterino fue lavado por separado, la unión utero-tubárica fue oprimida delicadamente (masaje), y se permitió que el medio (PBS) entrara. Cada cuerno uterino fue lavado de cinco a seis veces con la solución anterior.

Después del lavado de cada cuerno uterino el tubo de salida se abrió, cerrándose el tubo de entrada de líquido, el medio que contenía a los embriones salió entonces al exterior por el

extremo de la manguera tygon conectada al filtro Em-con, la malla del filtro es de acero inoxidable y el diámetro de sus orificios es de 40-60 μm por lo cual los embriones son retenidos dentro del filtro, cubiertos siempre por líquido.

Al terminar el proceso de recolección de embriones, el filtro pasó al laboratorio, en donde el contenido fue vertido a una caja Petri de plástico de 100 x 15 mm. preparada con una cuadrícula para así facilitar la búsqueda de embriones.

EVALUACION DE EMBRIONES

Todo el equipo, material y medio utilizado durante la búsqueda y evaluación de embriones fue previamente esterilizado y el trabajo se desarrollo siguiendo las normas de asepsia recomendadas por Schiewe y col., (1990).

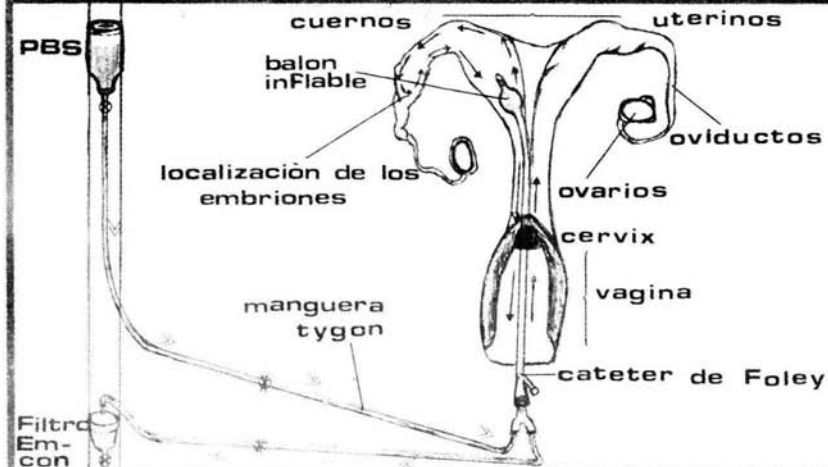
Todos los procedimientos de búsqueda y evaluación de embriones se llevaron a cabo bajo un microscopio estereoscópico. Para la búsqueda e identificación de embriones se requirió de experiencia ya que fácilmente pueden pasar desapercibidos, por ello, cada caja Petri fue examinada dos veces bajo el microscopio (15X), y luego fue revisada por otra persona para rectificar el número de embriones encontrados.

Los embriones fueron colocados en una caja Petri de 35 por 10 mm., y una vez evaluados fueron lavados en gotas de medio estéril colocadas previamente en cajas Petri de 100 X 15 mm., en cada una de las gotas (diez) de PBS más SFB se lavaron uno a uno los embriones. Una vez lavados, cada embrión fue evaluado a 50 aumentos bajo un microscopio estereoscópico y posteriormente re-evaluado a 300 aumentos en un microscopio invertido para poder

FOTO # 1



FIGURA # 2



MATERIAL Y EQUIPO UTILIZADO EN LA RECOLECCION DE EMBRIONES. ASI COMO SU COLOCACION EN LOS ANIMALES, (VER TEXTO).

observar y determinar con mayor seguridad el estadio y la calidad embrionaria.












Los embriones permanecieron en una solución de nutrientes (PBS más albúmina sérica bovina al 0.4 %) a temperatura ambiente, durante el periodo entre su localización, transferencia o congelación, este periodo nunca fue mayor de dos horas.

El paso siguiente después de la evaluación fue la transferencia a la receptora o la congelación de los embriones.

La etapa de desarrollo del embrión es referida por el número de células presentes hasta que este alcanza la etapa de 16 células, el examen microscópico de los embriones se hace progresivamente más difícil después de esta etapa por lo que se utilizan otros criterios de evaluación: Los morfológicos. Los embriones en una etapa de desarrollo determinado se asignan de acuerdo a un código específico que corresponde a la edad estimada de este con respecto al número de días en que fueron recuperados después del estro de la donadora, las diferentes etapas de desarrollo comunmente encontradas en embriones de vacas superovuladas se presentan en la tabla no. 3, (FIGURA No. 3) y se describen a continuación :

Mórula temprana : Es comunmente referida como una masa de células de forma esférica y en donde aún son visibles los blastómeros individualmente, la masa celular ocupa cerca del 80% del espacio perivitelino, el número de células es de aproximadamente 16 a 25.

Mórula compacta : La principal característica de esta etapa es la compactación de los blastómeros y su forma esférica, la masa celular esta tan estrechamente unida que es muy difícil la

TABLA No. 3		FIGURA No. 3
ESTADIOS DE DESARROLLO EMBRIONARIO ENCONTRADOS EN VACAS SUPEROVULADAS (DE ACUERDO AL DIA DE RECOLECCION)		ESTADIOS EMBRIONARIOS
DIAS POST-ESTRO	ETAPA CELULAR	
0 - 2	1 CELULA.	
1 - 3	2 CELULAS.	
2 - 3	4 CELULAS.	
3 - 5	8 CELULAS.	
4 - 5	16 CELULAS.	
5 - 7	MORULA TEMPRANA (MAS DE 16 CELULAS).	
6 - 7	MORULA COMPACTA (32 - 64 CELULAS).	
6 - 8	BLASTOCISTO TEMPRANO (160 CELULAS).	
7 - 9	BLASTOCISTO (APROXIMADAMENTE 200 CELULAS).	
7 - 10	BLASTOCISTO EXPANDIDO (+ DE 200 CELULAS).	
8 - 11	BLASTOCISTO EN ECLOSION	

Flechón y col., 1980; Shea, 1981; Elsdén y Seidel, 1982; Linares, 1981; Betteridge y Flechón, 1988; CEMEGEN, 1989.

observación de células completas y se aprecian únicamente los contornos celulares de los blastómeros, la masa celular ocupa del 60 al 70 % del espacio perivitelino.

Blastocisto temprano : Es un embrión que presenta ya una cavidad llena de líquido (blastocele), el embrión ocupa del 70 al 80 % del espacio perivitelino, ya hay una diferenciación entre las células de la masa celular interna y el trofoectodermo (trofoblasto).

Blastocisto : El blastocele es muy prominente, el espacio perivitelino es mínimo, hay una más pronunciada diferenciación celular.

Blastocisto expandido : El diámetro del embrión se incrementa drásticamente, la zona pelúcida se adelgaza en aproximadamente una tercera parte del diámetro original.

Blastocisto en eclosión y eclosionado : Los embriones en esta etapa del desarrollo pueden observarse con zona pelúcida o sin ella, pueden ser esféricos o no, y con un blastocele bien definido o colapsado.

La calidad individual de los embriones se determinó de acuerdo a los siguientes criterios :

1. Estadio celular : En el momento de la recolección el embrión debía encontrarse en una etapa de desarrollo relacionada con el día en que se realizó la recolección (TABLA No. 3); cualquier embrión en etapa de desarrollo más joven se consideró retardado en crecimiento (Foote y Ellington, 1988 ; Donaldson, 1985).

2. Apariencia general : El color del embrión se consideró muy importante; la zona pelúcida debía estar circular o intacta, el

desarrollo de los blastómeros uniforme, esférico y los blastómeros debían estar compactados.

3. Número de células : Fue importante cuando era posible, contar el número de células, si el número era pequeño, referido al día de la recolección el embrión se considero no apto para ser transferido.

4. Compactación : Los blastómeros debían estar bien compactados, de manera que su apariencia fuera la de una mora.

5. Tamaño y forma de los blastómeros : Los blastómeros debían ser simétricos en tamaño.

6. Blastómeros extruídos o muertos : La presencia de células extruídas de la masa celular podría indicar problemas en etapas tempranas del desarrollo, la presencia de células muertas o restos celulares indicaba igualmente problemas en el desarrollo dependiendo de la cantidad y tamaño de este material, por ello se tomo en cuenta esta característica.

7. Zona pelúcida : La regularidad en la forma de la zona pelúcida no afecto mucho el criterio de calidad morfológica del embrión siempre y cuando estuviera intacta.

De acuerdo a los criterios anteriores los embriones se clasificaron en cuatro grupos :

Embrión excelente o calidad uno : Embrión compactado, esférico, etapa de desarrollo adecuada a su edad, pocas vesículas, sin desechos celulares, sin blastómeros extruídos, color ámbar uniforme. (Morfológicamente normal o transferible).

Bueno o calidad dos : Embrión compactado, o con leve descompactación, forma poco irregular, desarrollo adecuado a su edad, presencia de vesículas pero no muy abundantes, con algunos

blastómeros extruidos, color uniforme o con zonas claras y oscuras pero no muy visibles. (morfológicamente normal o transferible).

Regular o calidad tres : Marcada descompactación, blastómeros extruidos, restos celulares, color oscuro o con zonas claras y oscuras bien definidas, presencia de vesículas, masa embrionaria pequeña. (embrión transferible).

Malo o calidad cuatro : Embriones con marcada degeneración celular, masa embrionaria pequeña, coloración y descompactación marcada, retraso en el desarrollo (más de dos días), blastómeros de tamaño irregular. Todos los embriones desde la etapa de 2 a 16 células así como los óvulos se clasificaron como calidad cuatro (embrión no transferible).

Los criterios utilizados para la evaluación de la calidad y el estadio embrionario han sido publicados por distintos investigadores (Lindner y Wright, 1983 ; Elsdén y Seidel, 1982 ; Donaldson, 1986 ; CEMEGEN, 1989).

CODIFICACION.

Para una descripción completa de la calidad y el estadio embrionario se utilizaron las siguientes claves numéricas :

T A B L A # 4	
ESTADIO CELULAR	NUMERO
OVULO	1
EMBRION DE 2 A 16 CELULAS	2
MORULA TEMPRANA	3
MORULA COMPACTA	4
BLASTOCISTO TEMPRANO	5
BLASTOCISTO	6
BLASTOCISTO EXPANDIDO	7
BLASTOCISTO EN ECLOSION	8

T A B L A # 5		
CALIDAD EMBRIONARIA	NUMERO	CLASIFICACION
EXCELENTE	1	EMBRIONES TRANSFERIBLES
BUENO	2	
REGULAR	3	
MALO	4	EMBRIONES NO TRANSFERIBLES

ANALISIS ESTADISTICO

1. El tipo de análisis estadístico utilizado fue el análisis de regresión lineal simple y múltiple, para estimar la repetibilidad en la respuesta a la superovulación en cuanto a el número total de estructuras (TE) y de embriones morfológicamente normales EMN encontrados.

Para llevar a cabo este análisis, se utilizó el paquete estadístico para computadora personal forecast-plus. Este paquete nos proporcionó el coeficiente de correlación y regresión lineal simple y múltiple así como estimaciones de la confiabilidad del valor de cada uno de los coeficientes de correlación obtenidos.

2. Para determinar posibles diferencias entre la calidad y el estadio embrionario en la población, entre los tratamientos de superovulación se utilizó el análisis de varianza unifactorial. Para llevar a cabo este análisis, se siguieron los procedimientos descritos por Daniel, (1977).

RESULTADOS Y DISCUSION.

Los resultados generales sobre el número de estructuras totales (TE: número total de embriones más número total de óvulos), y el número total de embriones morfológicamente normales (EMN) recolectados durante cada uno de los cinco periodos de superovulación se muestran en la tabla número 6.

T A B L A # 6					
CARACTERISTICA	R E C O L E C C I O N				
	1	2	3	4	5
TE	741	532	543	298	122
EMN	476	329	334	201	82
EMN %	63.9	61.8	61.5	67.4	67.2
TE \bar{X}	7.7	5.5	6.5	6.6	6.1
S	6.7	4.9	8.2	4.0	3.3
EMN \bar{X}	4.9	3.4	4.0	4.5	4.1
S	4.6	3.6	4.4	2.8	3.3
N	96	96	83	45	20
<p>LA TABLA CONTIENE DATOS SOBRE EL NUMERO TOTAL DE EMBRIONES Y NUMERO DE EMBRIONES MORFOLOGICAMENTE NORMALES RECOLECTADOS DURANTE EL ESTUDIO.</p> <p>-TE: TOTAL DE ESTRUCTURAS. -EMN: EMBRIONES MORFOLOGICAMENTE NORMALES. -N: NUMERO DE ANIMALES RECOLECTADOS.</p> <p>\bar{X} +/- S: MEDIA +/- DESVIACION ESTANDAR.</p>					

En esta tabla podemos observar que el número total de estructuras (TE) y embriones transferibles (EMN) disminuyó marcadamente desde 741 y 476 en la primera recolección, hasta 122 y 82 en la quinta recolección, respectivamente. Sin embargo, en la misma tabla se observa que el número de unidades experimentales disminuyó también marcadamente. Por ello, se

consideró que el promedio en el número TE y EMN por recolección fue una mejor estimación de lo que sucedió realmente durante el periodo de estudio (GRAFICAS No. 1 y 2).

De acuerdo a los resultados mostrados en la tabla anterior, sólo 20 vaquillas permanecieron en el estudio durante los cinco periodos de superovulación (recolecciones), debido a ello, se estudio a la población en dos grupos: el grupo general, en el que se evaluaron las respuestas de todos los animales presentes en cada recolección (Grupo 1) que esta representado en la tabla no. 6, y el grupo de las 20 vaquillas que permanecieron en el estudio durante las cinco recolecciones (Grupo 2) y que son en realidad parte integrante del grupo general o grupo 1, pero que fueron analizados independientemente (TABLA No. 7).

T A B L A # 7					
CARACTERISTICA	R E C O L E C C I O N				
	1	2	3	4	5
TE	261	174	236	179	122
EMN	150	112	163	118	82
EMN %	57.5	64.3	69.8	65.9	67.2
TE \bar{X}	13.0	8.7	11.8	8.9	6.1
S	6.5	5.2	7.7	5.6	3.3
EMN \bar{X}	7.6	5.7	8.1	5.9	4.1
S	5.4	3.9	5.9	2.9	3.3
N	20	20	20	20	20
LA TABLA CONTIENE DATOS SOBRE EL NUMERO TOTAL DE EMBRIONES Y NUMERO DE EMBRIONES MORFOLOGICAMENTE NORMALES RECOLECTADOS DURANTE EL ESTUDIO. -TE: TOTAL DE ESTRUCTURAS. -EMN: EMBRIONES MORFOLOGICAMENTE NORMALES. -N: NUMERO DE ANIMALES RECOLECTADOS. - \bar{X} +/- S: MEDIA +/- DESVIACION ESTANDAR.					
ANIMALES DEL GRUPO 2					

El promedio del número TE y EMN recolectados para ambos grupos de animales (VER TABLAS No. 6 y 7) muestra al parecer una tendencia a decrecer conforme el número de recolecciones aumenta. Las gráficas que se muestran a continuación ilustran de manera más representativa el comportamiento en la respuesta para estos animales (GRAFICAS No. 1 - 4).

Con el objeto de evaluar si había una tendencia en la respuesta de los animales en cuanto al número promedio de TE y EMN conforme el número de recolecciones aumentaba se calculó el coeficiente de determinación lineal, para cada una de las gráficas anteriores.

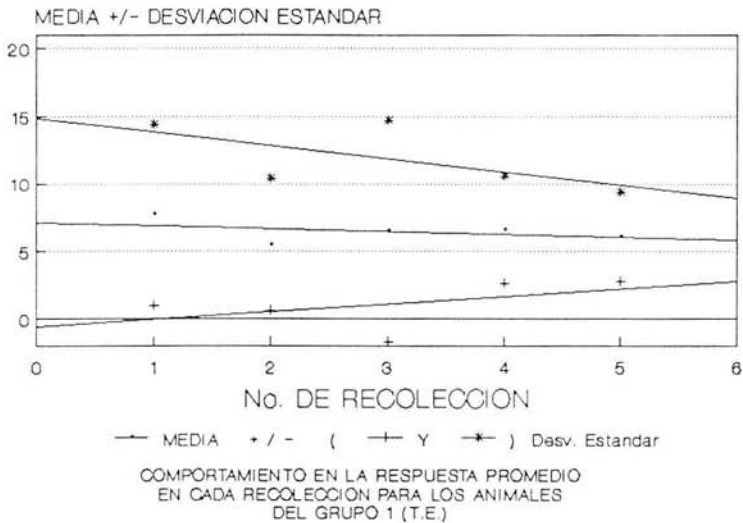
Ninguno de los coeficientes de determinación lineal (r) calculados fue estadísticamente significativo, ($\alpha = 0.05$). Se utilizó además otra alternativa para probar la hipótesis de no relación lineal entre dos variables, ($X =$ promedio del número TE o EMN, $Y =$ no. de recolecciones o tratamientos de superovulación), se basa en la pendiente (b) de la ecuación de regresión lineal.

Todas las pendientes calculadas fueron negativas, lo cual nos indicaría una tendencia lineal de las medias aritméticas hacia la disminución a medida que las recolecciones aumentan, los valores calculados para estas pendientes no fueron sin embargo estadísticamente significativos ($\alpha = 0.05$) y por ello no hay evidencia de que haya declinación en el número promedio de EMN y TE conforme el número de recolecciones se incrementa (VER GRAFICAS No. 1-4).

Cuando no hay relación lineal entre dos variables, entonces b es muy cercana a 0. En este estudio las pendientes calculadas

GRAFICA # 1

PROMEDIOS POR RECOLECCION PARA EL NUMERO TOTAL DE ESTRUCTURAS

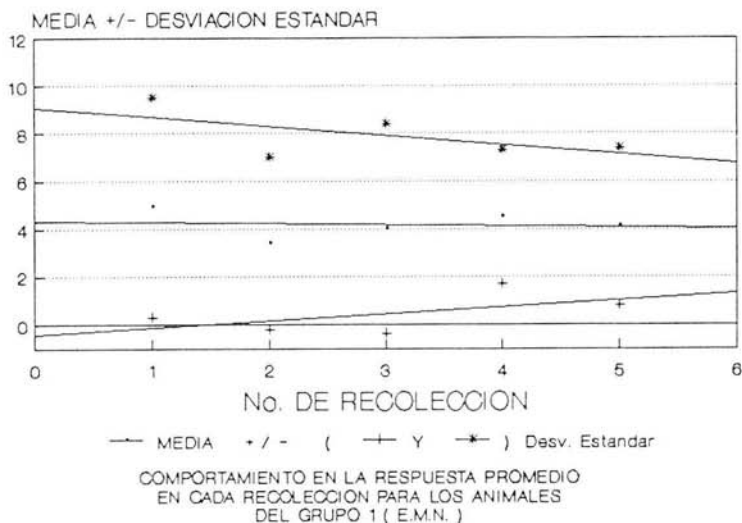


poseen valores muy cercanos a cero, por lo cual los resultados obtenidos nos sugieren que las medias de la población para las características anteriores en los animales del grupo 1 (GRAFICAS No. 1 y 2) se comportan de una manera constante, lo cual confirmaría una repetibilidad en la respuesta de la población en cuanto al número promedio de EMN y TE durante las cinco recolecciones que comprendió este estudio.

Las gráficas número 3 y 4 que representan los resultados obtenidos para los animales del grupo 2, si bien tampoco siguen una tendencia lineal estadísticamente significativa, muestran una fluctuación más evidente en el número promedio de EMN y TE entre las recolecciones, esta fluctuación se hace más obvia si observamos los promedios obtenidos en la primera y última

GRAFICA # 2

PROMEDIO POR RECOLECCION PARA EL NUMERO DE EMBRIONES MORFOLOGICAMENTE NORMALES

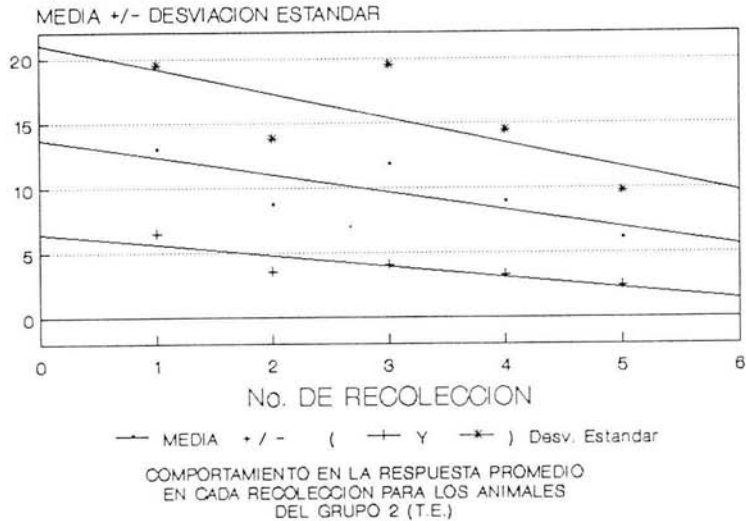


recolección, por ello no podemos descartar la posible existencia de alguna tendencia no lineal en la respuesta de estos animales.

En otras investigaciones al respecto, Lubbadah y col. (1980), encuentran que en varias razas de vacas lecheras, la superovulación repetida con la misma gonadotropina (FSH-LH), por cuatro periodos sucesivos no lleva a un decremento en la respuesta en cuanto al número promedio de ovulos y embriones recolectados.

Hasler y col. (1983), reportan que al superovular a 35 becerras y vacas Holstein durante más de cinco veces, no hay disminución en el número promedio TE por recolección, y aunque encuentran variaciones en la tasa de fertilización, estiman que la capacidad de los animales en su respuesta al tratamiento con

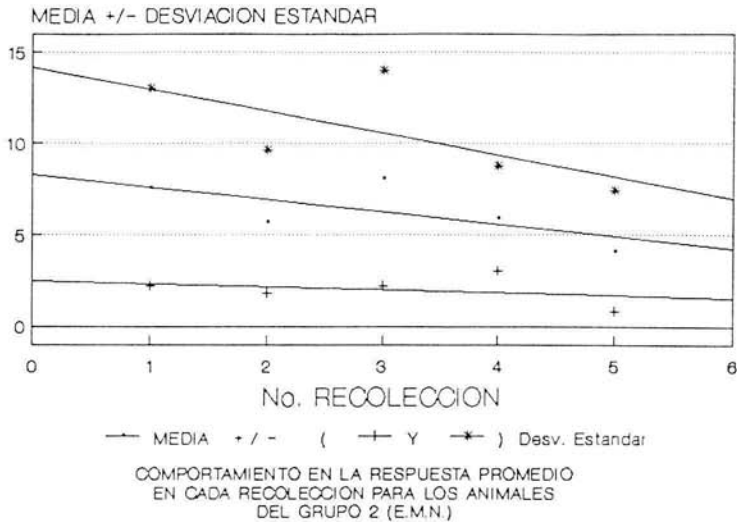
GRAFICA # 3 PROMEDIOS POR RECOLECCION PARA EL NUMERO TOTAL DE ESTRUCTURAS



FSH-P fue consistente durante una serie de diez superovulaciones.

Lamberson y Lambeth (1986), concuerdan también con los estudios anteriores; ellos estudiaron un grupo de 75 vacas raza Brangus durante tres periodos de superovulación sucesivos utilizando FSH-P, sus resultados indican que el promedio de EMN y TE no sufre una declinación evidente durante las recolecciones. Los coeficientes de determinación calculados por ellos no fueron estadísticamente significativos. Aunque todos los resultados anteriores son acordes con los obtenidos en el presente trabajo, (más evidente para los animales del grupo 1); hay sin embargo otros estudios realizados con conejos, borregos, becerras y vacas en los que se reporta que el tratamiento repetido con la misma

GRAFICA # 4
PROMEDIO POR RECOLECCION PARA EL NUMERO
DE EMBRIONES MORFOLOGICAMENTE NORMALES



gonadotropina causa un decremento en la respuesta a la superovulación (Lubbadeh y col., 1980).

Esta declinación en la respuesta se ha atribuido principalmente a refractoriedad resultante de la formación de anticuerpos contra la gonadotropina exógena. Dado que la FSH es una proteína y puede considerarse por consiguiente como potencial inductora de anafilaxis, esta antigenicidad también implica que los tratamientos repetidos pueden estimular la producción de antigonadotrópicas, que a su vez disminuirían las respuestas subsecuentes de las donadoras, o quizás aún podrían interferir con las gonadotropinas endógenas (Elsden y Seidel, 1982). Sin embargo, estos efectos no han sido confirmados aún, ni corroborados aquí.

Se ha sugerido también que la longitud de tiempo entre superovulaciones puede ser un factor muy importante en el decremento en la respuesta a la gonadotropina exógena (Hasler y col., 1983).

La longitud del tiempo entre superovulaciones no ha sido consistente en algunas investigaciones que reportan este decremento (Saumande y Chupin, 1977). Además, en diversos reportes se permite que las donadoras lleven a término una gestación después de varios tratamientos de superovulación, dado que esto podría reducir la posibilidad de una patología endocrina (Elsden y Seidel, 1982), de cualquier manera los resultados reportados hasta ahora no han sido concluyentes (Lubbadeh y col., 1980).

En el presente estudio se permitió que las becerras presentaran por lo menos 2 ciclos estrales naturales entre superovulaciones para tratar de evitar que el tratamiento continuo con la gonadotropina pudiera ser un factor que afectara los resultados del experimento.

El decremento en la fecundidad se ha asociado con la edad en el ganado bovino así como en otras especies de mamíferos (Lerner y col., 1986). Varios investigadores han reportado la declinación en la respuesta en cuanto a aspectos reproductivos conforme aumenta la edad en vacas superovuladas (Hasler y col., 1983 ; Donaldson, 1984).

En estos estudios se ha encontrado que el promedio del número de embriones, la tasa de fertilización, la calidad media de todos los embriones, y el número promedio de embriones transferibles decrementa linealmente conforme a la edad. Donaldson (1983),

reporta que el número promedio de EMN por colección no disminuye significativamente durante diez recolecciones sucesivas, sin embargo, al examinar el número promedio de EMN dentro de categorías de vacas que habían sido superovuladas previamente (y por lo tanto probablemente eran de mayor edad), la variación encontrada si se hizo evidente (significativa), por lo que concluye que si hay una tendencia lineal a la declinación en la respuesta conforme el número de recolecciones aumenta.

La disminución en la respuesta a la superovulación observada en vacas maduras comparadas con vacas jóvenes, se ha sugerido que probablemente se deba a la reducción en el número de folículos capaces de responder a la gonadotropina exógena, lo cual ha sido comprobado para otras especies de mamíferos tales como conejos y ratones superovulados (Maurer y Foote, 1971).

Los animales experimentales utilizados en el presente estudio fueron becerras muy jóvenes, sin previos tratamientos de superovulación, de menos de 14 meses de edad al inicio del estudio, de manera que la disminución en el número de folículos (de acuerdo a la hipótesis anterior) en un período tan corto de estudio (doce meses), no se haría evidente, por lo que el promedio en el número de EMN y TE no declinaría marcadamente, lo cual es acorde con los resultados. Tomando en cuenta o no la suposición anterior, en el presente experimento el efecto de las diferentes edades de las donadoras sobre la respuesta a la superovulación fue un factor que estuvo bajo control, ya que todas las vaquillas eran de edades muy homogéneas.

La importancia de la dosis de FSH aplicada durante cada período de estudio es otro factor que debe tomarse en cuenta. En

el presente trabajo, las dosis administrada a los animales se incrementó conforme el número de tratamientos aumentaba. (VER **TABLA No. 2**)

Los resultados obtenidos en esta investigación son al parecer diferentes entre los dos grupos de animales analizados, esto quiere decir que dentro de la población estudiada hay diferentes respuestas al tratamiento de superovulación. Para los animales del grupo 1 las dosis incrementadas de FSH no parecen afectar el número promedio de EMN y TE durante el período de estudio, sin embargo en el grupo dos (**Gráficas No. 3 y 4**), el número promedio de EMN y TE, muestra una fluctuación significativa, ya que los resultados del análisis de varianza indican que las diferencias entre las medias de los tratamientos son estadísticamente significativas, ($\alpha = 0.05$) de manera que los efectos de los tratamientos, es decir, de las dosis de FSH sobre la respuesta de los animales en cuanto al número de EMN y TE debe ser un factor que debe tomarse en consideración.

La relación dosis respuesta "aparentemente" observada en este estudio concuerda con los resultados encontrados en otras investigaciones. En estos reportes se indica que se debe evaluar cuidadosamente la dosis total que se va a aplicar, ya que si la dosis es baja o insuficiente el número de ovulaciones sera bajo, si la dosis es excesiva se producen demasiadas ovulaciones, pero se producen desequilibrios endocrinos que llevan a fallas en la fertilización y el número de embriones transferibles se reduce (Pawlynshy y col., 1986).

Lerner y col., (1986) encuentran que en vacas jóvenes, el incremento en la dosis de FSH-P decrementa el número de óvulos y

embriones, ellos sugieren que estas respuestas pueden deberse a una sobreestimulación de los ovarios.

Conforme el número de folículos estimulados aumenta, las limitaciones físicas dentro del ovario (por ejemplo la cantidad de sangre que llega a los folículos)

o desequilibrios de los mecanismos endocrinos normales como una producción excesiva de esteroides pueden interferir en el desarrollo folicular apropiado y en la ovulación. De esta manera un gran número de folículos estarían siendo estimulados a continuar desarrollándose a altas dosis de FSH, pero pocos podrían ser capaces de ovular y probablemente sufrirán luteinización y se volverían atresicos.

Los mismos resultados reportados anteriormente han sido encontrados por Monniaux y col., (1983), utilizando como gonadotropina PMSG, y por McGowon y col., (1983), trabajando con HMG (Gonadotropina Menopausica Humana).

Los resultados encontrados en el presente estudio, presentan una pendiente negativa en cuanto al número promedio de EMN y TE a través de las recolecciones, sin embargo dicha tendencia no es estadísticamente significativa, al menos durante las cinco recolecciones que comprendió el estudio. De cualquier manera el análisis de varianza demuestra que al menos para los animales del grupo 2 si hay diferencias significativas ($\alpha = 0.05$) en el número promedio de EMN y TE entre las recolecciones, este resultado indica también que hubo diferencias en la respuesta de los animales del grupo 1 y 2, pues en el grupo 1 estos promedios se mantienen muy similares durante todas las recolecciones, mientras que en el grupo 2 si se observaron fluctuaciones significativas.

El análisis de estos datos debe someterse de cualquier forma a las siguientes consideraciones:

1) Dado que los animales que representan al grupo 2 son en realidad parte integrante de la población (grupo 1), podemos suponer que sus resultados no son representativos de lo que en realidad pudo haber sucedido en la población, ya que sus promedios (**VER TABLA No. 7**), demuestran que este grupo está compuesto en su mayoría por animales que respondieron al tratamiento de superovulación produciendo un gran número de EMN y TE, durante cada recolección.

2) El número promedio de EMN y TE calculado para la quinta recolección (**TABLA No. 6**), no debe ser tomado con confianza ya que este valor fue calculado en base a los datos de los animales del grupo 2, que aunque forman parte de la población, no son una muestra aleatoria de esta puesto que son individuos que permanecieron en el estudio durante las cinco recolecciones en base a que respondieron al tratamiento con FSH produciendo un alto número de EMN y TE, y por ello el promedio de sus respuestas es superior al de la población general.

3) Este grupo de 20 animales muestran una mayor fluctuación en el número promedio de EMN y TE que el grupo 1, esta diferencia podría indicar que son animales más sensibles al tratamiento de superovulación ya que sus respuestas son más variables.

De cualquier manera no parece haber algún patrón especial en el comportamiento de estas fluctuaciones, por lo menos a nivel grupal, sin embargo es necesario evaluar la repetibilidad en la respuesta en el número de EMN y TE a nivel individual, para comprender con mayor claridad las respuestas de la población.

En resumen, los resultados obtenidos aquí para los dos grupos de animales indican que si bien hay una tendencia a la disminución en el número promedio de EMN y TE, esta tendencia no es significativa, hay sin embargo fluctuaciones en estos promedios que se hacen más evidentes para los animales del grupo 2, lo cual nos indica que los animales con más altas respuestas podrían ser más sensibles al tratamiento con FSH ya que este es el principal factor ambiental que puede considerarse variable entre cada recolección.

R E P E T I B I L I D A D.

Las tablas número 8 y 9 muestran la matriz de correlación para el número TE y EMN por recolección, para las becerras del grupo 1. Podemos observar en la tabla no. 8 que el rango de los coeficientes de correlación lineal simple va de 0.07, a 0.65 para el número total de estructuras por individuo (TE). El valor de este coeficiente disminuyó conforme aumentaba el número de recolecciones. El análisis estadístico indica que de los coeficientes de correlación calculados sólo fueron significativos: $r_{1,2} = 0.461$, $r_{1,3} = 0.651$, $r_{1,4} = 0.358$, y $r_{2,3} = 0.399$. Dichos resultados se obtuvieron utilizando el estadístico de prueba F ($\alpha = 0.05$).

En la tabla número 9 esta representada la matriz de correlación para el número de EMN por individuo. Los resultados son muy similares a los obtenidos con el número TE en cuanto a los coeficientes que fueron estadísticamente significativos, sin embargo el valor de estos fue menor, el rango vario de 0.001 a 0.45. Los coeficientes de correlación estadísticamente significativos fueron : $r_{1,2} = 0.29$, $r_{1,3} = 0.45$ y $r_{2,3} = 0.25$. Como se puede observar en la matriz de correlación, (TABLAS No. 8 y 9), el valor de los coeficientes calculados a partir de los datos obtenidos en las recolecciones 4 y 5, fueron muy bajos, (no significativos), exceptuando $r_{1,4} = 0.358$. (VER TABLA No. 8).

TABLA NUMERO 8						
R E C O L E C C I O N						
R E C O L E C C I O N		1	2	3	4	5
	1	1	0.46*	0.65*	0.36*	-0.13
	2		1	0.39*	0.13	0.09
	3			1	0.23	-0.26
	4				1	0.07
	N	96	96	83	45	20
r: tablas			0.21	0.22	0.30	0.44
Resultados de el análisis de correlación entre recolecciones sucesivas para el número total de embriones (TE) obtenidos por individuo. * : estadísticamente significativo $\alpha = 0.05$						

TABLA NUMERO 9						
R E C O L E C C I O N						
R E C O L E C C I O N		1	2	3	4	5
	1	1	0.29*	0.45*	0.27*	0.17
	2		1	0.25*	0.11	0.25
	3			1	0.001	-0.05
	4				1	0.27
	N	96	96	83	45	20
r: tablas			0.21	0.22	0.30	0.44
Resultados de el análisis de correlación entre recolecciones sucesivas para el número de embriones morfológicamente normales (EMN) obtenidos por individuo. * : estadísticamente significativo $\alpha = 0.05$						

TABLA NUMERO 10						
R E C O L E C C I O N						
R E C O L E C C I O N		1	2	3	4	5
	1	1	0.14	0.57*	0.20	-0.13
	2		1	0.02	0.10	0.09
	3			1	0.16	-0.26
	4				1	0.07
	N	20	20	20	20	20
r: tablas		0.42	0.42	0.42	0.42	0.42
Resultados de el análisis de correlación entre recolecciones sucesivas para el número total de embriones (TE) obtenidos por individuo. * = estadísticamente significativo $\alpha = 0.05$						
ANIMALES DEL GRUPO 2						

TABLA NUMERO 11						
R E C O L E C C I O N						
R E C O L E C C I O N		1	2	3	4	5
	1	1	0.25	0.26	0.24	0.17
	2		1	0.09	0.05	0.25
	3			1	0.38	-0.05
	4				1	0.27
	N	20	20	20	20	20
r: tablas		0.42	0.42	0.42	0.42	0.42
Resultados de el análisis de correlación entre recolecciones sucesivas para el número de embriones morfológicamente normales (EMN) obtenidos por individuo. * = estadísticamente significativo $\alpha = 0.05$						
ANIMALES DEL GRUPO 2						

De acuerdo a los resultados anteriores, el coeficiente de correlación lineal simple disminuyó en valor conforme el número de tratamientos se incrementó.

Como podemos observar en las tablas anteriores, el número de animales que fueron recolectados disminuyó marcadamente durante el periodo de estudio desde $n = 96$ en la primera recolección hasta $n = 20$ en la quinta recolección. Las becerras que siguieron siendo superovuladas eran animales que respondieron bien desde el primer tratamiento con FSH y por ello no salieron del estudio.

De esta manera, y como se había indicado previamente, aquellos animales que fueron superovulados 4 ($n = 45$) o 5 ($n = 20$) veces, podrían ser animales no representativos de las respuestas de la población, ya que como los resultados indican, algunos animales (grupo 2) muestran una respuesta más alta en el número promedio de EMN y TE que la población general. (TABLAS No. 6 y 7).

La matriz de correlación para el número TE y EMN en este grupo de animales, indica que de los coeficientes obtenidos sólo $r_{1,3} = 0.57$ fue significativo (TABLAS No. 10 y 11), la existencia de tan solo un coeficiente de correlación significativo, indica que no hay repetibilidad en la respuesta individual a la superovulación para este grupo de animales, para ninguna de las dos características estudiadas.

En otras investigaciones al respecto, Critser y col. (1980), estimaron la repetibilidad en la respuesta a la superovulación mediante el conteo del número de cuerpos lúteos, por medio de laparoscopia en 37 becerras Holstein. Los datos disponibles se obtuvieron unicamente durante dos recolecciones sucesivas; hubo repetibilidad en la respuesta a la superovulación tanto con FSH

como con PMSG, "aproximadamente el 33 % de la variación ($r = 0.33$) en la respuesta a la superovulación fue debida a los individuos". Ellos estiman que aquellas vaquillas que fueron estimuladas relativamente bien durante el primer tratamiento tendieron a ser estimuladas relativamente bien en su respuesta al segundo tratamiento. Estos resultados concuerdan con los aquí calculados para las dos primeras recolecciones para los animales del grupo 1, en donde $r_{1,2} = 0.461$ (VER TABLA No. 8), fue altamente significativo; sin embargo los resultados de las respuestas de los animales del grupo 2 son diferentes, ya que $r_{1,2} = 0.136$ no fue estadísticamente significativo.

Seidel (1981), en otro estudio, evaluó la repetibilidad en el número de gestaciones resultantes de transferencia de embriones después de tratamientos de superovulación, el valor de r fue de 0.01. Este bajo índice de constancia en el número de gestaciones es, como explica el autor, debido parcialmente a la acumulación de variabilidad desde el tratamiento de superovulación, tasa de fertilización, eficiencia en la recolección, disponibilidad de las receptoras, etc., sin embargo, el cálculo realizado es poco confiable debido a que el grupo experimental en que se realizó era demasiado heterogéneo, ya que comprendía varias razas de ganado, edades muy variables, ambientes de desarrollo diferentes, etc.

Lamberson y Lambeth (1986), en otro trabajo de investigación examinaron datos de 210 recolecciones llevadas a cabo en 75 vacas raza Brangus, superovuladas con FSH-P. Ellos estimaron la repetibilidad en el número de EMN y TE en 0.19 ± 0.08 , y 0.22 ± 0.08 respectivamente, para tres recolecciones sucesivas. Las

repetibilidades calculadas en este estudio fueron bajas. Ellos sugieren que dado que la repetibilidad es la correlación entre respuestas repetidas, la respuesta inicial a un tratamiento de superovulación no debe ser tomado como un buen predictor de la capacidad del animal individual a responder a la gonadotropina exógena. A pesar de sus resultados, ellos encuentran que el 50 % de las vacas que produjeron menos de cuatro EMN en el primer tratamiento de superovulación continuaron produciendo un bajo número de embriones morfológicamente normales. Estos datos indican que el valor positivo de la repetibilidad puede ser debido más a aquellos animales con baja respuesta que a aquellos que responden bien a dicho tratamiento. Patrones similares de respuesta habían sido reportados previamente por Chupin y Saumande (1977), quiénes si bien no hacen una estimación de la repetibilidad, encuentran que aquellas vaquillas que mostraron una pobre respuesta en el primer tratamiento, continuaron mostrando una pobre respuesta en tratamientos posteriores.

Los resultados encontrados en el presente estudio indican que la repetibilidad es significativa al menos durante las tres primeras recolecciones tanto para el número total de estructuras (TE), como de embriones morfológicamente normales (EMN) por individuo, para los animales del grupo 1.

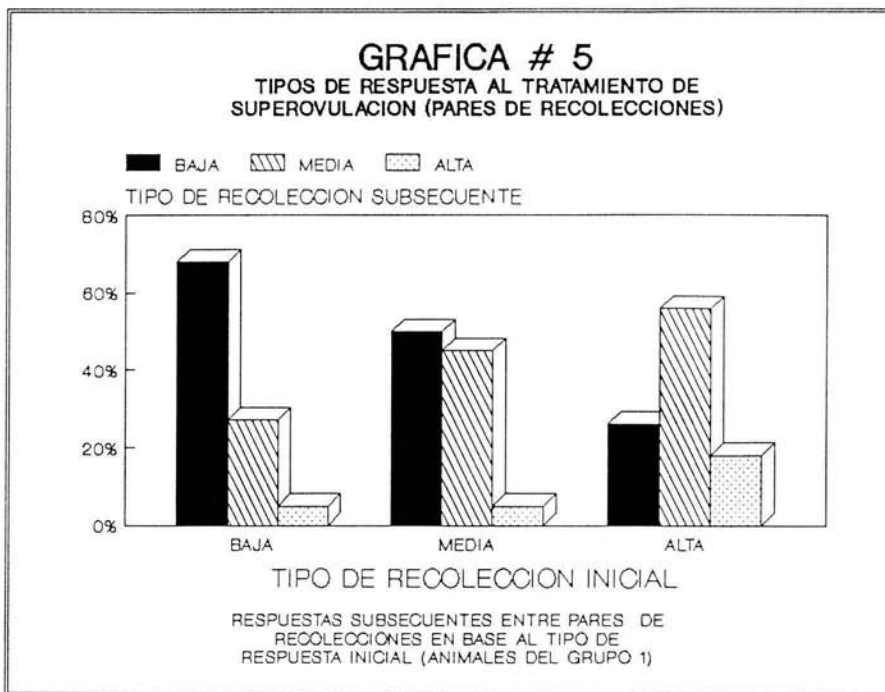
El valor más bajo en los coeficientes de correlación para el número de EMN por individuo (TABLA No. 9), comparado con los obtenidos para el número TE, puede explicarse por medio de los efectos ambientales adicionales sugeridos por Seidel (1981), ya que la variabilidad introducida desde el tratamiento de superovulación, tasa de fertilización, eficiencia en la

recolección, búsqueda y evaluación embrionaria, etc. es mayor que para la tasa de ovulación (calculada aquí como: número de óvulos más número de embriones recolectados : TE).

Lamberson y Lambeth (1986), sugieren una manera más fácil y menos cuantitativa para describir las relaciones entre respuestas consecutivas a tratamientos de superovulación. Ellos agrupan el número de EMN recolectados, entre pares de recolecciones y entre donadoras en las siguientes tres categorías : Bajo = 0-3 ; medio = 4-12 ; y alto 13 o más.

Siguiendo un criterio muy semejante al de estos autores en la presente investigación, se encontró que de un total de 340 recolecciones, (sin tomar en cuenta al individuo ni el número de tratamientos con FSH), 184 fueron consideradas como bajas (menos de 3 EMN), 128 fueron consideradas recolecciones medias o regulares (entre 4 y 9 EMN), y 28 fueron consideradas como recolecciones muy exitosas o altas (igual o más de 10 EMN). El 68 % de las recolecciones bajas fueron seguidas por una pobre recolección de EMN, 27 % por una recolección buena, y 5 % por una recolección alta. El 50 % de las recolecciones consideradas medias fueron seguidas por una recolección baja, 45 % por una recolección media, y 5 % por una recolección alta. En las recolecciones consideradas como altas, el 26 % fue seguida por una pobre recolección, 56 % por una recolección media, y el 18 % por una recolección alta. (GRAFICA No. 5).

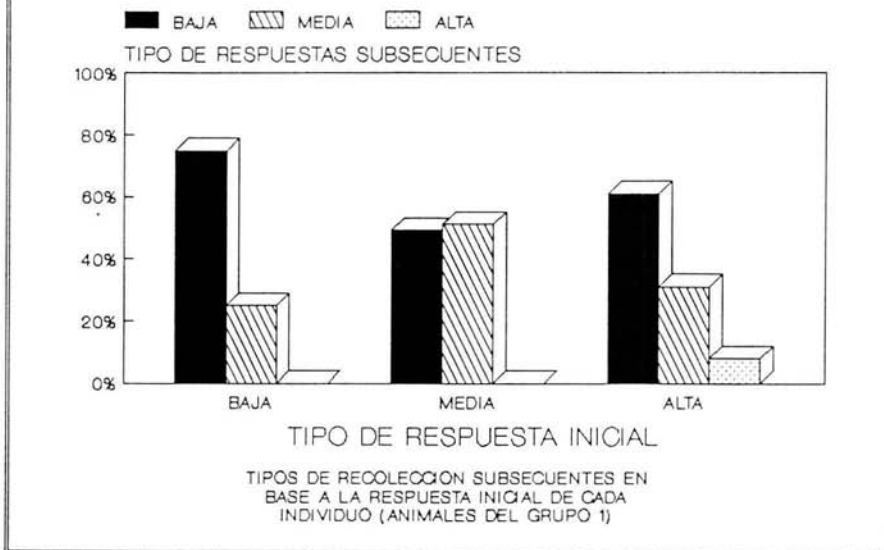
Utilizando los mismos criterios para evaluar la respuesta de los animales del grupo 1 en el primer régimen de superovulación como indicador de las respuestas subsecuentes de los animales, se encontró que de las 96 becerras que fueron superovuladas



inicialmente, 48 mostraron una respuesta inicial baja, 41 una respuesta media, y 7 una respuesta inicial alta. De aquellos animales con una respuesta inicial baja, aproximadamente el 75 % continuo mostrando una respuesta promedio baja, 25 % tuvo una respuesta media, y ninguno mostró respuestas altas.

De los animales que tuvieron inicialmente una respuesta media, el 49 % tendieron a mostrar en los tratamientos siguientes una respuesta promedio baja, el 51 % una respuesta media y no hubo animales con respuestas altas. De las 7 becerras que tuvieron una respuesta inicial alta, el 61 % tuvo una respuesta promedio baja en los tratamientos siguientes, 31 % una respuesta media, y sólo el 8 % una respuesta promedio alta (GRAFICA No. 6).

GRAFICA # 6
TIPOS DE RESPUESTA AL TRATAMIENTO DE
SUPEROVULACION (POR INDIVIDUO)



De acuerdo a los resultados anteriores, el 75 % de los animales que mostraron una pobre respuesta en cuanto al número de EMN en el primer tratamiento, continuaron mostrando la misma respuesta promedio en los tratamientos siguientes (de dos a cinco tratamientos); el 51 % de los animales con una respuesta inicial media continuaron mostrando en promedio respuestas medias en los tratamientos siguientes, y sólo el 8 % de los animales que mostraron una respuesta alta en el primer tratamiento continuaron mostrando respuestas altas.

De acuerdo a estos resultados, el valor positivo y significativo de los coeficientes de correlación (hasta la tercera recolección), se deben probablemente más a aquellos animales que tuvieron una respuesta inicial baja, (la misma

hipótesis ha sido sugerida en otras investigaciones: Saumande y Chupin, 1977 ; Lamberson y Lambeth, 1986) y a aquellos animales que tuvieron una respuesta media al tratamiento de superovulación (Critser y col., 1980) que a los animales que mostraron una respuesta inicial alta.

Estos resultados son acordes con los reportados por Lamberson y Lambeth (1986), es decir, la repetibilidad en la respuesta al tratamiento de superovulación para este grupo experimental se debe en mayor medida a aquellos animales con una baja respuesta que continuaron mostrando esta misma respuesta en los tratamientos siguientes. Hay sin embargo un gran porcentaje de animales que mostraron una respuesta inicial media y que tendieron a mostrar esta misma respuesta en los tratamientos siguientes.

Estos animales pudieron también influir en el valor de los coeficientes de correlación calculados.

Los resultados anteriores indican que un gran porcentaje de los animales tiende a responder al tratamiento de superovulación de una manera consistente, hay sin embargo otro gran porcentaje de animales a los cuales parece afectar de manera más obvia el tratamiento con FSH lo cual provoca que estos sufran fluctuaciones muy grandes en su respuesta en el número de EMN y TE entre los tratamientos. Al parecer aquellos animales que presentan una respuesta inicial alta son los más susceptibles a factores ambientales ya que la repetibilidad en estos animales es muy baja (r = no significativa) y sólo un porcentaje muy reducido de animales con respuestas altas en cuanto al número de EMN

continúa mostrando esta respuesta en los tratamientos posteriores. (VER GRAFICA No. 6).

El número de EMN y TE recolectados entre donadoras tuvo un rango de 0 a 26 y de 0 a 33 respectivamente. La gran variabilidad en las respuestas a la superovulación entre las donadoras es bien conocida.

Monniaux y col. (1983), indican que la gran variación en la respuesta ovárica al tratamiento de superovulación entre individuos se debe a diferencias en la población folicular de los ovarios en términos tanto de número como en etapa de desarrollo.

La gran variabilidad en la población de folículos entre animales en el ganado bovino se ha encontrado sin embargo tanto en animales estimulados como en no estimulados (Callesen y col., 1986). Monniaux y col. (1983), reportan que al estimular con PMSG animales de raza **Friesian**, la población folicular en cada animal no fue sobreestimada, y el número de folículos en crecimiento fue constante aun después del tratamiento de superovulación, lo cual indica que este número es probablemente una característica individual y sugiere también que el crecimiento folicular es diferente entre los animales. De acuerdo a los resultados por ellos reportados hay dos tipos diferentes de animales con pobre respuesta al tratamiento de superovulación.

El primer tipo incluye animales que tuvieron pocos folículos con crecimiento normal por ovario al tiempo de la estimulación. Estos animales siempre respondieron pobremente, por lo cual, la estructura folicular y la sensibilidad de estos animales tiene probablemente un origen genético.

El segundo tipo incluye animales que mostraron un gran número de folículos con crecimiento normal, pero una alta tasa de atresia, estos folículos tenían un gran diámetro al tiempo del tratamiento de superovulación, no podían ser ovulados y sólo presentaban luteinización. La investigación sugiere que tal vez el tratamiento hormonal (al menos para esas poblaciones de folículos), se administró en un momento no apropiado, es por ello que estos animales podrían ser susceptibles de mejorar su respuesta mediante un pre-tratamiento que suprima o reduzca la tasa de atresia al tiempo de la estimulación. Los resultados de la anterior investigación indican que aquellos animales que responden bien al tratamiento tienen más de 500 folículos al tiempo de la estimulación creciendo normalmente en cada ovario. Por lo tanto, la modificación del status ovárico al tiempo de la estimulación puede intentarse mediante la selección genética de estos animales.

Para llevar a cabo esta selección en individuos que no han sido previamente estimulados con gonadotropinas, se requiere de cualquier manera de indicadores de la respuesta ovárica de los animales. Los estimadores hormonales son al parecer muy útiles al respecto (Foote y Ellington, 1988).

De acuerdo a los resultados encontrados en la presente investigación, podemos dividir a la población en tres diferentes tipos principales de animales en cuanto a su respuesta diferencial a los tratamientos de superovulación repetidos.

El primer tipo está compuesto por animales que tuvieron una respuesta inicial baja y que continuaron mostrando esta misma respuesta durante los siguientes tratamientos de superovulación.

La recolección de un número tan pequeño de EMN y TE (menos de tres), hacen suponer que para estos animales la tasa de ovulación es muy pequeña, y que son poco sensibles al tratamiento con FSH-P.

El segundo tipo de animales incluye individuos que respondieron inicialmente al tratamiento de superovulación con una producción de EMN y TE considerada como media o buena, y que en los tratamientos siguientes continuaron mostrando esta misma respuesta.

El tercer tipo incluye animales que mostraron respuestas individuales muy variables en cuanto a la producción de EMN y TE, en cada tratamiento. En estos animales la estimulación con FSH parece influir más drásticamente sobre la respuesta en cuanto al número de EMN y TE, de manera que aunque tienen al parecer la capacidad de responder mejor al tratamiento, los factores externos modifican esta respuesta, provocando las fluctuaciones observadas en cada recolección. Esta capacidad de responder "mejor" indica también que la tasa de ovulación para estos animales podría ser mayor que para los animales del primer tipo. El status ovárico al tiempo del tratamiento de superovulación debe ser un factor muy importante en las respuestas de este tipo de individuos. (Monniaux y col., 1983).

Los resultados aquí encontrados indican que los índices de repetibilidad estimados se deben en gran medida a los animales del primer y segundo tipo. El índice de repetibilidad aquí calculado es además muy alto si lo comparamos con el reportado en investigaciones previas. (VER TABLA No. 12).

Los valores de repetibilidad estimados indican que las respuestas individuales pueden ser repetibles de una recolección a otra por lo menos durante las cuatro primeras recolecciones para el número TE y durante las tres primeras para el número de EMN. (TABLAS No. 8 y 9).

Los índices de repetibilidad calculados para los becerras del grupo 2 durante las cinco recolecciones, están fuertemente influenciados por el tipo de respuesta de los animales, ya que las respuestas individuales tan fluctuantes entre las recolecciones dentro de un mismo individuo determinaron que algunas de las correlaciones encontradas fueran negativas, o no significativas estadísticamente. (VER TABLAS No. 10 y 11)

TABLA NUMERO 12

VALORES DE REPETIBILIDAD OBTENIDOS EN OTROS ESTUDIOS						
FUENTE:	No. DE RECOL.	RESPUESTA EN:	UNIDADES EXPERIM.	REPETI-BILIDAD	N	HORMONA USADA
Critser y col., 1980	2	cuerpos lúteos	becerras holstein	0.33*	37	FSH-P
Seidel, 1981	3	gestaciones	varias razas: 1-14 años	0.01	32	FSH-P
Lamberson y Lambeth, 1986	3	T.E. E.M.N.	vacas Brangus 1-15 años	0.23 0.19	75 75	FSH-P FSH-P
Donaldson y Perry, 1983	10	E.M.N.	varias razas (13) edad variable	rango: 0.25- 0.35*	914- 41	FSH-P
Presente Estudio	5	T.E.	becerras Holstein 11-14 meses	rango: 0.36- 0.65	96- 20	FSH-P
	5	E.M.N.	de edad	0.25- 0.45^	96- 20	FSH-P

* valores estadísticamente significativos.
 ^ valores estadísticamente significativos hasta la tercera recolección $\alpha = 0.01$

CALIDAD Y ESTADIO EMBRIONARIO.

Las tablas número 13 y 14 muestran los resultados obtenidos en cuanto al número total de embriones; agrupados por calidad y estadio, durante las cinco recolecciones que comprendió este estudio.

Los resultados indican que hay una gran variabilidad en las respuestas de la población en cuanto a la calidad y estadio embrionario dentro de cada recolección, sin embargo entre recolecciones estos porcentajes son muy semejantes.

La variabilidad en las respuestas dentro de una recolección en animales superovulados ha sido bien establecida en algunas investigaciones. Estos estudios no han evaluado sin embargo si hay variabilidad en la calidad y el estadio embrionario entre tratamientos sucesivos en un mismo grupo de vacas. Los reportes existentes únicamente han investigado si el número de embriones transferibles tiene algún patrón de variación entre tratamientos de superovulación sucesivos. Dentro del término "embriones transferibles" están sin embargo incluidos embriones de diferente calidad y estadio, según el criterio de la investigación en cuestión.

Dado que la presencia de un gran número de embriones en el tracto reproductivo de las becerras (durante ± 7 días) no es un suceso de ocurrencia natural, en consecuencia el paso de los oocitos desde los ovarios hasta los oviductos, la fertilización y posterior desarrollo embrionario pueden ser afectados adversamente por el régimen de superovulación (Shea, 1981 ; Wilmut y col., 1986).

En diversos reportes (**VER TABLA No. 3**) se ha establecido que en aquellas recolecciones que se llevan a cabo entre los días 6.5 - 8 post-estro, los embriones recolectados muestran un amplio rango de variación en calidad y estadio.

Sin embargo, para que los embriones sean considerados transferibles deben estar comprendidos entre las etapas de mórula compacta y blastocisto en eclosión.

En el presente estudio, todas las recolecciones se llevaron a cabo entre los días 6.5 (10%), 7 (81%) y 7.5 (9%), después de que las donadoras presentaron estro. La tabla número 13 muestra que la mayoría de los embriones recolectados se encontraba en etapas de mórula y blastocisto, el porcentaje promedio de los embriones en estadio de mórula compacta, blastocisto temprano y blastocisto, para todas las recolecciones fue de 29%, 22% y 20% respectivamente. Por lo tanto alrededor del 71% del total de los embriones recolectados estaban en etapas de desarrollo embrionario adecuadas o normales con respecto al día de la recolección. (**FOTOGRAFÍAS 2 a 7**)

Por otro lado, los resultados del análisis de varianza para los estadios de desarrollo embrionario entre las recolecciones indica que el número de embriones clasificados por estadio embrionario no varía significativamente ($\alpha = 0.05$), por lo menos durante las cinco recolecciones que comprendió este estudio. Los resultados son un reflejo de la gran similitud observada entre los porcentajes de cada recolección. (**VER TABLA No. 14**)

TABLA NUMERO 13

EMBRIONES RECOLECTADOS (%)						
ESTADIOS EMBRIONARIOS	R E C O L E C C I O N					PROMEDIO
	1	2	3	4	5	
1: OVULOS	16	18	20	15	19	18
2: 2-16 CELULAS	10	7	9	6	6	8
3: MORULA TEMPRANA	2	2	1	1	2	2
4: MORULA COMPACTA	32	31	24	35	23	29
5: BLASTOCISTO TEMPRANO	18	20	25	23	22	22
6: BLASTOCISTO	19	18	18	20	26	20
7: BLASTOCISTO EXPANDIDO	2.5	0	3	0.5	2	2
8: BLASTOCISTO EN ECLOSION	0.3	0.5	0	0	0	0.2
No. TOTAL DE EMBRIONES	741	532	543	298	122	2236
N	96	96	83	45	20	

TABLA NUMERO 14

EMBRIONES RECOLECTADOS (%)						
CALIDAD EMBRIONARIA	R E C O L E C C I O N					PROMEDIO
	1	2	3	4	5	
1	15	13	11	12	12	13
2	42	42	48	51	48	46
3	6	7	3	7	7	6
4	37	38	38	30	33	36
% FERTILIZACION	0.84	0.82	0.80	0.85	0.84	0.83
No. TOTAL DE EMBRIONES	741	532	543	298	122	2236
N	96	96	83	45	20	

De la misma manera, la calidad de los embriones no vario significativamente de una recolección a la siguiente (TABLA No. 14), lo cual podría indicar que el número de EMN no debe diferir drásticamente de una recolección a otra.

Los resultados obtenidos con el análisis de varianza indican que la calidad, tanto de los embriones considerados morfológicamente normales (calidad 1, 2 y 3), como aquellos considerados como degenerados (calidad 4), no varia significativamente entre recolecciones ($\alpha = 0.05$). Una vez más estos resultados coinciden con el hecho de que los embriones agrupados por calidad muestran porcentajes muy similares entre las recolecciones (TABLA No. 14). El porcentaje de fertilización (calculado como: número total de embriones entre número total de estructuras x 100), fue muy similar de una recolección a la siguiente.

estructuras x 100), fue muy similar de una recolección a la siguiente.

En algunos reportes se ha estimado que la ovulación en vacas tratadas con gonadotropinas comienza aproximadamente 24 horas después de que se inicia el estro, y que alrededor de las 48 horas se lleva a cabo la primera división celular, cerca de las 72 horas post-estro el embrión tiene alrededor de 8 células, y entre los días 4-6 pasa por la etapa de 16 células hasta mórula temprana. De esta manera, cuando la recolección se lleva a cabo entre 6 y 8 días post-estro aquellos embriones que se encuentran en etapas de desarrollo previas, suponen problemas de índole variable (Betteridge y Fléchon, 1988), que pueden implicar que el embrión está muerto, que hubo un retraso en la ovulación, o que el desarrollo embrionario se retardo severamente (Shea, 1981).

En la presente investigación, el porcentaje promedio de óvulos para las cinco recolecciones fue de 18 %, y el porcentaje promedio de embriones en estadio de entre 2 células hasta mórula temprana fue de 8 %, de manera que de todas las estructuras encontradas y evaluadas morfológicamente sólo el 28 % fueron óvulos y embriones en etapas tempranas de desarrollo en relación al día de la recolección. La tasa de fertilización fue muy constante entre las recolecciones (TABLA No. 14), el porcentaje siempre fue mayor al 80 %. El promedio para las cinco recolecciones fue de 83 %. El porcentaje de fertilización reportado en otras investigaciones fluctúa entre 60 y 80 %. La proporción de embriones de excelente y buena calidad en estas investigaciones fue de alrededor del 80% en relación a los cigotos fertilizados.

Similares resultados se obtuvieron aquí, ya que la proporción de embriones de excelente calidad (calidad 1), y buena calidad (calidad 2), fue del 79 % con respecto al número total de embriones.

Es importante observar en estas tablas, que el porcentaje de embriones agrupados por calidad y estadio embrionario fue muy similar de una recolección a otra, a pesar de que el número de animales recolectados fue diferente a medida que aumentaron los tratamientos de superovulación.

Para analizar lo anterior definiremos a el número TE por recolección como una población de óvulos y de embriones: Por lo tanto tendríamos cinco poblaciones; una por recolección, estas cinco poblaciones serian entonces de tamaño diferente : 96, 96, 83, 45 y 20, respectivamente. Podemos entonces suponer que en cada población vamos a encontrar embriones de diferente edad y calidad embrionaria.

Una vez agrupados los embriones en diferente calidad y estadio embrionario , (TABLAS No. 13, 14), encontramos que hay entre las cinco poblaciones una gran similitud en el tipo de embriones encontrados, los porcentajes son casi idénticos sin importar el tamaño de la población.

Lo anterior parece implicar que dentro de cada población (dentro de cada recolección), hay un equilibrio más o menos constante en la proporción de embriones (agrupados por calidad y estadio) que se están produciendo, y el tratamiento de superovulación con FSH no parece tener un efecto muy significativo sobre estas características.

Si esto pudiera ser corroborado en investigaciones posteriores, podríamos entonces sospechar la existencia de límites de éxito en los porcentajes de EMN recolectados (estos determinarían a su vez los porcentajes de gestación), esos límites serían entonces el resultado de procesos de selección natural, al menos para la población aquí estudiada, y en las condiciones en que se llevo a cabo el experimento.

Los resultados obtenidos indican de cualquier manera que hay una constancia o repetibilidad en el porcentaje de embriones agrupados por calidad y etapa embrionaria entre recolecciones sucesivas para esta población de becerras. Estos resultados generales indican también que la proporción de EMN dentro de cada recolección con respecto al número TE no debe variar significativamente .

Algunos investigadores han considerado la utilidad de estimar si la elevación en el número de ovulaciones debida a la estimulación con gonadotropinas esta relacionada también con un número mayor de EMN (Donaldson, 1984), o incluso con el número de gestaciones (Seidel, 1981).

De acuerdo a los resultados encontrados aquí, hay al parecer una relación general en cuanto al porcentaje de embriones agrupados por calidad y estadio entre recolecciones sucesivas, de manera que al aumentar el número de TE recolectados (suponiendo que esta pueda ser una estimación de la tasa de ovulación), también aumenta el número de EMN, puesto que el porcentaje de embriones agrupados por calidad y estadio embrionario (que están directamente relacionados con el número de EMN) aumenta también proporcionalmente.

Los resultados de las respuestas individuales indican que hay una relación estrecha entre el número TE y el número de EMN producidos por cada animal, los coeficientes de correlación calculados fueron todos altamente significativos ($\alpha = 0.01$), lo cual quiere decir que la probabilidad de que se recolecte una determinada proporción de EMN en una recolección individual grande, es la misma que en una recolección pequeña, por lo cual, el fenómeno de sobrestimulación de los ovarios de las donadoras con FSH-P no redujo la proporción de EMN recolectados. (TABLA No.15)

TABLA NUMERO 15					
COEFICIENTES DE CORRELACION					
R E C O L E C C I O N					
	1	2	3	4	5
ANIMALES DEL GRUPO 1	0.75	0.69	0.81	0.67	0.78
N	96	96	83	45	20
ANIMALES DEL GRUPO 2	0.68	0.75	0.79	0.60	0.78
N	20	20	20	20	20
Todos los coeficientes de correlación calculados fueron altamente significativos: $\alpha = 0.01$.					

Resultados muy similares a los aquí encontrados han sido reportados por Donaldson (1984), en un estudio sobre la producción embrionaria realizado sobre 1263 vacas superovuladas

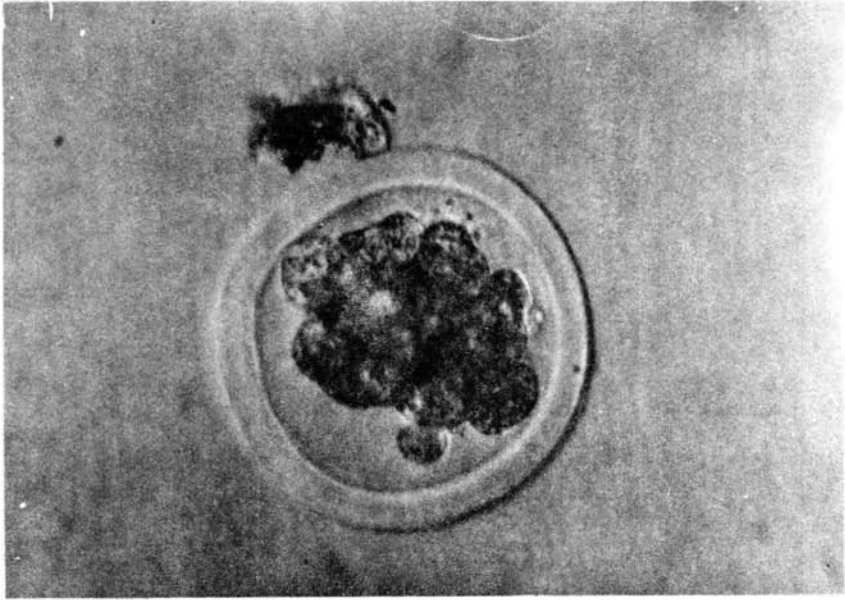
con FSH-P, reporta que el número de embriones transferibles por recolección estuvo altamente correlacionado con el número total de embriones y óvulos en una recolección ($r = 0.64$).

Donaldson indica de cualquier manera que estos coeficientes pudieron ser afectados por varios factores, tales como: El estado fisiológico del animal al tiempo del tratamiento, la respuesta individual, la edad de los animales, la raza, el número de tratamientos anteriores, el tipo de gonadotropina utilizada, etc.

En la presente investigación como se indico previamente, algunos de estos factores fueron controlados, de manera que la edad, raza, tipo de gonadotropina, ambiente de desarrollo, alimentación y número de tratamientos anteriores, no deben afectar o interferir drásticamente en los resultados obtenidos.

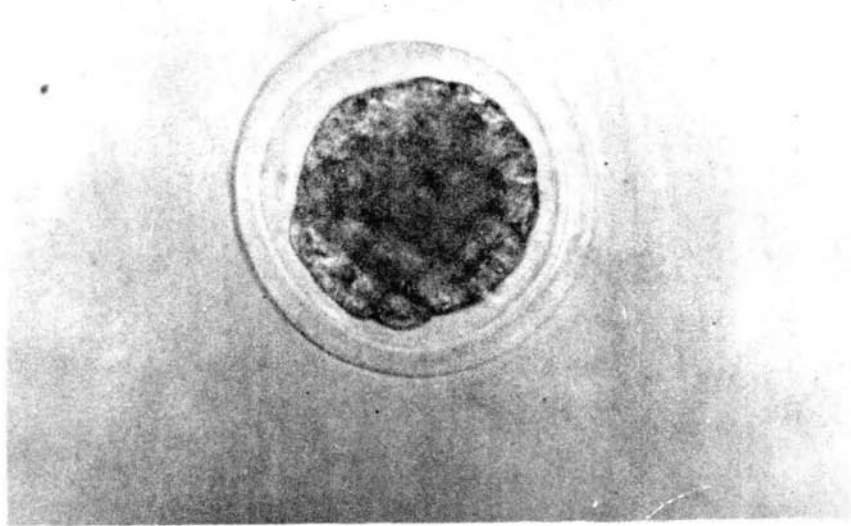
FOTOGRAFÍAS

FOTO No. 2



MORULA
TEMPRANA : embrión Malo o calidad cuatro

FOTO No. 3



BLASTOCISTO
TEMPRANO: Embrión excelente o calidad uno

FOTO No. 4

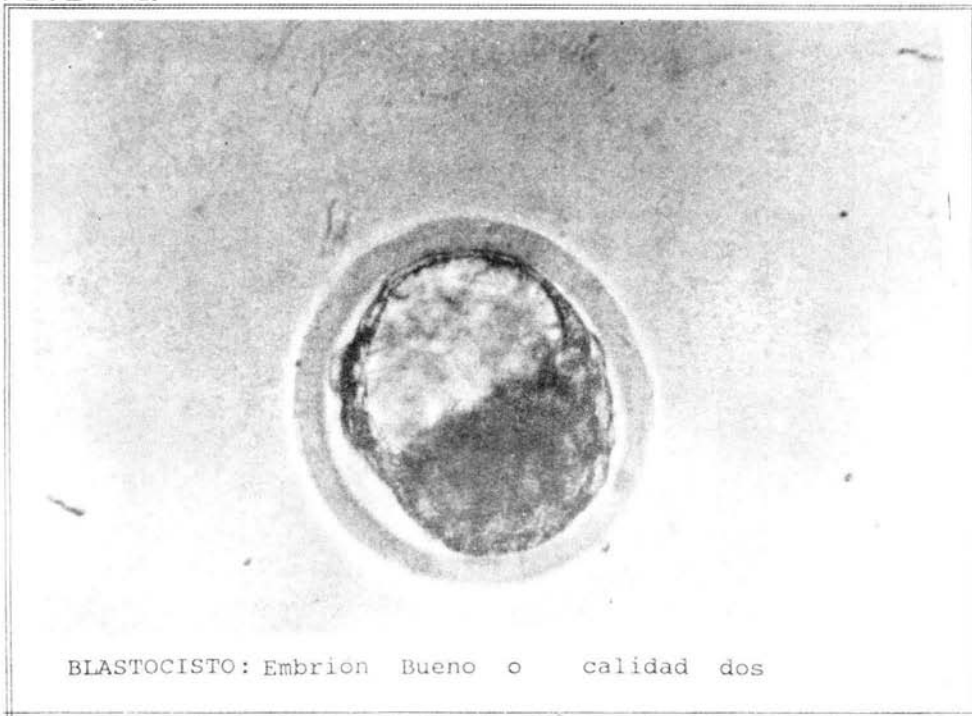


FOTO No. 5

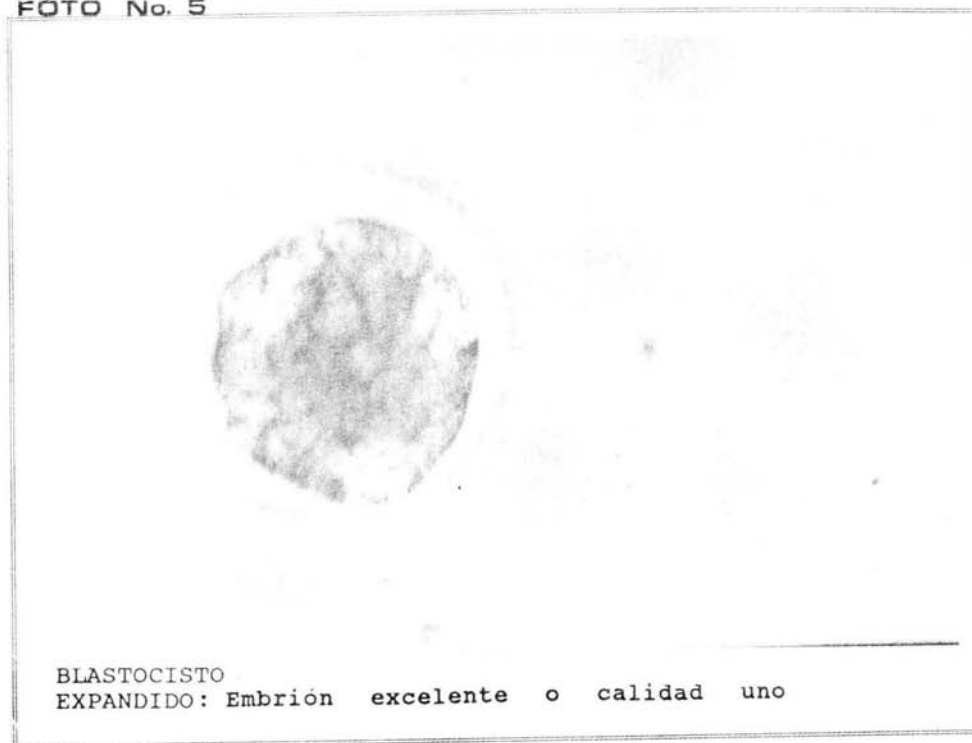


FOTO No. 6



BLASTOCISTO
EN ECLOSION: Bueno o calidad dos

FOTO No. 7



BLASTOCISTO
EXPANDIDO: Embriones calidad 1 o excelentes

DISCUSION GENERAL Y CONCLUSIONES.

El análisis general de los resultados nos lleva a las siguientes consideraciones :

En la población estudiada hay diferentes tipos de animales en lo que se refiere a su capacidad de respuesta al tratamiento de superovulación con FSH-P, estimada aquí como el número TE y EMN recolectados por donadora. Un gran porcentaje de animales son pobremente estimulados al ser tratados con FSH, estos animales producen menos de 3 EMN por recolección (animales del tipo 1).

Algunos animales muestran una respuesta más o menos uniforme cuando son tratados con FSH, de tal manera que producen un promedio de entre 4 y 9 EMN por recolección (animales del tipo 2). Otro gran porcentaje de animales comprende donadoras que responden de manera muy variable a los tratamientos repetidos de superovulación (animales del tipo 3). **VER GRAFICAS No. 5 y 6**

De esta manera, alrededor del 45 % de la población aquí estudiada (animales del tipo 1 y 2), tuvo un patrón de respuesta consistente durante los tratamientos repetidos de superovulación, el otro 55 % estaba constituido por animales que mostraron respuestas muy variables a dichos tratamientos.

Los animales del tipo 2 y 3 fueron superovulados un mayor número de ocasiones,(cinco recolecciones), pues un gran porcentaje de animales del tipo 1 salio del experimento después de la tercera recolección, el porcentaje de animales del tipo 3 se incremento a su vez después de dicha recolección, esto influyo de manera significativa en los resultados encontrados. De esta manera, los índices de repetibilidad calculados para las

recolecciones número 4 y 5 para la población general, no fueron significativos; probablemente debido a que la proporción de animales del tipo 3 en estas recolecciones era muy alta. De la misma manera los índices de repetibilidad así como las diferencias en el número promedio de EMN, y la calidad embrionaria en los animales del grupo 2 muestran diferencias en relación a los calculados para la población durante las tres primeras recolecciones.

Estos resultados indican que en la población estudiada, deben ser los animales que muestran un patrón regular en sus respuestas al tratamiento de superovulación, los que influyen en la constancia en el número promedio de TE y EMN, (GRAFICA No. 1), así como en la constancia en la calidad y etapa embrionaria entre las recolecciones, y son los que contribuyen al valor significativo encontrado en los índices de repetibilidad. Las variaciones observadas en las respuestas anteriores, se deben probablemente a la presencia de un gran porcentaje de animales que tienden a mostrar respuestas individuales muy variables al tratamiento repetido con FSH-P.

Este tipo de animales, que constituyen más de la mitad de la población (55 %), fueron al parecer más susceptibles al tratamiento de superovulación, ya que sus respuestas en cuanto al número de TE y EMN fueron altamente variables, y, por ello la repetibilidad en sus respuestas no es significativa (TABLAS No. 12 y 13).

Los porcentajes de EMN (embriones calidad 1, 2 y 3) recolectados durante cada tratamiento indican que cuando el número TE recolectadas aumenta, el número de EMN también se

incrementa, este comportamiento se observa tanto a nivel poblacional como individual. Los resultados anteriores indican entonces que el aumento en la tasa de ovulación (estimada aquí como el número total de estructuras recolectadas), lleva también a un aumento en el número de EMN, de manera que la probabilidad de recolectar una determinada proporción de EMN (tanto a nivel individual como general) en una gran recolección es la misma que en una pequeña recolección, por lo cual, el fenómeno de sobreestimulación de los ovarios de las donadoras no puede reducir la proporción de EMN recolectados, al menos para la población aquí estudiada. Resultados similares han sido reportados por Donaldson, (1984).

Diversas investigaciones indican que uno de los principales factores que limitan el desarrollo de la transferencia de embriones en el ganado bovino, es la gran variabilidad tanto dentro como entre animales en su respuesta al tratamiento de superovulación (Elsden y Seidel, 1982; Bruce y col., 1984; Monniaux y col., 1983; Bindon y col., 1986, etc.).

Los resultados obtenidos en el presente estudio, nos sugieren que es más bien la variabilidad en la respuesta dentro de los individuos la que limita de manera importante la seguridad de una producción de EMN predecible.

Como han sugerido previas investigaciones, los resultados obtenidos en la superovulación se deben tanto a factores ambientales como genéticos (Land y Hill, 1977; Bindon y col., 1986; Monniaux y col., 1983), algunos estudios han puesto de relieve la existencia de animales que responden pobremente a cualquier tratamiento de superovulación usado (Bruce y col.,

1984; Monniaux y col., 1983; Saumande y Chupin, 1977 ; Lamberson y Lambeth, 1986), se ha demostrado que hay animales que tienden a responder bien a los tratamientos de superovulación (Murphy y col., 1984; Monniaux y col., 1983 Critser y col., 1980), se a reportado también la existencia de animales que muestran una gran variabilidad en su respuesta al tratamiento con FSH-P (Saumande y Chupin, 1977; Lerner y col., 1986; Callesen y col., 1986; Monniaux y col., 1983).

En el presente estudio se pudo corroborar la existencia de los tres tipos de animales encontrados en estas investigaciones.

El tratamiento de superovulación puede causar cambios en los procesos foliculares, maduración y ovulación prematura de los oocitos, desviaciones en los perfiles hormonales, y otros cambios en el ambiente útero-ovárico de los animales (Callesen y col., 1986; Donaldson, 1985; Betteridge y Flechón, 1988), el conocimiento de la función ovárica y del desarrollo de los oocitos puede traer consigo un mejoramiento en cuanto a la reducción en la gran variabilidad en las respuestas de un mismo individuo. La gran variabilidad presente en las respuestas entre individuos puede entonces reducirse mediante la selección de aquellos fenotipos que responden de manera apropiada a los tratamientos de superovulación iniciales, a menos que futuras investigaciones demostraran que las respuestas tan variables de algunos individuos a los tratamientos de superovulación se deban completamente a dichos tratamientos sin que exista un componente genético.

Land y Hill (1977), sugieren que el uso de la superovulación y la transferencia de embriones en programas de mejoramiento

genético debe posibilitar el incremento en la eficiencia reproductiva mediante la selección de aquellos animales que responden al tratamiento de superovulación con un número adecuado de EMN. Esto a su vez facilitaría la aplicación de nuevas técnicas de mejoramiento genético, que están siendo actualmente aplicadas con éxito en países más desarrollados (Powell, 1981; Smith, 1988; Hodges, 1988).

Los resultados encontrados en el presente estudio sugieren que una gran proporción de las respuestas entre los individuos se debe a causas ambientales, pero también indican que hay causas genéticas que influyen sobre estas. Los índices de repetibilidad aquí calculados son altos (al menos para las tres primeras recolecciones, tanto para el número TE como de EMN recolectados por individuo), si se les compara con los calculados en otras investigaciones (VER TABLA NUMERO 12), estos índices de repetibilidad indican, para fines prácticos, que la respuesta inicial de una donadora en cuanto al número TE y de EMN puede ser usada con cierta confianza como un indicador de las respuestas futuras del mismo animal, sin embargo, la existencia en esta población de animales con respuestas altamente variables indica también que estos resultados deben tomarse con precaución y que sólo después de varios tratamientos repetidos de superovulación se puede predecir con mayor seguridad el comportamiento de las respuestas individuales, por ello, sólo después de que un individuo fue superovulado varias veces puede seleccionarse con confianza como pobre o buena donadora de embriones, Donaldson y Perry, (1983) sugieren que una donadora necesita ser superovulada dos o tal vez tres veces antes de ser descartada como pobre

donadora, esta sugerencia estaria directamente relacionada con los resultados aquí encontrados.

Hay de cualquier manera un gran número de variables que pueden influir sobre la respuesta de los individuos al tratamiento de superovulación, y que deben ser tomadas en cuenta, de esta manera, el tipo de hormona utilizada, la concentración, el grado de pureza de esta, el estado fisiológico de las donadoras al tiempo de la administración de la gonadotropina, el alimento, la época del año, el tipo de semen utilizado, el ambiente de desarrollo de los animales, etc., son factores ambientales que pudieron influir de un modo u otro sobre los resultados aquí obtenidos.

El número de variables que fueron tomadas en cuenta en esta investigación fue mayor que la reportada en otros estudios sobre el mismo tema (VER TABLA No. 12), a pesar de ello, un mayor número de variables deben ser controladas, una gran cantidad de investigaciones estan ahora evaluando los perfiles hormonales de la donadora al tiempo de la superovulación, así como probando hormonas de calidad y concentración diferente (Foote y Ellington, 1988), el desarrollo de estas nuevas estrategias debe sin duda llevar a la disminución en la variabilidad de las respuestas en un mismo individuo al tratamiento de superovulación.

Los resultados nos sugieren de cualquier manera que la aplicación de programas de selección genética debe contribuir al mejoramiento de los resultados obtenidos en la transferencia de embriones y con ello incrementar las posibilidades de su aplicación masiva a nivel nacional y comercial.

BIBLIOGRAFIA

BEARDEN, H.J. AND W.J. FUQUAY. REPRODUCCION ANIMAL APLICADA. EDITORIAL EL MANUAL MODERNO. MEXICO, D.F. (1982).

BETTERIDGE, K.J. AN HISTORICAL LOOK AT EMBRYO TRANSFER J. REPR. FERT. 62:1-13(1981).

BETTERIDGE, K.J. AND E.J. FLECHON. THE ANATOMY AND PHISIOLOGY OF PREATTACHMENT BOVINE EMBRYOS. THERIOGENOLOGY. 29:155-187(1988).

BRADFORD, G.E., J.F. QUIRKE, P. SITORUS, I.B. TIESNAMURTI, F.L. BELL, I.C. FLETCHER AND D.T. TORELL. REPRODUCTION IN JAVANESE SHEEP: EVIDENCE FOR A GENE WITH LARGE EFFECT ON OVULATION RATE AND LITTER SIZE. J. ANIM. SCI. 63:418-431(1986).

BIGGERS, B.G., D.B. GEISERT, R.P. WETTERMAN AND D.S. BUCHANAN. EFFECT OF HEAT STRESS ON EARLY EMBRIONIC DEVELOPMENT IN THE BEEF COW. J. ANIM. SCI. 1513-1518(1986).

BINDON, B.M., L.R. PIPER, L.P. CAHIL, M.A. DRIANCOURT AND T.O. TORELL. GENETIC AND HORMONAL FACTORS AFFECTING SUPEROVULATION. THERIOGENOLOGY 25:53-70(1986).

BRADFORD, G.E. GENETICS CONTROL OF OVULATION RATE AND EMBRYO SURVIVAL IN MICE. I RESPONSE TO SELECTION GENETICS. 61:905-921 (1969).

BRADFORD, G.E. GENETIC CONTROL OF OVULATION RATE AND EMBRYO SURVIVAL IN MICE I. RESPONSE TO SELECTION GENETICS. PRINCETON 62:905-921(1969).

CALLESEN, H., T. GREVE AND P. HYTTEL. PREOVULATORY ENDOCRINOLOGY AND OOCYTE MATURATION IN SUPEROVULATED CATTLE. THERIOGENOLOGY 25:-71-86(1986).

CANO, H.G. Y ESCAMILLA, G.I. SITUACION DE LA GANADERIA LECHERA EN MEXICO XVI CONGRESO NACIONAL DE BUIATRIA (MEMORIAS). VERACRUZ, MEXICO. pp. 369-379 ,1991.

CEMEGEN - LICONSA. MANUAL DE EVALUACION DE EMBRIONES DE BOVINO. DEPARTAMENTO DE BUSQUEDA Y EVALUACION DE EMBRIONES. TEPOTZOTLAN, ESTADO DE MEXICO. (1989).

COLE, H.H. AND P.T. CUPPS. REPRODUCTION IN DOMESTIC ANIMALS. THIRD EDITION. CAP. 22. PP. 577-604. ACADEMIC PRESS INC. (LONDON) LTD. NEW YORK (1977).

CRITSER, J.K., F.R. ROWE, R.M. DEL CAMPO AND J.O. GINTHER. EMBRYOTRANSFER IN CATTLE: FACTORS AFFECTING SUPEROVULATORY RESPONSE, NUMBER OF TRANSFERIBLE EMBRYOS, AND LENGTH OF POST-TREATMENT ESTROUS CYCLES. THERIOGENOLOGY 13:397-406 (1980).

DANIEL, W.W. BIOESTADISTICA. BASE PARA EL ANALISIS DE LAS CIENCIAS DE LA SALUD. GEORGIA STATE UNIVERSITY. EDITORIAL LIMUSA S.A. DE C.V. SEGUNDA REIMPRESION. MEXICO.(1989).

DONALDSON, E.L. LH AND FSH PROFILES AT SUPEROVULATION AND EMBRYO PRODUCTION IN THE COW. THERIOGENOLOGY 23:441-447 (1985).

DONALDSON, E.L. AND B. PERRY. EMBRYO PRODUCTION BY REPEATED SUPEROVULATION OF COMERCIAL DONOR COWS. THERIOGENOLOGY 20:163-168 (1983).

DONALDSON, E.L. EMBRYO PRODUCTION IN SUPEROVULATED COWS: TRANSFERABLE EMBRYOS CORRELATED WITH TOTAL EMBRYOS. THERIOGENOLOGY 21:517-524(1984).

DONALDSON, E.L. EMBRYO PRODUCTION IN CATTLE. EDITED FY LLOYD E. DONALDSON. SAN ANTONIO TEXAS. (1986).

ELSDEN, R.P., L.D. NELSON AND G.E. SEIDEL JR. EMBRYO TRANSFER AND INFERTILE COWS. THERIOGENOLOGY 9:17-26(1978).

ELSDEN, R.P. AND G.E. SEIDEL JR. PROCEDIMIENTOS PARA LA RECOLECCION, DIVISION, CONGELACION Y TRANSFERENCIA DE EMBRIONES DE BOVINO. LABORATORIO DE REPRODUCCION ANIMAL. COLORADO STATE UNIVERSITY. USA.(1982).

ECHTEMKAMP, S.E., K.E. GREGORY, G.E. DICKERSON, L.V. CUNDIFF, R.M. KOCH AND L.D. VAN VLECK. TWINNING IN CATTLE: II. GENETIC AND ENVIRONMENTAL EFFECTS ON OVULATION RATE IN PUBERAL HEIFERS AND POSPARTUM COWS AND THE EFFECTS OF OVULATION RATE ON EMBRYONIC SURVIVAL. J. ANIM. SCI. 68:1877-1888(1990).

FALCONER, D.S. INTRODUCCION A LA GENETICA CUANTITATIVA. COMPANIA EDITORIAL CONTINENTAL. S.A. MEXICO (1976).

FLECHON, J.E. V. GARNIER, Y. HEYMAN, P.Y. OZIL, A. PHILPPON, P.J. RENARD, R. SCANDOLO, C. SLAGMULDER AND N.L. THERON. BLASTOGRAFIE: DU DEVELOPPEMENT PRECOSE DE L' EMBRION BOVIN SUPEROVULE. ELEV. INS. 178:1-28(1980).

FOOTE, R.H., AND E.J. ELLINGTON. IS A SUPEROVULATED OOCYTE NORMAL. THERIOGENOLOGY 29:111-123(1988).

FOOTE, R.H. AND ONUMA. SUPEROVULATION, OVUM COLLECTION, CULTURE AND TRANSFER: A REVIEW. J. DARY SCI. 53:1681-1692 (1970).

FRAENKEL, O.H. AND M.E. SOULE. CONSERVATION AND EVOLUTION. CAMBRIDGE. UNIVERSITY PRESS., N.Y.(1981).

GREGORY, K.E., ECHTEMKAMP, S.E., DICKERSON, G.E. CUNDIFF, L.V. KOCH, R.M. AND L.D. VAN VLECK. TWINNING IN CATTLE I. FOUNDATION ANIMALS AND GENETIC AND ENVIRONMENTAL EFFECTS ON TWINNING RATE. J. ANIM. SCI. 68:1867-1876(1990).

GARCIA, F.J.T. ASPECTOS ECONOMICOS EN LA EXPLOTACION DEL GANADO BOVINO LECHERO (A NIVEL NACIONAL). TESIS PARAR OBTENER EL TITULO DE LICENCIADO EN ECONOMIA. I.P.N., MEXICO, D.F. (1976).

GOTO, K., Y. NAKANISHI, S. OHKUTSU, K. OGAWA, M. TASAKI, M. OHTA, S. INHOAE, S. TATEYAMA, AND T. KAWABATA. PLASMA PROGESTERONE PROFILES AND EMBRYO QUALITY IN SUPEROVULATED JAPANESE BLACK CATTLE. THERIOGENOLOGY 27:819-826(1987).

HAIN, J. THE VALUE OF LABORATORY ANIMALS MODELS IN EMBRYO TRANSFER RESEARCH. THERIOGENOLOGY 19:83-99(1983).

HASLER, J.F., D.A. McCAULEY, SCHERMERHORM AND R.H. FOOTE. SUPEROVULATORY RESPONSES IN HOLSTEIN COWS. THERIOGENOLOGY 19:83-99 (1983).

HODGES, J. GENETIC IMPROVEMENT OF LIVESTOCK IN DEVELOPPING COUNTRIES USING THE OPEN NUCLEUS BREEDING SISTEM. REG. WORKSHOP ON BIOTECHNOL. IN ANIM. PROD. AND HEALTH IN ASIA. THAILAND 17-21(1988).

ITO, M.,H. OGISHIMA, I. NOIRI, A. ASHIKAWA, M. OUCHI, A. NOGUCHI, A. MIYAHARA AND Y. OSAWA. EFFECT OF GENETICS FACTORS ON SUPEROVULATION EFTER TREATMENT WITH PMSG ANG HCG IN C\257 1AN B246 1AND CF21 1MICE AND THEIR HIBRIDIS. NICHIDAS IGAKU ZASSHI. 6:683-689(1977).

JAINUDEEN, M.R., E.S.E. HAFEZ, P.D. GOLLNICK AND L.A. MOUSTAFA. ANTIGONADOTROPHINS IN THE SERUM OF COWS FOLLOWING REPEATED THERAPEUTIC PREGNANT MARE SERUM INJECTIONS. AMER. J. VET. RES. 27: 699(1966).

LAMBERSON, W.R. AND V.A. LAMBETH. REPEATABILITY OF RESPONSE TO SUPEROVULATION IN BRANGUS COW. THERIOGENOLOGY. 26:643-649(1986).

LAND, R.B. AND W.G. HILL. THE POSSIBLE USE OF SUPEROVULATION AND EMBRYO TRANSFER IN CATTLE TO INCREASE RESPONSE TO SELECTION. ANIM. PROD. 21:1-12(1975).

LAND, R.B., AND D.S. FALCONER. GENETIC STUDIES OF OVULATION RATE IN THE MOUSE. GENETIC RES.(CAMB.). 13:25(1969).

LASTER, D.B. OVULATION, FERTILITY AND PRENATAL MORTALITY IN HEIFERS TREATED WITH PMSG OR PORCINE FSH. J.REPR. FERT. 33:275-282 (1973).

LERNER, S.P , W.V. THAYNE, R.D. BAKER, T. HENSCHEN, S. MEREDITH, E.K. INSKEEP, R.A. DAILEY, P.E. LEWIS AND R.L. BUTCHER. AGE, DOSE OF FSH AND OTHER FACTORS AFFECTING SUPEROVULATION IN HOLSTEIN COWS. J. ANIM. SCI. 63:176-183(1986).

LINARES, T. STUDIES ON THE EARLY EMBRION DEVELOPMENT IN REPEAT BREED AND VIRGIN HEIFERS. THESIS FROM THE DEPARTMENT OF OBSTETRIC AND GYNAECOLOGY FACULTY OF VETERINARY SWEDEN(1981).

LINDNER, G.M. AND WRIGHT JR. BOVINE EMBRYO MORPHOLOGY AND EVALUATION. THERIOGENOLOGY. 20:407-416(1983).

LUBBADEH, W.F., C.N. GRAVES AND S.L. SPARH. EFFECT OF REPEATED SUPEROVULATION ON OVULATORY RESPONSE OF DAIRY COWS. J. ANIM. SCI. 50:124-127(1980).

LINARES, T. AND W.A. KING. MORPHOLOGICAL STUDY OF THE BOVINE BLASTOCYST WITH FASE CONTRAST MICROSCOPY. THERIOGENOLOGY. 14:123-133(1980).

McDANIEL, B.T. AND B.G. CASSELL. EFFECTS OF EMBRYO TRANSFER ON GENETIC CHANGE IN DAIRY CATTLE. J. DAIRY SCI. 64:2484-2492(1981).

MAPLETOFT, J.R. THE TECHNOLOGY OF EMBRYO TRANSFER IN : INTERNATIONAL EMRYO MOVEMENT SYMPOSIUM. USA PP. 3-39(1987).

McGOWAN, M.R., W.H. JOHNSON, R.J. MAPLETOFT AND W.JOCHLE, SUPEROVULATION OF BEEF HEIFERS WITH PERGONAL HMG): A DOSE RESPONSE TRIAL. THERIOGENOLOGY. 24:173-184(1985).

MONNIAUX, D., D. CHUPIN AND J. SAUMANDE. SUPEROVULATORY RESPONSE TO CATTLE.THERIOGENOLOGY. 19:5-81(1983).

MURPHY, B.D. J. RAUBEN, J. MANNS AND W.D. HUMPREY. VARIABILITY IN GONADOTROPIN PREPARATIONS AS A FACTOR IN THE SUPEROVULATORY RESPONSE. THERIOGENOLOGY 21:117-127(1980).

ONUMA, H., J. HAHN, R.R. MAURER AND H. FOOTE. REPEATED SUPEROVULATION IN CALVES. J. ANIM. SCI. 28:634(1969).

PAWLYNSHY, V., C.E. LINDSELL, M. BRAITHWAITC AND R.J. MAPLETOFT. SUPEROVULATION OF BEEF COWS WITH FSH-P: A DOSE RESPONSE TRIAL. THERIOGENOLOGY. 25:179(1986).

POWELL, R.L. SYMPOSIUM: GENETIC IMPACT OF EMBRYO TRANSFER: POSSIBLE EFFECTS OF EMBRYO TRANSFER ON EVALUATION OF COWS AND BULLS. J. DAIRY SCI.. 64:2477-2483(1981).

RANDAL, J. LA PROCREACION DE LA VACA PERFECTA. ICYT., CONACYT. 4:8-13(1982).

ROWSON, L.E.A., R.M. MOOR AND R.A.S. LAWSON. FERTILITY FOLLOWING EGG TRANSFER IN THE COW: EFFECT OF METHOD, MEDIUM AND SYNCRONIZATION OF OESTRUS. J. REPR. FERT. 18:517-523(1969).

ROMAN, P.H. POTENCIAL DE PRODUCCION DE LOS BOVINOS EN EL TROPICO DE MEXICO. CIENCIA VETERINARIA. 3:394-406(1981).

SAUMANDE, J. D. CHUPIN. SUPEROVULATION : A LIMIT TO EGG TRANSFER IN CATTLE. THERIOGENOLOGY. 7:141-149(1977).

SANCHEZ, D. A. TECNIFICACION DE LA GANADERIA MEXICANA. ED. LIMUSA. MEXICO, D.F. PRIMERA EDICION.(1984).

- SARH. ,I.N.I.A.R.A. TRANSPLANTE DE EMBRIONES. MEXICO GANADERO. ABRIL-MAYO. 1:32-33(1980).
- SCREENAN, J.M. AND D. BEEHAN. METHODS OF INDUCTION OF SUPEROVULATION IN THE COW AND TRANSFER RESULTS. IN : EGG TRANSFER IN CATTLE. ED. L.E.A., ROWSON. COMISSION OF THE EUROPEAN COMMUNITIES, LUXEMBOURG, EUR. 5491. P. 19-34(1976).
- SEIDEL, G.E. JR. SUPEROVULATION AND EMBRYO TRANSFER IN CATTLE. SCIENCE. 211:351-358(1981).
- SHEA, B.E. EVALUATING THE BOVINE EMBRYO. THERIOGENOLOGY. 15:31-35(1981).
- SMITH, C. APPLICATIONS OF EMBRYO TRANSFER IN ANIMAL BREEDING. THERIOGENOLOGY. 29:203-212(1988).
- SCHIEWE, M.C., P.M. SCHIMIDT, D.E. WILDT AND W.F. RALL. QUALITY CONTROL MEASURES IN A EMBRYO RESEARCH PROGRAM. THERIOGENOLOGY. 33:9-22(1988).
- TURMAN, E.J. AND R.P. WETTERMANN. FOLLICULAR GROWTH AND SUPEROVULATION IN BEFF COWS FOLLOWING REPEATED TREATMENTS WITH PMSG. J. ANIM. SCI. 479 SUPL.1:396(1978).
- WARWICK, E.J. Y J.E. LEGATES. CRIA Y MEJORA DEL GANADO. 3 2a. 1EDICION. ED. MCGRAW HILL DE MEXICO, S.A. DE C.V.(1980).
- WILLET, E.L., P.J. BUCKNER AND W.H. McHAN. REFRACTORINESS OF COWS REPEATEDLY SUPEROVULATED WITH GONADOTROPHINS. J. DAIRY SCI. 36:1083(1953).
- WILMUT, I., D.I. SALES AND C.J. ASHWORTH. MATERNAL AND EMBRYONIC FACTORS ASSOCIATED WITH PRENATAL LOSS IN MAMMALS. J. REPR. FERT. 76:851-864(1986).
- ZARCO, L. ALGUNOS FACTORES QUE AFECTAN LOS RESULTADOS DE LA SUPEROVULACION EN EL BOVINO. DEPARTAMENTO DE REPRODUCCION ANIMAL. FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA. UNAM. MEXICO, D.F.(1989).

A B R E V I A T U R A S.

- ASB.....ALBUMINA SERICA BOVINA.
EMN.....EMBRIONES MORFOLOGICAMENTE NORMALES.
FSH.....HORMONA FOLICULO ESTIMULANTE.
HMG.....GONADOTROPINA MENOPAUSICA HUMANA.
LH.....HORMONA LUTEOTROPICA.
lt.....LITRO.
mg.....MILIGRAMOS.
ml.....MILILITROS.
mm.....MILIMETROS.
PBS.....SOLUCION AMORTIGUADORA DE FOSFATOS.
PMSG.....GONADOTROPINA DEL SUERO DE LA YEGUA
PREÑADA.
r.....COEFICIENTE DE CORRELACION.
(INDICE DE REPETIBILIDAD).
S.....DESVIACION ESTANDAR.
SFB.....SUERO FETAL BOVINO.
TE.....NUMERO TOTAL DE ESTRUCTURAS (NUMERO -
TOTAL DE EMBRIONES MAS OVULOS).
UI UNIDADES INTERNACIONALES.
 μ m.....MICROMETROS.
 \bar{X}MEDIA ARITMETICA.