

1067



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO E INVESTIGACION
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

IMPLEMENTACION DE UN PROGRAMA DE
TRANSFERENCIA DE EMBRIONES HOLSTEIN-CERU
CRIOPRESERVADOS, SEXADOS Y FERTILIZADOS
IN VITRO CON PRODUCTORES DEL TROPICO HUMEDO

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN PRODUCCION: REPRODUCCION
PRESENTADA POR:
FELIPE MONTIEL PALACIOS



DIRECTOR DE TESIS
DR. CARLOS GALINA HIDALGO

México, D. F.

1986

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

DEDICATORIA:

A Dios Todopoderoso, quien me ha permitido llegar hasta este momento de mi vida.

A mis padres:

Felipe Montiel Camarero

Ignacia Palacios de Montiel

Con todo mi amor y admiración, por el gran apoyo, cariño y confianza que me han dado durante toda mi vida de estudiante, y gracias a ellos fue posible la culminación de mis estudios.

A mis Hermanos:

Fredy Montiel Palacios

Miriam E. Montiel Palacios

A Maribel Flores con todo cariño y respeto.

A todos mis seres queridos, quienes forman parte de mi vida cotidiana.

AGRADECIMIENTOS:

Son varias las instituciones y personas que me apoyaron en la realización de mis estudios de Maestría. el orden no implica jerarquía, solamente una forma de expresar mi agradecimiento.

Al gobierno de México, a través del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el otorgamiento de la beca.

A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, donde la División de Estudios de Posgrado e Investigación me orientaron y brindaron su amistad en todo momento.

Al Departamento de Reproducción y Obstetricia por la enseñanza, así como el tiempo y orientaciones por parte del personal académico y secretarial.

Al Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Ganadería Tropical, por las facilidades otorgadas para la realización de la fase experimental.

A los Productores por la confianza y oportunidad de realizar la investigación con sus animales.

Al Ph.D. Carlos Galina Hidalgo, mi agradecimiento, admiración y respeto, quien me brindo su confianza y valiosos consejos transmitidos para la realización del presente estudio.

Al Dr. Jorge Avila García, quien me brindó sus consejos y amplia experiencia profesional para realizar este trabajo.

A la M.Sc. Ivette Rubio Gutiérrez y al MPA. Manuel Corro Morales quienes me brindaron su valiosa ayuda en todo momento durante la realización de este trabajo.

Al MVZ. Manuel Martínez, quien me brindo su amistad y ayuda incondicional durante la realización del estudio con los productores.

A la PMVZ. Laura E. Martínez Alvarez, quien me brindo su ayuda y amistad.

A la Sra. Angela Jimenéz y a su apreciable familia Lopéz Jimenéz, quienes me brindaron su sincera amistad y confianza durante mi estancia en esta ciudad.

A todos, muchas gracias.

CONTENIDO

	<u>Página</u>
INDICE DE CUADROS.....	v
INDICE DE FIGURAS.....	vi
RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	3
REVISION DE LITERATURA.....	7
Manejo de las receptoras en la transferencia de embriones.....	7
Sincronización del estro utilizando progestágenos.....	8
Factores que modifican la respuesta a los tratamientos con progestágenos.....	10
Nutrición, suplementación y evaluación a través de la condición corporal.....	12
Transferencia de embriones.....	16
Principios básicos de la criopreservación de embriones.....	19
Sexado de embriones	22
Fertilización in vitro de embriones.....	25
Hipótesis.....	28
Objetivos.....	28
MATERIAL Y METODOS.....	30
Localización.....	30
Animales experimentales CEIEGT.....	30
Animales experimentales Productores.....	31
Características de los Productores.....	32
Criterio de selección de los animales experimentales.....	34
Diseño experimental.....	35
Detección de calores posterior al retiro del implante de Norgestomet.....	36

Clasificación de acuerdo a la suplementación.....	37
Farmacos.....	38
Transferencia de embriones.....	39
Método de descongelación de los embriones.....	40
Método no quirúrgico para transferir los embriones.....	41
Detección de calores post-transferencia de embriones.....	43
Diagnóstico de gestación.....	43
Parámetros evaluados.....	43
Análisis estadístico.....	44
RESULTADOS.....	45
DISCUSION.....	52
LITERATURA CITADA.....	69

INDICE DE CUADROS

Cuadro	Pagina
1. Número de receptoras transferidas sobre el día 7, 8 y 9 y tipo de celo ya sea natural o sincronizado con respecto al número de gestaciones logradas.....	82
2. Número de receptoras transferidas sobre el día 7, 8 y 9 y el número de gestaciones logradas con respecto al tipo de celo ya sea de tipo natural o sincronizado.....	83
3a. Número de receptoras transferidas de acuerdo a sus diferentes condiciones corporales y tipo de celo en relación al número de gestaciones obtenidas.....	84
3b. Resultado de las transferencias de embriones en las receptoras transferidas de acuerdo a sus diferentes condiciones corporales independientemente del tipo de celo manifestado.....	84
4. Número de receptoras transferidas, gestantes en relación a la condición corporal y el promedio de gestación del CEIEGT y los productores participantes.....	85
5. Relación entre el número de receptoras transferidas de acuerdo a la raza y tipo de celo con respecto al número de gestaciones logradas.....	86
6. Relación entre el número de receptoras del CEIEGT con respecto al tipo de celo y suplementación de acuerdo al número de gestaciones obtenidas	86
7. Relación entre el número de receptoras de los productores con respecto al tipo de celo y suplementación de acuerdo al número de gestaciones obtenidas.....	87
8. Número y porcentaje de gestaciones obtenidas en relación a la calidad embrionaria y número de embriones transferidos, independientemente	

del día de transferencia.....	87
9. Número de receptoras transferidas, gestantes y la relación/promedio del sexo de las crías en base al número de gestaciones logradas en el CEIEGT y los productores.....	88

INDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1. Descripción del destino de las receptoras para el grupo celo natural las cuales fueron previamente sincronizadas.....	89
2. Descripción del destino de las receptoras seleccionadas para el grupo celo sincronizado.....	90
3. Descripción de 3er. lote seleccionado de receptoras previamente sincronizadas del ható élite para ser incluidas al grupo de celo natural.	91
4. Descripción del destino de las receptoras seleccionadas para formar el grupo celo natural de los productores, las cuales fueron previamente sincronizadas para manifestar celo sincronizado.....	92
5. Descripción del destino de las receptoras seleccionadas para formar el grupo celo sincronizado de los productores.....	93
6. Respuesta a celo sincronizado en grupo I (CEIEGT).....	94
7. Respuesta a celo sincronizado grupo II (CEIEGT).....	95
8. Respuesta a celo natural posterior al sincronizado grupo I (CEIEGT).	96
9. Respuestas de un 3er. grupo de posibles receptoras en celo natural del CEIEGT.....	97
10. Respuesta a celo sincronizado grupo III (Productores).....	98
11. Respuesta a celo sincronizado grupo IV (Productores).....	99

MONTIEL PALACIOS FELIPE. IMPLEMENTACION DE UN PROGRAMA DE TRANSFERENCIA DE EMBRIONES HOLSTEIN CEBU CRIOPRESERVADOS, SEXADOS Y FERTILIZADOS *IN VITRO* CON PRODUCTORES DEL TROPICO HUMEDO (Bajo la dirección del Dr. Carlos Galina Hidalgo).

RESUMEN.

Se evaluó la factibilidad de la implementación de un programa de transferencia de embriones Holstein-Cebú criopreservados y fertilizados *in vitro* con productores del trópico húmedo, así como la detección del surgimiento de dificultades que pudieran ser detectadas durante el experimento. El diseño original fué que 100 embriones (48% sexados) fueran transferidos a 100 hembras de tipo cebuino, que fueron sincronizadas con implantes de Norgestomet (Synchromate B), donde se utilizó al 50% de las mismas hasta que manifestaran conducta de celo natural y divididas en 4 grupos de 25 vacas cada uno, bajo 2 diferentes condiciones de manejo, esto es, las del Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Ganadería Tropical (CEIEGT) y con Productores adscritos al programa de transferencia de tecnología (PT) por parte de dicho centro. Los resultados obtenidos para los diferentes grupos fueron: Grupo I Celos Naturales (CEIEGT), solo el 60% (n=15) fueron detectadas en estro durante las 72 hr posteriores al tratamiento de sincronización y durante la fase de celo natural mostraron celo el 26% (n=4) y 20% (n=3) no se detectó en calor, pero a la palpación rectal se les detectó un C.L. En 18 vacas (72%) de este grupo no presentaron signos de estro natural ni la formación de un C.L. y el porcentaje de posibles vacas para ser transferidas se redujo al 28% del total de este grupo, resultando un 0% de gestaciones. Grupo II Celos Sincronizados (CEIEGT), solo fueron detectadas en estro 16 hembras y el porcentaje de posibles vacas para ser transferidas después de haber sido seleccionadas se redujo al 56% del total en este grupo, siendo el 11% de gestación dentro del grupo. Debido a los problemas de respuesta a la sincronización fueron seleccionadas otras 50 posibles receptoras de un hato de 230 hembras que habían sido previamente sincronizadas para la manifestación de celo natural, de las cuales el 70% (n=35) presentaron

calor y un C.L. y por consiguiente se les transfirió un embrión, donde el porcentaje de animales gestantes fue del 20%. Grupo III Celo Natural (PT), fueron sincronizadas un total de 70 posibles receptoras para que al final de la sincronización solo fueran incluidas 27 receptoras al programa de transferencia de embriones, encontrando solo el 19% de gestaciones. Grupo IV Celo Sincronizado (PT), se sincronizaron un total de 33 posibles receptoras para que solo fueran transferidas con embriones 20 receptoras y solo resultaran gestantes el 60% de las receptoras. La fertilidad global irrespectivamente del grupo en que se encontraban fue de 25.8% (25/97). Las receptoras incluidas dentro de los grupos para presentar celo sincronizado tuvieron una mayor tasa de gestación en relación a las que manifestaron celo natural, 37.1% vs 19.4% respectivamente ($P < 0.05$). De igual forma existió una alta correlación con respecto a la tasa de gestación y la condición corporal. Se obtuvo una relación muy cercana a 1:1 del sexo de las crías machos con respecto a las hembras (56% vs 44% respectivamente), y dentro de las receptoras gestantes se encontró al final de la gestación un 90% de exactitud de aquellos embriones sexados (9/10).

INTRODUCCION

Las zonas tropicales y subtropicales de México representan la mejor alternativa para afrontar los requerimientos alimenticios de la población, algunos estudios indican que aproximadamente el 50% del total de las vacas en producción láctea se encuentran en las zonas tropicales, sin embargo éstas sólo son capaces de aportar un 25% de la producción de leche, debido a que han seguido manejando sistemas tradicionales en los que la producción de leche se considera todavía como finalidad secundaria a la cría de becerros para la engorda (Rodríguez, 1976; De la Fuente, 1982).

Por otro lado, en las regiones correspondientes al clima tropical húmedo, se presentan una serie de situaciones socioculturales, económicas, topográficas y climáticas, que han hecho difícil la adaptación y desarrollo de las razas de bovinos de razas europeas (*Bos taurus*) especializadas en la producción de leche bajo los sistemas tradicionales de manejo (González-Stagnaro, 1984).

Dentro del contexto de la producción animal, los bovinos ocupan un lugar preponderante, lo que depende en gran medida, de una actividad reproductiva normal (Rivera *et al.*, 1989). No obstante, la mayoría de los investigadores coinciden al afirmar que la baja productividad en los bovinos constituye un problema grave prácticamente en todos los países con clima tropical (Boyd, 1977; Ames y Ray, 1983; García *et al.*, 1985; González-Stagnaro, 1986).

En América Latina se han realizado trabajos de selección de bovinos criollos, a fin de mejorar su capacidad de producción de leche (De Alba, 1978). Sin embargo, las producciones han sido inferiores a las de razas especializadas, como la Holstein, pero con mejor eficiencia reproductiva; además, conforme avanza la selección, los requerimientos se van volviendo más exigentes, llegando incluso a niveles de manejo y alimentación con los cuales se podrían tener animales especializados de mayor producción (Morales *et al.*, 1983; Román-Ponce *et al.*, 1983; González-Stagnaro, 1984). Aunado a ello, existen informes de que el ganado criollo y el Cebú (*Bos indicus*), aún cuando presentan excelente adaptación

fisiológica a las condiciones ambientales del trópico, su eficiencia productiva y reproductiva siguen siendo bajas (Escobar *et al.*, 1984; De Dios *et al.*, 1987).

Por otro lado, como respuesta a la demanda de incrementar la producción pecuaria de las zonas tropicales, comúnmente se ha recurrido a la introducción de bovinos especializados en la producción de leche, provenientes de zonas templadas (Castillo, 1972; Hernández *et al.*, 1982). El resultado ha sido una alta mortalidad tanto en adultos como en terneros y una mala eficiencia reproductiva, con rendimientos muy bajos para ser rentables (Wilkins *et al.*, 1979; Morales *et al.*, 1981; Morales *et al.*, 1983); todo ello a consecuencia de la inadaptabilidad de esas razas a las difíciles condiciones del medio, con una capacidad de pastoreo muy baja y una constante pérdida de peso, por lo que los rendimientos son menores que los registrados en sus zonas de origen (González-Stagnaro, 1984; Koppel *et al.*, 1984). Por lo tanto, se ha descartado su crianza en forma pura, y en lugar de esto, se está utilizando en mayor proporción la inseminación artificial con semen de razas lecheras para lograr un ganado mestizo adecuado al sistema de doble propósito (Menéndez *et al.*, 1975; Katpatal, 1977; González-Stagnaro, 1984; Bondoc *et al.*, 1989). Esto es, que el cruzamiento de las razas especializadas en la producción láctea con las razas nativas en el trópico, condicionado al mismo tiempo a un mejoramiento de las condiciones de alojamiento, nutrición, sanidad y manejo, han proporcionado un incremento en la producción y en la eficiencia reproductiva de los animales resultantes (Buvanendran y Mahadevan, 1975; Katpatal, 1977; Román-Ponce *et al.*, 1978).

Para mejorar la expresión del potencial productivo y reproductivo del ganado de las zonas tropicales, se ha recurrido al cruzamiento de *Bos taurus/Bos indicus*. No obstante los resultados en eficiencia reproductiva han sido variables. Al respecto, Martínez (1979) en un estudio con vacas Holstein puras y de la cruce F₁ (Holstein/Cebú) mantenidas en clima tropical, no encontró diferencias en la presentación del primer estro posparto, siendo los valores de 27±2.91 y 25.8±2.06 días respectivamente. En otro estudio, Deresz *et al.* (1987) trabajando con el mismo tipo de vacas (Holstein/Cebú) bajo condiciones similares, encontró que los días abiertos variaron entre 48.7 y 74.6 días dependiendo del peso corporal de las vacas. Así, en otro trabajo realizado bajo condiciones tropicales, Escobar *et al.* (1984)

compararon ganado Cebú, Criollo y F₁ (Holstein/Cebú) con diferentes sistemas de crianza del becerro, encontrando que las vacas Cebú aún sin la cría al pie tuvieron un mayor número de días abiertos (118±43.9 días) que las vacas Criollas y F₁, 79.6±32.8 y 106.7±32.8 días respectivamente. Bajo similares condiciones climáticas, Fallas (1987) realizó un estudio donde comparó el comportamiento reproductivo de vacas Holstein/Cebú bajo diferentes tipos de pasto y sistemas de crianza de becerros y encontró que las vacas F₁ tenían un menor número de días abiertos aunque estuvieron en pastos nativos y sin cría al pie. Al respecto, Corro (1992) observó que las vacas F₁ producen una mayor cantidad de leche que las vacas ¾ Holstein ¼ Cebú. Estos datos indican, que aún cuando las vacas del genotipo ¾ Holstein tienen un mayor potencial genético para la producción láctea, éste no se manifiesta.

La diferencia entre ambos genotipos es debida al efecto del vigor híbrido que existe en la vaca F₁; aunque en la vaca ¾ Holstein ¼ Cebú tiene un mayor potencial productivo, los efectos ambientales no le permiten su expresión (McDowell, 1972; Galina y Arthur, 1989b), en base a lo anterior, se puede especular que la alimentación que han recibido es insuficiente y por lo tanto las ganacias de peso son menores. En este sentido, Cunningham (1989) menciona que el mejoramiento (vigor ó heterosis) que se observa en la capacidad productiva de la primera cruce entre las razas *Bos taurus/Bos indicus* es notoria en cuanto a la resistencia de enfermedades y adaptabilidad al medio ambiente. La producción láctea se eleva casi en un 100% y reproductivamente hay una reducción del 14% en la edad al primer parto y de 6% en el interparto con respecto a los parámetros de la raza Cebú. No obstante, después de la primera generación se reduce la heterosis, por lo que se pierde la ventaja productiva derivada del vigor híbrido y sólo se mantiene la ventaja asociada a la introducción del genotipo lácteo (Lemka *et al.*, 1972; Salazar y Huertas, 1976; Letenneur, 1978).

Por tales circunstancias, en las zonas tropicales se ha trabajado en la formación de nuevos tipos de bovinos en la búsqueda de mejores índices de desarrollo en la recría, mejor eficiencia productiva y reproductiva y mayor rusticidad (González-Stagnaro, 1984). Una opción es la introducción de programas de transferencia de embriones entre ganado europeo (*Bos taurus*) y ganado Brahman (*Bos indicus*) e inclusive forma parte de muchos programas

de cruzamientos en países con un clima cálido (Fehilly y Willadsen, 1985). Por otro lado, recientemente la maduración *in vitro* y la fertilización de ovocitos, técnicas que se han desarrollado con bastante éxito recientemente (Cunningham, 1989, Gordon y Lu, 1990, Xu *et al.*, 1992) han hecho posible tener disponibles bancos de embriones a un precio reducido para la transferencia comercial; la explotación de estas técnicas ya ha empezado, con el propósito de incrementar la calidad genética y tamaño del ternero obtenido al destete por gemelaridad o transferencia en las explotaciones lecheras de baja producción utilizando embriones obtenidos de cruzamientos con razas cárnicas. Los embriones se han sexado mediante métodos citológicos, esto implica un análisis cromosómico de las células en metafase que se muestrean en el embrión utilizando una técnica de división embrionaria; sin embargo, los procesos de biopsias y determinación del cariotipo son complicadas y llevan bastante tiempo (Mapletoft, 1987).

El uso de embriones sexados de tipo F_1 podría facilitar un programa de producción láctea en el trópico sin necesidad de producir un animal de tipo $\frac{3}{4}$, cuyas características son impredecibles, además de permitir lograr animales resistentes al medio y que superen la capacidad productiva y reproductiva de los bovinos de la zona tropical. De esta manera se planteó éste estudio para evaluar la factibilidad de la implementación de un programa de transferencia de embriones con productores del trópico húmedo y embriones del tipo F_1 , así como la detección del surgimiento de dificultades que pudieran ser detectadas durante el experimento.

REVISION DE LITERATURA

MANEJO DE LAS RECEPTORAS EN LA TRANSFERENCIA DE EMBRIONES.

Mahon y Rawle (1987) y Broadbent *et al.* (1991) mencionan que dada la disponibilidad de un embrión de buena calidad y la destreza de un profesional hábil, la receptora conforma el componente principal para determinar el éxito de la transferencia de embriones. Las receptoras pueden ser evaluadas por diversos criterios antes de que se realice la transferencia de embriones y así juzgar la conveniencia para que pueda ser eliminada. Inicialmente, la consideración de un animal para su inclusión en la población de receptoras, es cubrir las siguientes criterios de evaluación como son, genotipo, edad, número de partos, estado fisiológico, condición corporal, historia reproductiva y de salud, causas por las cuales pueden ser eliminadas (Mahon y Rawle, 1987). De esta forma, el número de una población de receptoras sometidas a dicha evaluación y que pueden ser calificadas como aptas al momento de la evaluación del estado de salud general y del aparato reproductor, y habiendo cubierto estos requisitos, pueden ser evaluadas sobre su habilidad para expresar signos de estro, como consecuencia de un celo ya sea sincronizado o natural, dentro del marco o estructura deseada. Dentro del contexto de éste criterio se puede esperar la expresión de signos de estro pero permanecer sin ser detectado. Finalmente, el punto de evaluación de la transferencia de embriones es la formación de un cuerpo lúteo (C.L.) adecuado. La aparente ausencia del C.L. puede significar que la receptora estuvo en estro, pero no ovuló, la ovulación ocurrió pero el C.L. fracasó en su formación ó el C.L. se formó pero no fue detectado. Sin embargo, las receptoras que califican en todas estas categorías pueden ser presentadas para ser transferidas (Broadbent *et al.*, 1991).

La eliminación de receptoras y el gasto que causa la receptora que no quedó gestante fué estimado en Inglaterra en base al costo de la receptora, el manejo, alimentación, alojamiento y costo de los fármacos. Se encontró que el mayor costo por gestación ocurre debido a los cambios en la proporción de aquellas receptoras sincronizadas y que son detectadas en estro, la proporción de éstas observadas en estro que son usadas para ser

transferidas y las empleadas en la transferencia y que quedan gestantes. Por el contrario, el hecho de incrementar el porcentaje de un 85 al 90% de hembras detectadas en estro posterior a la sincronización reduce un 6% del costo para producir una gestación. Así mismo se reduce en un 7% cuando existe un cambio del 80 al 90% en la proporción de hembras detectadas en estro.

Actualmente, aquellos cambios en la eficiencia incluidos en el contexto del manejo de las receptoras son desconocidos en la industria de la transferencia de embriones, aunque es conocido que si existen pequeños incrementos en los factores que involucran el manejo de las receptoras, esto se traduce en una disminución en el costo por gestación. Además, existe un punto donde la receptora puede tener un efecto sobre el técnico y subsecuente eficiencia de la industria de la transferencia de embriones y que existen diversidad de factores que contribuyen para ésta eficiencia (Broadbent *et al.*, 1991).

SINCRONIZACION DEL ESTRO UTILIZANDO PROGESTAGENOS.

Ireland y Roche (1982) indican que la progesterona y los progestágenos sintéticos suprimen el estro y la ovulación, actuando a través de un mecanismo de retroalimentación negativa sobre la liberación de la hormona luteinizante (LH), por lo mismo probablemente se reduce la frecuencia de los pulsos de esta hormona, y se impide que algún folículo complete su desarrollo y ovule. Al retirar el fármaco, los folículos de todas aquellas vacas tratadas completarán su desarrollo al mismo tiempo, lo que provoca el estro sincronizado (Britt y Roche, 1985).

Se han utilizado muchos progestágenos sintéticos para sincronizar celos, que se han aplicado por diferentes vías. Inicialmente las sustancias progestacionales, se aplicaban en inyecciones diarias, haciendo poco práctico el sistema (Wiltbank, 1969). Más tarde, Christian y Casida (1980) demostraron que las inyecciones de progesterona prolongaban la fase del diestro por tanto tiempo como fueran aplicadas. Después que las inyecciones eran finalizadas, las hembras entraban en calor y ovulaban con una sincronía razonable. Con el

posterior descubrimiento de progestágenos activos por vía oral (Lamond, 1964), se hizo posible por primera vez su administración en el alimento. La mayor desventaja de esta vía es la de no tener un control preciso del consumo de la dosis diaria para cada animal tratado, lo que ocasionaba respuestas variables en la sincronización (Kesler y Troxel, 1983; Peters, 1986).

Con el transcurso del tiempo, se ha estado evolucionando en las formas de aplicación, hasta los hallazgos hechos por Dziuk y Cook (1966) quienes demostraron que hormonas esteroidales colocadas en un dispositivo de silicón en forma de implante, se liberaban de manera constante y uniforme por períodos de varios días.

En bovinos productores de carne, uno de los progestágenos más populares es el Norgestomet, impregnado en un implante siliconado de aplicación auricular vía subcutánea acompañado de una inyección de valerato de estradiol (Synchromate B). Este producto se ha empleado sobre todo para la sincronización de estros, así como para la inducción del estro en hembras anéstricas. En este caso, cabe mencionar que tal vez la principal ventaja de los sistemas basados en progestágenos sintéticos, es que al aplicarlo en hembras anéstricas y después de ser retirado, se favorece la liberación de gonadotropinas y los animales comienzan a ciclar (Smith *et al.*, 1983). Este efecto inductor de la actividad ovárica se ha probado tanto en vaquillas prepúberes, como en vacas en anestro lactacional (González-Padilla *et al.*, 1975; Smith *et al.*, 1979).

En el primer caso, al emplearse el progestágeno en un tratamiento inductor de la pubertad en vaquillas prepúberes, se han obtenido porcentajes de hembras en calor de 79% al 94% en períodos de 4 días de observación después de retirado el implante, con porcentajes de gestación de 43 a 56% (González-Padilla *et al.*, 1975). Además, se demostró que es posible utilizar este tratamiento para inducir el estro fértil en vaquillas prepúberes. Dichos autores señalan que el tratamiento es particularmente práctico en vaquillas menos precoces, como en el caso de algunos tipos de razas cebuinas.

González-Padilla *et al.* (1975) señalan que la segunda posibilidad de uso de estos tratamientos con progestágenos es como inductores de la actividad ovárica en grupos de hembras posparto, las cuales probablemente se encuentran en anestro. En una investigación

se estudió el efecto de un tratamiento con Synchronate B en vaquillas y vacas con actividad ovárica o en anestro; el estro se detectó en mayor proporción en animales que se encontraban ciclando al inicio del tratamiento (88%), que en aquellos que no lo estaban (77%). La fertilidad de las vaquillas en un periodo de cinco días fue similar si se encontraban ciclando (42%) o en anestro (47%), evento que no sucedió en el grupo de las vacas, donde los animales que estaban en anestro tuvieron una tasa de gestación de 38%, menor al de aquellas vacas que se encontraban ciclando (Beal *et al.*, 1984). Por tal razón, dichos autores señalan que la condición de la vaca antes del tratamiento (ciclando o en anestro) pudiera limitar la efectividad del progestágeno.

Aunque casi todas las hembras responden manifestando estro después de remover el implante, las expectativas en cuanto a la fertilidad son moderadas, sobre todo en hembras que al inicio del tratamiento se encuentren en anestro y lactando. Lo anterior está corroborado en una amplia revisión sobre el tema y en condiciones de trópico, donde se estima que el porcentaje de concepción a primer servicio es mayor (48%) en hembras que al momento de la sincronización se encontraban sin lactar, comparado con aquellas que si lo estaban (32%) (Galina y Arthur, 1990). En otro estudio, utilizando los progestágenos, fue posible demostrar que este tratamiento es capaz de inducir estros, pero la fertilidad se ve seriamente disminuída cuando la hembra se encuentra lactando y con baja condición corporal. Así mismo, Wishart *et al.* (1977) señalan que la condición corporal de la vaca al recibir el tratamiento es un factor que determina la respuesta de la hembras al fármaco sincronizador.

FACTORES QUE MODIFICAN LA RESPUESTA A LOS TRATAMIENTOS CON PROGESTAGENOS.

En la literatura, se señalan diversos factores para tratar de explicar la variación en los resultados en programas para inducir y sincronizar el estro con progestágenos, tales como:

a) *Duración de la aplicación del fármaco sincronizador.* Los tratamientos cortos con progestágenos resultan en un incremento de la fertilidad en comparación con los tratamientos de larga duración, aunque la precisión en la sincronización mejore en estos últimos resultados (Roche, 1974; Sreenan, 1977).

b) *Etapa del ciclo estral.* Se conoce que el tiempo de respuesta al tratamiento sincronizador no varía entre hembras sincronizadas con progestágenos en distintas etapas del ciclo estral. En cambio, el porcentaje de hembras en estro depende del estado del ciclo estral, de tal manera que la respuesta es más efectiva al aplicarse el fármaco en las hembras que se encuentran a la mitad de la fase lútea (Spitzer *et al.*, 1978).

c) *Estado fisiológico.* Beal *et al.* (1984) señalan la importancia del estado ovárico en respuesta a tratamientos sincronizadores en base a progestágenos (SMB). En su estudio donde evaluaron el efecto entre vaquillas y vacas con actividad ovárica o en anestro, el estro fue detectado en mayor proporción en animales que se encontraban ciclando al inicio del tratamiento (88%) comparado con aquellas que no lo estaban (77%). La fertilidad de las vaquillas fue similar si se encontraban ciclando (42%) o en anestro (47%), cosa que no sucedió en el grupo de vacas donde los animales que se encontraban en anestro tuvieron una tasa de gestación de 38% menor al de las vacas que se encontraban ciclando.

d) *Condición Corporal.* Wishart *et al.* (1977) estudiaron el efecto de la nutrición, peso y condición corporal sobre la fertilidad de vaquillas tratadas con Norgestomet y valerato de estradiol, encontrándose una mayor proporción de hembras gestantes cuando recibieron una suplementación energética para obtener un incremento de peso durante doce semanas. Esta suplementación se inició seis semanas antes del tratamiento.

e) *Edad de las hembras.* Beal *et al.* (1984) al comparar la respuesta de vacas y vaquillas sincronizadas con Norgestomet, no encontraron variaciones significativas para el porcentaje de hembras en estro o en el tiempo de manifestación del mismo (9.4 h más pronto en vaquillas que en vacas). En relación con la fertilidad, Peters (1986) señala que la misma es 20% mayor en vaquillas que en vacas previamente sincronizadas. Al respecto, González *et al.* (1986) evaluaron la tasa de gestación posterior a la transferencia de embriones no

quirúrgica, sincronizando con SMB y observaron un 69.5% y un 100% de vacas y vaquillas en estro respectivamente. Sin embargo, la fertilidad fué del 39 y 18% respectivamente.

f) *Efecto de la época y año.* Heersche *et al.* (1979) encontraron variaciones entre años en el número de vaquillas sincronizadas con Norgestomet que mostraban estro (89 al 95%), a pesar de que los programas se realizaron en las mismas explotaciones y época del año. Richars *et al.* (1988) encontraron que al realizar programas de sincronización en la primavera éstos resultaron mejores que los realizados en el otoño (84 y 64% respectivamente). Esto, además fué corroborado por Broadbent *et al.* (1991) quienes explican que las condiciones ambientales son de gran importancia y que éstas pueden afectar la conducta de los animales y a su vez la habilidad para identificar a las vacas en estro.

g) *Tipo Racial.* La fertilidad lograda con el uso de progestágenos para el control del estro, suele ser menor en ganado *Bos indicus* que en *Bos taurus*. Galina *et al.* (1987) indican que en general la sincronización del estro en bovinos, bajo condiciones del trópico, resulta en una fertilidad del 15% menor que la de los grupos testigos, y que ésta se deprime más cuando la sincronización se realiza en hembras en pobre condición corporal, en épocas desfavorables del año o en ambas circunstancias.

h) *Efecto de la explotación o rancho.* Se presentan amplias variaciones en la fertilidad de las hembras sincronizadas en diferentes explotaciones. Tales variaciones se atribuyen a las condiciones particulares de manejo que existen entre ranchos (Wishart *et al.*, 1977).

NUTRICION, SUPLEMENTACION Y EVALUACION A TRAVES DE LA CONDICION CORPORAL.

La nutrición es el factor clave en el manejo de las receptoras y afecta todos los aspectos de la reproducción (Broadbent *et al.*, 1991), así como también las adecuadas reservas corporales (Patton *et al.*, 1988). Todos los elementos que constituyen los nutrientes, como son energía, proteína, minerales, vitaminas y agua, por ende sus relaciones

son importantes. Un inadecuado balance que fluctue en términos de menor a intermedio de estos elementos puede ser tolerado por las vacas, puesto que su adaptación a los cambios en cantidad y calidad de nutrientes que ocurren con las diferentes épocas del año, establecen el almacenamiento de energía, proteína y algunos minerales en verano y subsecuente utilización de estos recursos en el invierno. Tales deficiencias pueden afectar la fertilidad (Broadbent *et al.*, 1991).

El suministro de energía y la condición corporal actual son los mayores factores que gobiernan el éxito reproductivo en las receptoras. La condición corporal durante la etapa reproductiva y parto, además de los cambios en la condición corporal entre el parto y la época reproductiva, reflejan el suministro de energía existente en relación a la demanda. Este efecto importante ha sido observado sobre el intervalo entre el parto y primer estro, tasa de concepción y porcentaje de partos (Somerville *et al.*, 1979; Lowman, 1985, Wright *et al.*, 1987; Patton *et al.*, 1988). Las receptoras que están delgadas al parto y durante la época reproductiva son menos factibles de ser observadas en estro, ovular o concebir, a menos que su condición corporal sea mejorada rápidamente, en comparación con aquellas en condición corporal de moderada a buena (Leaver, 1977; Lowman, 1985). Un objetivo general puede ser el tener una condición corporal de 2.5 al parto y 2.0 al momento de la transferencia de embriones (Lowman, 1985). Los animales abajo de estas condiciones corporales pueden ser alimentadas para mejorar la condición corporal sobre el período de transferencia con el objeto de poder incrementar la tasa de gestación (Leaver, 1977). Las receptoras que estan bajo estas condiciones corporales pueden permanecer estáticas o mejorarán ligeramente, mientras que aquellas de buena condición a gordas pueden perder algun punto dentro de su condición corporal para evitar los efectos del estrés calórico sobre el establecimiento de la gestación (Ducker *et al.*, 1985; Biggers *et al.*, 1987; Broadbent *et al.*, 1987). Existe evidencia de que, el nivel de alimentación debe continuarse hasta que la implantación del embrión se realice, así mismo, se ha visto que durante su desarrollo presenta mayor susceptibilidad hacia el estrés inducido nutricionalmente al inicio y durante la etapa de implantación (Lowman, 1985), que es cerca del día 21 al 45 de gestación (Hunter, 1980). Así mismo, Patton *et al.* (1988) señalan que las vacas con excesivas reservas de grasa estan

propensas a tener dificultades al parto, legado graso, problemas reproductivos al posparto y ocasionalmente algunas pueden llegar hasta morir. Esta condición es conocida como el “síndrome de la vaca gorda”, problema que puede ser observado también en vaquillas, las que manifiestan dificultades para quedar gestantes, así como desórdenes en el desarrollo de la glándula mamaria, resultando así en una vida reproductiva pobre. Sin embargo, esta condición es poco probable que se presente en vacas mantenidas únicamente en condiciones de pastoreo.

En algunas regiones donde la ganadería depende exclusivamente de los pastos nativos o mejorados como única fuente de nutrientes, los animales frecuentemente son incapaces de cubrir sus necesidades alimenticias durante algunas épocas del año, observándose bajos consumos de energía por el alto contenido de fibra en los forrajes, bajos insumos de proteína y deficiencias de minerales y/o vitaminas (García y Montemayor, 1987). Estos mismos autores señalan que algunas veces el ganado continúa en la misma condición deteriorada aún cuando el suministro de alimento es abundante.

Edmonson *et al.* (1989) señalan que la estimación de la condición corporal (Body Condition Score, BCS), es un método subjetivo de evaluar la cantidad de energía metabolizable almacenada como grasa y músculo en un animal vivo. Inicialmente el método se desarrolló para ovejas, involucrando palpación de los huesos dorsales y procesos lumbares, sintiendo la agudeza y recubrimiento de los huesos, siendo la escala de 0 a 5 puntos, donde 0 puntos los obtiene un animal emaciado y 5 puntos un animal gordo (Russell *et al.*, 1969). Así mismo, Lowman *et al.* (1973) utilizaron en ganado de carne valores de 0 a 5 puntos, con valores intermedios en aquellos animales que no se ajustaron entre dos valores, quedando la escala con 11 puntos. Más tarde, Pullan (1978) describió un método para evaluar la condición corporal en ganado *Bos indicus* incluyendo una escala que va de 1, como un animal emaciado, al 5 con suficientes reservas de grasa y músculos. Sin embargo, puesto que en algunas ocasiones no es posible palpar la piel y costillas del ganado, debido a la dificultad en sujeción o a que el temperamento del mismo ganado no lo permite, en países como Australia y Nueva Zelanda se utiliza solo la inspección visual del ganado.

La escala para la evaluación de la condición corporal descrita por Patton *et al* (1988) establece los siguientes puntos:

Condición 1. Area del anca: cavidad profunda en la inserción de la cola. sin tejido graso palpable entre la piel y las puntas de los huesos. los huesos pélvicos son fácilmente palpables, la piel es flexible.

Area del lomo: las apófisis de las vertebrae lumbares son fácilmente palpables, la parte alta del lomo está bien marcada y presenta una depresión profunda.

Condición 2. Area del anca: cavidad poco profunda, con algo de tejido graso en la inserción de la cola, los huesos pélvicos son palpables.

Area del lomo: las apófisis de las vertebrae lumbares se sienten redondeadas, la parte alta se siente con una ligera presión y hay visible depresión del lomo.

Condición 3. Area del anca: no es visible la cavidad en la inserción de la cola, el tejido graso es fácilmente palpable en toda el anca, la piel aparece lisa, los huesos pélvicos se sienten haciendo una ligera presión.

Area del lomo: las apófisis de las vertebrae lumbares se sienten haciendo presión en ellas, hay una gruesa capa de tejido en las puntas y se aprecia solamente una ligera depresión del lomo.

Condición 4. Area del anca: la capa de tejido graso es visible en la inserción de la cola, hay también marcas notorias de tejido graso, las cuales estan presentes en las puntas de los huesos. La estructura pélvica se siente solamente haciendo en ella una presión fuerte.

Area del lomo: las apófisis de las vertebrae lumbares no se sienten ni aún haciendo presión fuerte en ellas, no hay depresión visible en el lomo entre la cadera y la cruz.

Condición 5. Area del anca: la inserción de la cola es abundante de tejido graso, la piel esta distendida y los huesos pélvicos no pueden ser sentidos ni aún haciendo presión firme en ellos.

Area del lomo: hay capas de tejido graso en las puntas de las apófisis transversas y las estructuras óseas no pueden ser palpadas.

Aunque existen pocas escalas logísticas para la evaluación de la condición corporal de bovinos en el trópico, aún las condiciones de raza y alimentación son extremadamente diferentes a las contempladas en las escalas existentes. No obstante, investigaciones preliminares han señalado que una condición corporal excesiva (4.0 puntos o más) o inadecuada (menor de 2.0 puntos) al momento del parto reduce los índices de fertilidad subsecuentes. Además la pérdida de un punto en condición corporal después del parto también reduce significativamente la fertilidad en vacas que tenían buena condición corporal previo a este evento (Gaines, 1989) afectándose así el estado de salud general del animal (Ferguson, 1991).

De esta forma, las vacas que mantienen buena condición corporal después del parto presentan mayor función hipofisaria y mejor potencial reproductivo, que se traduce en un rápido retorno al estro posparto que las vacas que paren con pobre condición corporal (Rutter y Randel, 1984).

TRANSFERENCIA DE EMBRIONES.

La transferencia de embriones (TE) comercial en ganado comenzó en Norte América durante los inicios de los 70's en gran parte por la disponibilidad de $PGF_{2\alpha}$ y además por los altos precios y demandas de diversas razas exóticas de ganado productor de carne (Hasler, 1992). Durante estos años dentro de la industria de la TE, la recuperación de los embriones era realizada a través de cirugía vía medioventral; en la donadora mediante anestesia general facilitaba la cirugía, pero esta no fué ampliamente utilizada en la industria del ganado productor de leche, porque la ubre dificultaba el acceso ventromedial para el tracto reproductivo (Hasler, 1992). Además, en algunas ocasiones la formación de adherencias seguidas de la cirugía, conducía a la pérdida ó daño de la fertilidad (Elsden, 1977).

La contribución potencial de la TE para continuar con el mejoramiento de programas reproductivos ha sido destacado en ganado productor de carne y leche (Land, 1975; Nicholas y Smith, 1983), y esto ha hecho que venga a ser una herramienta de gran valor

adquirida para la reproducción animal después de la inseminación artificial (Lohuis, 1995). Por otro lado, la técnica de TE ha despertado un interés substancial en las regiones tropicales en América Latina (Galina, 1994).

Los conceptos actuales de tecnología relacionados con maduración de ovocitos, fertilización *in vitro*, micromanipulación de embriones, criopreservación y almacenaje de embriones y subsecuente transferencia ofrecen el potencial para el progreso notable en los sistemas de producción animal (Thatcher *et al.*, 1985). En el ganado, la mayor limitante para el próspero desarrollo y aplicación de estas ventajas en tecnología reproductiva es la alta incidencia de fracasos reproductivos tanto como en un 40% (Hawk, 1979). La TE es usualmente realizada aproximadamente 7 días después del estro cuando los embriones están en etapa de blastocistos y no han salido de la zona pelúcida. De este modo la TE por sí misma puede reducir marcadamente las pérdidas asociadas con los fracasos reproductivos (13%. Hawk, 1979). La siguiente causa fisiológica para que la gestación tenga éxito es la alta tasa de muerte embrionaria (Ayalon, 1978) que ocurre durante el período de alargamiento del embrión.

La TE ha tenido un impacto considerable sobre los programas de reproducción en países desarrollados desde los años 70's, esta influencia ha sido principalmente dentro del sector de razas puras con el objeto de aumentar el potencial reproductivo de hembras superiores y donde el alto valor comercial de sus crías ha justificado el gasto involucrado (McGuirk, 1989). Sin embargo, existe escasa información para estimar las actividades realizadas en bovinos en relación a la TE y se estiman que sean relativamente bajas (Wrathall, 1995).

Con el desarrollo del método de recolección de embriones no quirúrgico, existe la posibilidad de la dispersión de esta tecnología dentro de países desarrollados. Una de las principales razones para el uso de la TE es el mejoramiento genético y se pueden superar algunas formas de infertilidad que pueden surgir a consecuencia de fallas de fertilización debido a altas temperaturas (Boland y Gordon, 1989). Este proceso puede ser usado para establecer bancos de embriones congelados y permitir la importación de los mismos y por lo tanto la introducción y transferencia de material genético nuevo.

Sin embargo, en la práctica la TE en ganado, donde el embrión es seleccionado sobre un criterio normal de morfología, uno puede esperar obtener una alta tasa de gestación en las receptoras (Heyman, 1985). Un resumen de la literatura muestra que las tasas de parto después de la TE varía del 40 a 70% dependiendo de las condiciones de manejo de las receptoras, calidad embrionaria y método de transferencia. El regreso tardío a estro sugiere que alguna pérdida embrionaria ha ocurrido después de la transferencia (Heyman, 1985). Markeste *et al.* (1980) entre otros han encontrado que el 14% de ciclos estrales después de la transferencia quirúrgica tuvieron una longitud anormal. En la transferencia no quirúrgica el 28% de las receptoras mostraron un retraso en el retorno a estro entre el día 25 y 60 (Heyman, 1983). Las pérdidas embrionarias después de la TE han sido calculadas por diversos autores, el 28% entre el día 35 y 60 (Christie *et al.*, 1980, Curtis *et al.*, 1981), el 25% entre el día 45 y 90 (Jillella y Baker, 1978, Tervit *et al.*, 1980), el 29% entre el día 21 y 60 (Renard *et al.*, 1980). Además, existe poca información de métodos precisos para evaluar los compuestos específicos producidos por el embrión y de este modo tener un mayor conocimiento en relación al seguimiento de la viabilidad del desarrollo del embrión durante las primeras tres semanas de vida en ganado bovino (Heyman, 1985).

En la transferencia de embriones directamente dentro del lumen del cuerno uterino expuesto por vía quirúrgica a través del flanco puede resultar en una mayor tasa de sobrevivencia embrionaria. Las tasas de gestación alcanzadas mediante esta técnica se encuentran en un rango que varía del 46 al 87% (Sreenan, 1982). Un reporte de Takeda *et al.* (1986) registró una tasa de gestación del 79% mediante esta técnica con 710 embriones con una calidad embrionaria excelente y buena (1 y 2).

Mientras que las tasas de gestación seguidas de las transferencias no quirúrgicas son generalmente bajas y menos consistentes comparadas con las transferencias quirúrgicas en el flanco de la vaca. No obstante éste procedimiento rápido y relativamente barato, es el método de mayor elección en gran parte de los programas de TE en explotaciones comerciales. La evolución más reciente en relación a la TE, es el almacenar embriones en pajillas, que permite su transferencia directa después del descongelamiento (Leibo, 1982, Renard *et al.*, 1982, Leibo, 1986) haciendo este método cada vez más atractivo.

Uno de los principales factores que ejercen una influencia directa sobre la efectividad de la TE no quirúrgica, probablemente es la destreza y experiencia del profesional en esta área. No obstante, la destreza del profesional determina el sitio de la colocación del embrión dentro del cuerno uterino, sino también el grado de lesión implicado durante la transferencia (Sreenan y Diskin, 1987). En una revisión acerca de este tema realizada por Seidel (1980), quien sugiere que los factores tales como la expulsión de los embriones transferidos, o la introducción de microorganismos parece ser un problema menor y concluye que las diferencias entre los profesionales para transferir los embriones son el punto medular de mayor impacto. La tasa de gestación seguida de transferencia no quirúrgica con embriones de 6 a 9 días registrada por Seidel (1980) fué del 26 al 67%. Al respecto, Wenkoff (1986) involucrando una investigación amplia de condiciones similares de transferencia no quirúrgica (n = 2754) registró un rango del 20 al 67% en la tasa de gestación. En otros estudios, resultados similares han sido presentados a través de una revisión de tasas de gestación en ganado bovino presentada por Greeve y Del Campo (1986) en el cual se indica un rango del 35 al 67%.

PRINCIPIOS BASICOS DE LA CRIOPRESERVACION DE EMBRIONES.

Otro método que ha alcanzado un alto nivel de eficacia es la criopreservación de embriones, lo cual permite preservar un embrión por períodos indefinidos de tiempo. Para lograr avances, la Criobiología ha sido una ciencia muy importante para determinar las causas de lesiones de la congelación y poder diseñar métodos para prevenir tales daños, así como también la capacidad de criopreservar embriones capaces de completar su desarrollo normal (Leibo y Loskutoff, 1993).

Usando métodos desarrollados primero en embriones de ratones, Wilmut y Rowson (1973) reportaron la primera gestación bovina de un embrión congelado y descongelado exactamente hace 23 años. Desde entonces, más de 800 reportes de experimentos sobre aspectos de la criobiología embrionaria han sido publicados, describiendo mejoramiento y

modificaciones de los métodos empleados (Maurer, 1978; Willadsen *et al.*, 1978; Shea *et al.*, 1983). Además, diversas revisiones han descrito las especificaciones de la criobiología de embriones de animales domésticos (Willadsen, 1980; Lehn-Jensen, 1986; Leibo, 1986, Massip, 1986; Niemann, 1991). No solo los procedimientos para la criopreservación de embriones han sido exitosamente realizados y mejorados eficientemente, sino fundamentalmente la comprensión de las respuestas de los embriones durante el congelamiento y descongelado (Leibo y Loskutoff, 1993).

Básicamente, la criopreservación de embriones consiste en 4 pasos: 1) Los embriones son suspendidos en una solución con un aditivo crioprotector (CPA). 2) Ellos son enfriados bajo condiciones tales que algunas o ningunas de sus células congelen agua intracelularmente cuando son sumergidos en nitrógeno líquido para almacenarlos. 3) Los embriones son calentados a temperaturas fisiológicas para reasumir su función normal. 4) El CPA es removido de los embriones por dilución (Leibo y Loskutoff, 1993).

Inicialmente, todos los embriones son criopreservados para ser suspendidos relativamente en bajas concentraciones de 10-15% del CPA y enfriados lentamente en nitrógeno. Fahy *et al.* (1984) primero describieron diferentes métodos para la preservación de embriones durante la criopreservación, como fué la vitrificación, un fenómeno en que soluciones altamente concentradas de crioprotectores se dejaban cristalizar cuando eran enfriados rápidamente, pasando en lugar de estado líquido a un estado de glass inestable. Por lo que, la vitrificación comprende la exposición de los embriones a una mezcla de diferentes crioprotectores permeables, para entonces sumergirlos abruptamente dentro de nitrógeno líquido (Leibo, 1989). De esta forma hace 8 a 10 años aproximadamente, habían sido desarrolladas innovaciones dentro de la metodología para poder realizar los pasos anteriormente descritos. Estos habían incluido el uso de mezclas de CPA permeables y no permeables (Takeda *et al.*, 1984; Szell y Shelton, 1986) para un rápido enfriamiento de los embriones, así como también la derivación de soluciones que no se cristalizaran cuando fueran enfriados rápidamente, si no que se vitrificaran (Rall y Fahy, 1985; Scheffen *et al.*, 1986; Rall, 1987).

Estos procedimientos relacionados han sido diseñados como métodos nonequilibrium y quasi-equilibrium de criopreservación, en contradicción con los métodos estándar de equilibrium por los que los embriones fueron inicialmente congelados (Mazur, 1990). Las principales diferencias entre estos métodos de criopreservación son que aquel método usa altas concentraciones de CPA y muy altas tasas de refrigeración y calentamiento. Más tarde, se usaron bajas concentraciones de CPA y bajas tasas de refrigeración. A pesar de estas diferencias específicas entre métodos equilibrium y nonequilibrium, el análisis teórico de Mazur (1990) demostró claramente que el principio fundamental implicado en el éxito de la criopreservación entre estos métodos era el mismo. Una de las innovaciones recientes ha resultado del reconocimiento de que el embrión puede ser congelado exitosamente en cierto CPA porque son permeables y no sufren shock osmótico cuando son diluidos directamente fuera de la solución CPA, en una moda completamente análoga para la inseminación artificial (Suzuki *et al.*, 1990; Voelkel y Hu, 1992; Voelkel y Hu, 1992).

La introducción de CPA no permeables, sacarosa en combinación con glicerol ha permitido recientemente el desarrollo del método para descongelar embriones bovinos a un sólo paso (one step) y remover el glicerol (Renard *et al.*, 1982; Leibo, 1986). Las tasas de gestación seguidas de las transferencias de embriones congelados en pajillas resultaron en un 40 a 50%. Leibo (1986) reportó un 42% en registros globales en relación a la tasa de gestación seguida de la transferencia directa de 476 embriones bovinos. En este reporte, los embriones que tuvieron un grado de bueno a excelente (grado 1 y 2) en la calidad embrionaria antes de la criopreservación produjeron una tasa de gestación del 46%, mientras que los embriones con un grado de 3 produjeron una tasa de gestación del 24%. La etapa de desarrollo embrionario y calidad embrionaria claramente afectó la tasa de supervivencia seguida de la congelación y descongelación (Leibo, 1986). Se ha sugerido que existen diferencias en la sensibilidad a la criopreservación de embriones de diferentes grados de calidad. Una consecuencia práctica de este punto de vista es que únicamente embriones de los mejores grados de calidad sean criopreservados actualmente (Wright, 1985; Hasler *et al.*, 1987). Además, esto puede ser corroborado con lo observado en la literatura, donde invariablemente la mayor eficiencia de los procedimientos actuales de la criopreservación y

descongelación pueden matar cerca del 10 a 20% del total de embriones congelados, esto es, las grandes pérdidas inician cuando se incluyen embriones de calidad pobre (Sreenan y Diskin, 1987).

Desde que Fukuda *et al.* (1990) informaron el nacimiento del primer becerro proveniente de un embrión criopreservado y producido mediante fertilización *in vitro*, muchas observaciones en la criopreservación de embriones producidos bajo este esquema han aparecido solo en forma abstracta (Leibo y Loskutoff, 1993). Como ha sido mencionado anteriormente, el medio en que los embriones fertilizados *in vitro* son cultivados no solo influye su desarrollo, sino que esto ejerce un efecto significativo sobre su sobrevivencia después de la congelación. Al respecto Voelkel y Hu (1992) observaron que inclusive la atmósfera gaseosa en que fue desarrollado el embrión ejerce una influencia sobre la sensibilidad de congelación, demostrando que efectos muy sutiles del sistema de cultivo pueden tener un efecto profundo sobre la criopreservación. Otro efecto demostrado es el que, si los embriones han sido vitrificados exitosamente y si son capaces de desarrollarse dentro del cultivo (Dobrinsky *et al.*, 1992), inclusive hasta el punto en el cual un porcentaje mayor al 80% de embriones vitrificados puedan eclosionar (Yang *et al.*, 1992). Existe evidencia adicional la cual ha demostrado que el 38% de 866 vacas y vaquillas han resultado gestantes como resultado de la transferencia de embriones fertilizados *in vitro*, criopreservados y descongelados (Kajihara, 1992).

SEXADO DE EMBRIONES.

El sexado es un procedimiento que permite obtener crías de un sexo previamente determinado y poder implantar embriones con esta característica, esta técnica utilizada en la TE de ganado bovino ha tenido una gran importancia económica (Hasler, 1992; Brackett y Zuelke, 1993). Así mismo, la determinación del sexo anterior a la transferencia del embrión representa el deseo de la mayoría de los criadores de ganado (Thibier y Nibart, 1995). La relación del sexo al nacimiento de crías machos es del 51.1% registrado en la TE en diversas

mezclas de razas (King et al., 1985). El desarrollo de embriones machos, en promedio es más rápido que los embriones hembra, tanto *in vivo* (Avery et al., 1989) como *in vitro* (Avery et al., 1991). En el presente los embriones son comúnmente evaluados sobre la base de su integridad morfológica. Sin embargo, este proceso es muy conocido y de poca confianza (Shea, 1981). Aunque es evidente que un embrión de buena calidad morfológica tiene una mayor tasa de supervivencia que los embriones pobre calidad, sin embargo, dentro de los embriones de buena calidad existe una gran variabilidad. Shea et al. (1983) obtuvieron una tasa de gestación del 43% después de transferir embriones bovinos congelados y subsecuente descongelación, los cuales habían sido juzgados con una buena calidad morfológica antes de la transferencia.

Combinando la evaluación morfológica y la ventaja de ser capaces de determinar el sexo de un embrión anterior a su transferencia, incluye la posibilidad en ganado bovino de seleccionar el sexo y la factibilidad de transferir embriones del sexo en relación a la finalidad zootécnica determinada (Bondioli, 1992). Sin embargo, el fenómeno de la relación del sexo entre las crías macho y hembras, no puede ser utilizado para sexar embriones sobre una base individual (Avery et al., 1989). En relación al sexado, la tecnología sofisticada de bisección ha permitido almacenar embriones para posteriormente evaluar el genotipo (Lehn-Jensen y Willadsen, 1983; Rorie et al., 1986; Takeda et al., 1987).

Sin embargo, varios métodos han sido propuestos, entre los cuales se encuentran los análisis citogenéticos para sexar embriones dentro del cual se encuentra el cariotipo, que es un método invasivo para sexar embriones, el cual involucra la obtención de células de un embrión, que se preparan a extenderse en metafase para poder identificar los cromosomas sexuales. Al respecto, en un estudio sólo el 58% de cariotipos definidos fueron obtenidos de blastocistos en eclosión (Hare, 1976) y el 62% de embriones de 7 días (Rall y Leibo, 1987). Adicionalmente a su baja eficiencia, la técnica invasiva no es adecuada para embriones que requieren una zona pelúcida intacta para ser congelado o exportado.

Por otro lado, existen antecedentes de dos métodos no invasivos para sexar embriones de ratones, uno de los cuales se fundamenta en el hecho de que existe un periodo corto de desarrollo embrionario, en el cual secretan enzimas ligadas al cromosoma X. De

esta forma el primer método evaluó el uso de un colorímetro para monitorear la actividad de la enzima ligada al cromosoma X anterior a la inactivación del cromosoma X; y el segundo método se sustenta en el antígeno H-Y, el cual es una proteína de superficie y el gen que la codifica se localiza en el cromosoma Y de todas las células del macho, el cual se realiza mediante la inmunodetección del antígeno H-Y por medio de anticuerpos. Desafortunadamente, ambas técnicas tuvieron una moderada exactitud en el sexado de embriones (Van Vliet *et al.*, 1989). Existen datos contradictorios, en relación al principio del segundo método, donde White *et al.* (1987) encontraron con dicha técnica del antígeno H-Y resultados de un 84% de exactitud en la determinación del sexo con embriones bovinos en etapa de 8 células a blastocistos. Sin embargo, esta técnica no ha sido adoptada por la industria de la TE, probablemente por que los embriones machos son destruidos.

Existen otras técnicas las cuales consisten en realizar biopsias para coleccionar varios blastómeros de un embrión de 6 a 7 días de edad y localizar en estas células las secuencias de DNA que son únicas del cromosoma Y (o sea el cromosoma masculino). Un embrión con dichas secuencias será un embrión de sexo masculino y por eliminación un embrión que no presente dichas secuencias de DNA será de sexo femenino (Bondioli *et al.*, 1989).

Kameyama *et al.* (1993) utilizando el método rápido de detección del cromosoma Y (YCD) en embriones bovinos, para determinar el sexo y subsecuente criopreservación, no encontraron diferencias estadísticamente significativas entre la tasa de embriones transferibles en relación a la tasa de gestación, entre los embriones sexados y el grupo control (sin sexar) y sugieren que los embriones criopreservados son adecuados para ser sexados con la prueba YCD, además encontraron un 58% de fertilidad para embriones criopreservados y sexados con un 67% de embriones machos al iniciar la prueba.

Herr *et al.* (1990) encontraron a través de la prueba YCD un 91.6% de exactitud de la prueba donde el porcentaje de error pudo haber sido un fracaso de la prueba en el sexado, donde las fotografías inequívocas de la prueba sugiere que esto puede ser debido a un error en el manejo del embrión o biopsia.

Nibart *et al.* (1988) evaluando la tasa de concepción de 73 embriones seguida de biopsias y simulando el sexado de los embriones que fueron mantenidos en diferentes

tiempos y temperaturas, de los cuales 44 fueron colectados en el día 7 y 29 en el día 8, la tasa de gestación general fue del 44% y sugieren que si el sexado se requiere, al menos no existe efecto adverso de los embriones congelados comparado cuando se emplean en embriones frescos.

White *et al.* (1987) evaluaron la tasa de gestación en embriones colectados entre el día 6-7 por vía no quirúrgica de vacas Holstein superovuladas para ser bipartidos a modo de realizar la detección del antígeno H-Y a través de inmunofluorescencia indirecta. Al compararlo con el grupo control (solo bipartido) encontraron una exactitud del sexado de los embriones del 90% sin diferencias en la tasa de gestación de embriones bipartidos *versus* aquellos bipartidos y sexados.

FERTILIZACION IN VITRO DE EMBRIONES.

Durante los últimos 25 años muchos métodos para controlar y manipular la reproducción de los mamíferos ha sido planeada y alcanzado altos niveles de eficiencia. Uno de estos métodos es la fertilización *in vitro* (IVF) de óvulos, donde la investigación sobre esta técnica es objeto para comprender factores que influyen en la maduración de ovocitos, interacciones del espermatozoide con el óvulo y desarrollo del cigoto. Esta técnica tiene gran aplicación en la reproducción del bovino (Cunningham, 1989; Brackett y Zuelke, 1993).

Hace 27 años, se encontró que huevos de ratón podían ser fertilizados *in vitro* exitosamente por espermatozoides recuperados del útero de una hembra apareada (Whittingham, 1968). En los subsecuentes años, el procedimiento de IVF ha sido extendido hacia muchas especies de animales incluyendo al humano, empezando a ser casi un procedimiento de rutina por el cual se pueden producir crías vivas. Desde hace aproximadamente 10 años la IVF primero fué aplicada exitosamente a los bovinos (Brackett, 1982; Brackett, 1984). Inmediatamente después de esto, el oviducto de conejo fue usado como una incubadora de ovocitos madurados *in vivo* que habían sido sometidos a IVF, de

los cuales fueron producidos becerros vivos (Sirard y Lambert, 1986). Contemporáneamente, Hanada *et al.* (1986) y Parrish *et al.* (1986) realizaron IVF de ovocitos madurados *in vitro*, y también pudieron obtener el nacimiento de becerros vivos, a través de este método. Esto fue seguido rápidamente por la demostración que el complejo del bovino cumulus-ovocito podía ser madurado, fertilizado y cultivado *in vitro* y desarrollarse hacia un feto cuando era transferido dentro de receptoras sincronizadas (Xu *et al.*, 1987; Lu *et al.*, 1988; Goto *et al.*, 1988; Lu *et al.*, 1989; Brackett, 1989; Fukada *et al.*, 1990). El procedimiento ha sido refinado suficientemente como para ser aplicado comercialmente (Gordon y Lu, 1990), y además como una vía para obtener ovocitos de vacas con alto valor genético cuando son sacrificadas (Hanada, 1985; Kajihara *et al.*, 1987; Fukada *et al.*, 1990; Xu *et al.*, 1992).

No es de extrañarse, que cada paso en esta compleja secuencia puede influenciar los últimos resultados. Por ejemplo, el mismo medio de cultivo (Rose y Bavister, 1992) y los suplementos hormonales del medio (Brackett, 1989; Fukui, 1989; Fukushima *et al.*, 1991; Younis y Brackett, 1992; Dominko y First, 1992) afectan la maduración de los ovocitos. Además, la concentración y el tipo de células por ejemplo, células de la granulosa *versus* células del epitelio del oviducto, con que es fertilizado el ovulo y cultivado afecta el desarrollo embrionario (Kim *et al.*, 1990, Thibodeaux, 1991, Wiemer *et al.*, 1991, Xu *et al.*, 1992, Goto *et al.*, 1992). Además el medio de cultivo en que son fertilizados los huevos desarrolla una influencia sobre los resultados (Aoyagi *et al.*, 1989; Pinyopummintr y Bavister, 1991; Takagi *et al.*, 1991), así como también la atmósfera gaseosa (Thompson *et al.*, 1990; Fukai *et al.*, 1991). La complejidad de factores que afecta el cultivo de embriones refleja el hecho que diferentes etapas de la maduración, fertilización y cultivo *in vitro* de embriones utiliza diferentes trayectorias durante su desarrollo (Riegger *et al.*, 1992). A este respecto King (1985) mencionó que pueden existir anormalidades, alteraciones adquiridas del DNA alrededor de los resultados obtenidos durante el período de manipulación *in vitro*.

El último criterio de algún procedimiento son la gestación y el nacimiento (Leibo y Loskutoff, 1993). Fukada *et al.* (1990) reportaron en la literatura el primer becerro desarrollado de un embrión madurado fertilizado y cultivado *in vitro*. Recientemente

después de este evento, se ha podido demostrar que altas tasas de gestación son obtenidas de transferencias asincrónicas de embriones madurados, fertilizados y cultivados *in vitro* (Kajihara *et al.*, 1990; Reichenbach, 1992), en contraste para embriones bovinos derivados *in vivo* esto está bien establecido que la máxima tasa de gestación se alcanza con transferencias completamente sincrónicas. Esto indudablemente refleja el hecho que embriones madurados, fertilizados y cultivados *in vitro* son actualmente producidos y difiere poco en el éxito que previamente se ha encontrado con la producción de embriones *in vivo* (Leibo y Loskutoff, 1993).

HIPOTESIS

La hipótesis propuesta es que la implementación de un programa de transferencia de embriones Holstein/Cebú criopreservados y fertilizados *in vitro* en hembras de tipo cebuino puede ser una herramienta valiosa para el mejoramiento genético de pequeños productores.

OBJETIVOS

El objetivo principal de este trabajo consistió en evaluar la factibilidad de la implementación de un programa de transferencia de embriones para obtener una producción constante de F₁ a partir de embriones F₁ transferidos a hembras cebuinas de pequeños productores y del CEIEGT.

Objetivos específicos.

1. Determinar el porcentaje de vacas que responden positivamente al proceso de sincronización para la manifestación de celo natural y celo sincronizado, con el uso de un progestágeno (Synchromate B, Lab. Sanofi) a través de:
 - 1.1. Detección clínica de estro.
 - 1.2. Detección por palpación rectal de la presencia de un cuerpo lúteo.
2. Determinar el porcentaje de gestaciones de manera cuantitativa de acuerdo al número de vacas gestantes sometidas al programa de transferencia de embriones, así mismo evaluar el porcentaje de gestaciones de acuerdo al tipo de celo, esto es, natural y sincronizado.
3. Evaluar la relación entre la tasa de gestación y la suplementación evaluada a través de la condición corporal de las receptoras de tipo cebuino incluidas al programa de transferencia de embriones.

4. Determinar la relación existente entre el número de gestaciones en receptoras del tipo cebuino, en comparación con la calidad/etapa de 100 embriones Holstein/Cebú, criopreservados y fertilizados *in vitro*, proporcionados por la compañía productora de embriones,

5. Evaluar la relación existente entre el sexo de las crías nacidas, así como también determinar el grado de exactitud de aquellos embriones sexados.

6. Determinar la tasa de gestación en relación a la actividad hormonal (producción de progesterona) generada por el cuerpo lúteo en el momento de la transferencia y posteriormente al día 21.

MATERIAL Y METODOS.

LOCALIZACION.

El presente estudio se realizó durante la temporada de empadre de mayo a julio de 1994 en el rancho denominado "La Soledad" y de junio a diciembre de 1994 con productores adscritos al programa de transferencia de tecnología, incorporados al Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Ganadería Tropical (CEIEGT) perteneciente a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, localizado en el municipio de Tlapacoyan, a 5 Km de la Ciudad de Martínez de la Torre, Estado de Veracruz, México. El Centro se encuentra ubicado a 20° 04' latitud norte y 93° 03' longitud oeste del meridiano de Greenwich, a una altitud de 150 m sobre el nivel del mar, con una precipitación pluvial media anual de 1700 mm y con una temperatura media anual de 24°C. Su clasificación climática es de trópico húmedo Af(m) (e) con lluvias todo el año según el Servicio Meteorológico Nacional (1985). Las fincas pertenecientes a los productores se encuentran ubicados en el área de influencia del CEIEGT y localizadas en Emilio Carranza, municipio de Vega de la Torre, Ver.

ANIMALES EXPERIMENTALES.

A.-RANCHO "LA SOLEDAD" (CEIEGT)

Los animales experimentales utilizados del CEIEGT fueron 50 vacas de las razas Brahman e Indobrasil mantenidas en una pradera de 110 ha, en un sistema extensivo y bajo

un pastoreo de alta densidad también conocido como pastoreo de corta duración, bajo el régimen de sanidad y manejo rutinario que tenía el resto del hato para este tipo de explotación. La dieta de los animales estuvo principalmente constituida de pasto estrella Santo Domingo (*Cynodon nl*) además de pastos nativos como el *Paspalum sp* y *Axonopus sp* formando praderas de clase mixta que es el tipo predominante en las instalaciones de "La Soledad". Dichos potreros estuvieron provistos de sombras y agujeros naturales y fueron equipados con comederos y saladeros móviles. Asimismo tuvieron una suplementación con alimento elaborado en las instalaciones del CEIEGT el cual contenía un 14% de proteína cruda a razón de 3 Kg por vaca diariamente durante 60 días.

B.-PRODUCTORES

ANTECEDENTES DEL PROGRAMA DE TRANSFERENCIA DE EMBRIONES.

En las reuniones mensuales realizadas en la Asociación Ganadera Local de Emilio Carranza, con tres meses de anticipación (marzo, 1994) se les comunicó a los productores de la implementación de un programa de transferencia de embriones, en el cual podrían participar un total de 10 productores que deberían aportar como mínimo 5 receptoras las cuales serían sometidas a los lineamientos de manejo y alimentación previamente establecidos dentro del programa como parte de transferencia de tecnología del CEIEGT. Después de la reunión de trabajo solo aceptaron ingresar a dicho programa 7 productores, a los cuales se les visitó mensualmente con el fin de realizar la selección de las posibles receptoras para iniciar en primera instancia el proceso de sincronización. Así mismo, esta visita serviría para proporcionarles al productor la información necesaria con respecto al manejo nutricional que necesitaban las receptoras antes de ingresar al programa, es decir, de realizar una suplementación de concentrado, la cual consistiría en ofrecerles el 1.0% del

peso vivo (M.S.) de un alimento que contenga un mínimo de 1.84 Mcal/E.D./Kg y 13.6% de proteína cruda durante la duración de dicho estudio, así como la suplementación con sales minerales y agua *ad libitum*, ya que durante los meses previos y en el transcurso del estudio (junio-diciembre, 1994) corresponden a la época de sequía y por ende el forraje es escaso. Sin embargo, bajo las condiciones de México, ésta se considera como la mejor época reproductiva (final de secas, principios de lluvias, Escobar *et al.*, 1982).

Una vez establecidos los lineamientos del programa y teniendo la referencia del número de productores interesados en participar, fueron incorporados al programa de acuerdo al calendario y diseño que se describe más adelante en esta sección de material y métodos, siendo integrados a los grupos de acuerdo al orden de inscripción al programa y de las ubicaciones de cada rancho, conformando el grupo III los primeros cuatro productores para formar el grupo de celo natural y los otros tres productores pasaron a formar parte del grupo IV el cual correspondió al celo sincronizado.

A excepción del manejo reproductivo y nutricional recomendado en el programa, las receptoras fueron manejadas de acuerdo a las diferentes condiciones de sanidad, técnicas de manejo y diversos grados de tecnificación de cada productor:

CARACTERISTICAS GENERALES DE LOS PRODUCTORES.

La mayoría de los hatos de los productores eran de bovinos de diferentes edades, partos, condición corporal, razas con diversos genotipos encastados de Cebú y razas europeas para doble propósito en el trópico húmedo. En su minoría los productores tenían como propósito zootécnico la cría de ganado productor de carne.

Las posibles receptoras se encontraban en condiciones de libre pastoreo con sistemas de rotación de potreros en superficies que promediaban aproximadamente 100 ha por cada productor, predominando básicamente los pastos como el estrella de Africa (*Cynodon plectostachyus*), el Pangola (*Digitaria decumbens*) y gramas nativas, siendo el tipo

predominante de praderas de clase mixta dentro de las instalaciones de los productores ubicados en estas áreas del trópico. La mayoría de los productores empleaban un sistema de rejejería tradicional de la zona, esto es, el ordeño a mano con apoyo del becerro.

El grado de tecnificación fue muy variado desde mangas o construcciones de manejo hechas a base de maderas de la región, hasta corrales de manejo de concreto o material similar.

PRODUCTOR 1: Este productor aportó 10 vacas de diferentes edades y diversos genotipos encastados de Cebú que se encontraban a libre pastoreo con un sistema de rotación de potreros, la mayor parte del pasto de los potreros era estrella de Africa y gramas nativas; así mismo su manejo reproductivo era el tradicional, es decir, la monta natural.

PRODUCTOR 2: Dicho productor aportó 10 vacas de diferentes edades y diversos genotipos encastados de Cebú (*Bos indicus/Bos taurus*) con un sistema de manejo extensivo y rotación de potreros, empastado con zacate estrella de Africa y gramas nativas, siendo su manejo reproductivo la monta natural.

PRODUCTOR 3: Este productor aportó solo 3 vacas del genotipo F₁ (Holstein/Cebú), con un sistema de manejo extensivo y rotación de potreros empastado con zacate Pangola y la suplementación con alimento comercial conteniendo un 16% de proteína cruda durante la ordeña; con un manejo reproductivo a base de inseminación artificial.

PRODUCTOR 4: El productor de este rancho aportó 14 vacas de la raza Angus negro, con un sistema de manejo extensivo y rotación de potreros, empastado con zacate Pangola y estrella de Africa; así como también la proporción de una suplementación de concentrado elaborado en dicho rancho conteniendo un 14% de proteína cruda a razón de 3 Kg por animal diariamente. La inseminación artificial es el método empleado como manejo reproductivo de su hato.

PRODUCTOR 5: Se emplearon 11 vacas de este productor de la raza Suizo americano y diversos genotipos encastados con Cebú, en un sistema de manejo extensivo y rotación de potreros empastado con zacate estrella de Africa y Pangola, así como una suplementación alimenticia de concentrado elaborado en dicho rancho con un 14% de proteína cruda a razón de 3 Kg/animal/día; siendo este un manejo rutinario de alimentación para el resto del hato. El manejo reproductivo de esta finca se basaba en el uso de la inseminación artificial.

PRODUCTOR 6: Dicho productor aportó 9 vacas de diversos genotipos encastados de Cebú con un sistema de manejo extensivo y rotación de potreros, empastado con zacates estrella de Africa y gramas nativas, siendo su manejo reproductivo el de la monta natural.

PRODUCTOR 7: Con este productor se utilizaron 6 vacas de la raza cebuina dentro de un sistema de manejo extensivo y rotación de potreros con pasto estrella de Africa y gramas nativas, empleando la monta natural como manejo reproductivo.

CRITERIO DE SELECCION DE LOS ANIMALES EXPERIMENTALES.

Las vacas receptoras que fueron seleccionadas para ingresar a la implementación de un programa de transferencia de embriones, fueron identificadas conforme a los registros existentes en el CEIEGT y los 7 diferentes ranchos donde fué realizado el estudio, de acuerdo a las siguientes características para su inclusión:

Vacas que tuvieran un intervalo posparto de por lo menos 90 días (Wenkoff, 1983), aquellas receptoras que tuvieran más de un parto y menos de cinco, que al ser evaluadas por palpación rectal no presentarán alteraciones o patologías en el tracto genital (cervix sinuoso, piometras, endometritis, quistes ováricos, etc.), vacas que presentaran una condición corporal aceptable en la clasificación que va del 1 al 5, siendo aceptables aquellas vacas con una condición de 1.5 a 4.0 (Mapletoft *et al.*, 1986), aquellas receptoras que al ser evaluadas mediante palpación rectal se encontrarán ciclando o presentaran evidencia de

actividad folicular y en base a esto se les seguiría un método de sincronización por medio de progestágenos, para ser inducidas a manifestar celo sincronizado o celo natural según sea el caso (Etherington y Bosu, 1989) y aquellas vacas que presentaron calor ya sea sincronizado o natural y que se les detectó la presencia de un C.L. a la palpación rectal.

DISEÑO EXPERIMENTAL.

Originalmente para la evaluar la factibilidad de la implementación del programa de transferencia de embriones, 100 animales experimentales fueron seleccionados del CEIEGT y de 7 pequeños productores y distribuidos en 4 grupos de 25 vacas cada uno, para subsecuente transferencia de 100 embriones Holstein/Cebú criopreservados, sexados(48%) y fertilizados *in vitro* importados de USA. Dichos animales fueron tratados bajo el siguiente diseño experimental:

GRUPO I: CELO NATURAL (CEIEGT).

El grupo I siguió un método de sincronización por medio de un progestágeno (Synchromate B, Lab. Sanofi) que contenía un implante de aplicación subcutánea con 6 mg de Norgestomet y a su vez se le aplicó una inyección intramuscular de 2 ml con 5 mg de Valerato de Estradiol y 3 mg de Norgestomet. El implante auricular se retiró a los 9 días, posteriormente se esperó que manifestasen signos de celo entre el segundo y tercer día, el cual sólo fué anotado más no utilizado. Posterior a este período se esperó a que presentasen un segundo celo de manera natural, transcurriendo aproximadamente 21 días, para posteriormente efectuar la transferencia de embriones al séptimo día de que se habrían detectado en celo de manera natural (estro natural).

GRUPO II: CELO SINCRONIZADO (CEIEGT).

El grupo II se le trató con el mismo método de sincronización a través del Synchromate B, siguiendo la misma técnica empleada en el grupo I, con la diferencia que en estas vacas la transferencia de embriones se realizó siete días después del primer calor (estro sincronizado).

GRUPO III: CELO NATURAL (PRODUCTORES).

Las 25 vacas de este grupo fue manejado igual que el grupo I, es decir, se les dejó pasar el estro sincronizado para transferir los embriones al día 7 después del segundo estro (estro natural).

GRUPO IV: CELO SINCRONIZADO (PRODUCTORES).

En este grupo las 25 vacas fueron sincronizadas con progestágenos y la transferencia de embriones se realizó siete días después de haber sido detectadas en calor (estro sincronizado).

DETECCION DE CALORES POSTERIOR AL RETIRO DEL IMPLANTE DE NORGESTOMET.

En las vacas seleccionadas del CEIEGT los calores fueron detectados en los potreros de forma visual 3 veces al día por espacio de 30 minutos (a las 6:00 hr, 12:00 hr y 18:00 hr).

En el caso de los productores se siguió el método empleado por cada uno de ellos, que consistió en la detección visual por parte de los vaqueros y/o la ayuda de toros marcadores con desviación de pene para evitar la cópula. La detección fué generalmente

realizada mediante observación visual por espacio de 60 minutos, 3 veces al día (a las 6:00 hr, 12:00 hr y 18:00 hr).

CLASIFICACION DE ACUERDO A LA SUPLEMENTACION.

Para los grupos I y II fueron considerados homogéneos con respecto a la suplementación, ya que les fue proporcionado alimento elaborado dentro de las mismas instalaciones del CEIEGT.

Dentro de los grupos III y IV se consideró a los productores 4 y 5 incluidos en dichos grupos respectivamente por separado con respecto a los otros productores, debido a que dentro de su manejo rutinario tuvieron una suplementación de concentrado elaborado dentro de sus propias instalaciones a diferencia del resto de los demás productores que a pesar de haberseles indicado que tenían que realizar una suplementación de sus receptoras durante el transcurso del programa, la mayoría lo considero probablemente irrelevante con respecto a su manejo tradicional de alimentación, a base de pastoreo y solo accedieron suplementar al inicio de la fase de sincronización. Desafortunadamente al final, es decir, después de realizada la transferencia de embriones, les fue suspendida dicha suplementación debido al costo del alimento que tenían que estar comprando y consideraron cara dicha suplementación.

Finalmente, dicha suplementación fue evaluada a través de la condición corporal presentada al momento de la implementación del programa de transferencia de embriones en los 4 grupos experimentales.

FARMACOS.

AGENTE FARMACOLOGICO EMPLEADO PARA LA SINCRONIZACION DE ESTROS.

Se utilizó el Synchronate B (Lab. Sanofi).

FORMULA:

El implante auricular contiene	6 mg de Norgestomet
Sol Inyectable (2 ml)	5 mg de Valerato de Estradiol y 3 mg de Norgestomet.

AGENTES FARMACOLOGICOS UTILIZADOS PARA FACILITAR EL MANEJO DE LAS RECEPTORAS PARA LA TRANSFERENCIA DE EMBRIONES.

Buscapina Compositum (Lab. Boehringer Ingelheim)

FORMULA:

Cada ml contiene:

N-butil-bromuro de hioscina	4 mg
Dipirona sódica	500 mg
Vehículo c.b.p.	1 ml

Combelen (Lab. Bayer)

FORMULA: Cada 100 ml contienen:

Propionilpromazina	1 gr
Excipiente c.b.p.	100 ml

Servacina (Lab. Intervet)

FORMULA: Cada ml contiene:

Lidocaína	0.21 gr
Nipagin	.001 gr
Sol. de Clorhidrato de Fenilefrina-1:10,000 c.b.p.	.1 mg/ml

TRANSFERENCIA DE EMBRIONES.

CARACTERISTICAS Y CLASIFICACION DE LOS EMBRIONES.

Para poder realizar la implementación de un programa de transferencia de embriones con productores del trópico húmedo, se contó con un total de 100 embriones proporcionados por la firma comercial American Breeders Service (ABS), de los cuales debido a las dificultades técnicas actuales solo fué posible contar con 52 embriones no sexados, 43 embriones sexados los cuales fueron hembras y 5 embriones sexados los cuales fueron machos.

Así mismo, dichos embriones eran de tipo F₁ producidos por fertilización *in vitro* (First, 1990) con ovocitos colectados en rastro de vacas de raza Holstein y con semen de toro de raza Gyr de alto registro, solo el 48% eran sexados y el resto sin sexar (Bondioli et al., 1989). Los embriones fueron criopreservados (Elsden, 1986) del 28 de Mayo al 22 de Junio de 1993 por la Compañía ABS para ser transferidos directamente usando etilenglicol como crioprotector. Dichos embriones tuvieron una clasificación por etapa y calidad que va entre el 41 al 82 de acuerdo a los protocolos de la Sociedad Internacional de Transferencia de Embriones (IETS). La etapa fue definida de la siguiente forma:

- 8 = Blastocisto en eclosión
- 7 = Blastocisto expandido
- 6 = Blastocisto maduro
- 5 = Blastocisto temprano
- 4 = Mórula compacta

La calidad fue definida de la siguiente manera:

- 1 = Excelente
- 2 = Bueno
- 3 = Regular o pobre
- 4 = Muerto o degenerado

METODO DE DESCONGELACION DE LOS EMBRIONES.

El protocolo del descongelado de los embriones fue el siguiente:

La selección de las receptoras se realizó por medio de palpación rectal, mediante la cual se diagnosticó la ausencia de problemas reproductivos, así como también la presencia de un C.L. (Cuerpo Lúteo) correspondiente al día 7 del ciclo, para realizar la transferencia.

Posteriormente, se procedió a abrir el termo de congelación y a mover la canastilla deseada, teniendo la precaución de que no rebasará la boca del termo. Se toma el bastón indicado y se desciende ligeramente la canastilla para permitir tomar la pajilla francesa de ¼ cc para ser sometidas al proceso de descongelación. El descongelado se realizó colocando la pajilla en un termo con agua a 30°C durante 10 segundos (modificación del método rápido previamente publicado por Leibo, 1983), luego se retira y se seca con papel absorbente y así mismo registrar su número e identificación (Leibo, 1983; Elsdén, 1986; Kraemer y Dorn, 1989c).

Después de haber sido descongelada y secada la pajilla, se continuo con el procedimiento, pero cabe mencionarse que dichas pajillas durante su proceso de congelamiento fueron selladas en sus puntas o extremos y por ende tuvieron que ser cortadas por sus dos extremos de la siguiente manera; primero se cortó el extremo donde se hallaba el sello de algodón por medio de una tijera o corta pajillas, para después asentar la pajilla en un aplicador de Cassou de ¼ cc, que es un cateter de metal que tiene un émbolo también de metal. El siguiente extremo sellado de la pajilla tuvo que quedar hacia afuera para ser cortado hasta el nivel del etilenglicol, siendo importante no contaminar ambos extremos de la pajilla.

Entonces el aplicador fué protegido por una funda de plástico especial de tipo desechable, la cual se fija por medio del anillo de plástico del aplicador. Dicha funda en el extremo anterior constaba de una punta de aluminio concava, lo cual es una ventaja tomando en cuenta el hecho de que la sangre y el moco no entran en la pajilla al pasarla por un cervix difícil y a su vez con dos orificios para que pueda pasar el embrión. Además se colocó una segunda funda como protección sanitaria a la primera, esto es, evitar tenga contacto con material contaminante durante la transferencia del embrión. es importante hacer mención que todos los movimientos descritos arriba fueron hechos fuera del alcance de los rayos solares.

Posteriormente, la transferencia del embrión se realizó dentro del cuerno uterino ipsilateral para el C.L. en un tiempo no máximo de 5 minutos después de haberse descongelado la pajilla

METODO NO QUIRURGICO PARA TRANSFERIR LOS EMBRIONES.

La transferencia se realizó por vía transcervical.

PROCEDIMIENTO:

Las receptoras detectadas en calor ya sea sincronizado o natural, al sexto día posterior a este evento fueron separadas del resto del hato para ser dietadas exclusivamente de alimento por espacio de 12 hr anterior a la transferencia de embriones, la cual fué el séptimo día pos-estro. En este momento fueron evaluadas por palpación rectal para la verificación de la presencia de un C.L. y así poder continuar con el programa de transferencia. Una vez encontrado un C.L. en cualquier ovario se procedió a la aplicación de 20 a 25 ml de N-butil-bromuro de hioscina (Buscapina compositum, Lab. Boehringer Ingelheim) para funcionar como miorelajante y simultáneamente se le administró 5 ml de Propinilpromazina (Combelen, Lab. Bayer), que actuó como tranquilizante, esto fue, media hora antes de la transferencia del embrión. Transcurrido dicho tiempo se procedió a la inmovilización de la receptora en el corral de manejo para realizar la desinfección de la región sacrococcígea y se le administró 5 ml de Lidocaína al 2% (Servacaína, Lab. Intervet) por vía epidural a la altura de la última vértebra sacra y la primera vértebra coccígea, esto fué, 5 minutos anteriores al momento de la transferencia. Inmediatamente se procedió a lavar con agua tanto el recto como los labios vulvares y secados de éstos con papel absorbente. Concluidos estos pasos, así como también el armado del aplicador Cassou de ¼ cc para embriones, con la ayuda de otra persona que abra los labios vulvares, se introduce el aplicador en una posición diagonal (de abajo hacia arriba y de atrás hacia adelante) e inmediatamente se modifica la dirección hacia la posición horizontal. Una vez que el aplicador se encontró en la entrada del cervix se rompió la funda sanitaria y se introdujo a través del cervix, con lo cual se llegará al cuerpo del útero para después llegar al cuerno uterino del lado donde se encontró el C.L. (ipsilateral) y se guió suavemente hasta el tercio anterior del mismo donde se depositó el embrión. Se tuvo excesivo cuidado en la manipulación de los cuernos uterinos debido a que fácilmente se puede dañar el endometrio (Kraemer y Dorn, 1989b). Finalmente se anotó la fecha, identificación del embrión y de la vaca.

DETECCION DE CALORES POST-TRANSFERENCIA DE EMBRIONES.

La detección de calores se empezó desde los 12 días posteriores a la transferencia de los embriones de acuerdo al manejo rutinario de cada rancho descrito anteriormente.

DIAGNOSTICO DE GESTACION.

Aproximadamente 45 días después de concluída la transferencia de los embriones, se procedió a diagnosticar la gestación en las vacas receptoras, ésta fué realizada por medio de la técnica de palpación rectal.

PARAMETROS EVALUADOS.

En cada grupo se evaluó el número de vacas que presentaron estro durante el tratamiento con drogas sincronizadoras, ya que la mitad de éstas fueron preparadas para después mostrar celo natural en un período razonablemente sincronizado (celo natural posterior al sincronizado). La razón de esta decisión fué el facilitar la detección de celo en la fase "celo natural".

Así mismo, se evaluó el grado de sincronización para el tratamiento estro natural y que presentó celo en un período de ± 21 días posterior al "estro sincronizado".

La fertilidad se evaluó mediante el cálculo del porcentaje de concepción a la transferencia de embriones, por medio del porcentaje de gestaciones acumuladas en cada grupo. Se evaluó la correlación entre la tasa de gestación y la condición corporal para cada grupo. También se correlacionó el sexo, la calidad/etapa de los embriones sobre la tasa de gestación de acuerdo al método descrito de Spearman incluido en el paquete estadístico SAS (Gody y Smith, 1991). Además se evaluó el grado de exactitud del sexado de aquellos embriones que fueron sometidos a dicha técnica.

Dentro del tipo de raza se evaluó el porcentaje de gestaciones para el CEIEGT donde exclusivamente había vacas de las razas cebuinas y con los productores que tenían diferentes genotipos de razas cebuinas (*Bos indicus/Bos taurus*). Así mismo, se evaluó la tasa de gestación dentro de los productores con respecto a su práctica de alimentación, es decir, si fueron capaces de mantener un programa constante de suplementación.

ANALISIS ESTADISTICO.

Para evaluar la tasa de gestación seguida de la implementación de un programa de transferencia de embriones con productores del trópico húmedo, sobre el tipo de celo, suplementación evaluada a través de la condición corporal, fué comparada usando la prueba de Ji cuadrada disponible en el paquete estadístico SAS (Gody y Smith, 1991).

RESULTADOS.

SEGUIMIENTO DEL RESULTADO DE LA SINCRONIZACION DE CALORES Y SUBSECUENTE TRANSFERENCIA DE EMBRIONES, DE ACUERDO A LA CONFORMACION DE LOS GRUPOS EXPERIMENTALES.

De los 25 animales originalmente seleccionados del grupo I sincronizados con progestágenos, solo el 60% (n=15) fueron detectados en estro durante las 72 hr posteriores al tratamiento (Fig. 6). Durante la fase de celo natural (segundo calor) el cual se empezó a observar a los 17 días, mostraron celo el 26.6% (n=4) y 20% (n=3) no fue detectado en calor (Fig. 7), pero a la palpación rectal un día antes de la transferencia en las vacas que mostraron celo, se les detectó un buen C.L. y por ende, se utilizaron en la transferencia a pesar de desconocerse el día exacto en que mostraron celo. Una vaca de las 7 posibles de transferirse fue eliminada por tener un temperamento agresivo.

En este estudio 18 vacas (72%) de este grupo no presentaron signos de estro natural, ni la formación de un C.L. evaluado por palpación rectal y por lo tanto, no fueron utilizadas en el programa de transferencia de embriones. El porcentaje de posibles vacas para ser transferidas con embriones después de haber sido seleccionadas de acuerdo a los criterios previamente establecidos se redujo al 28% del total de este grupo (Fig. 1).

En el caso del grupo II finalmente fueron sincronizadas 30 vacas, siendo detectadas en estro solo el 53% (n=16) dentro de las 72 hr posteriores al retiro del implante de SMB (Fig. 8). De las cuales, el 56.2% (n=9) se les transfirió un embrión ya que presentaron un C.L. a la palpación rectal. El resto de las vacas que presentaron calor y tuvieron C.L., o sea, el 43.7% (n=7) no fueron transferidas por tener un temperamento agresivo o porque aún estando dentro de la manga de contención, lograron salirse y debido a las condiciones del corral, trasladarse a un potrero vecino donde aún habiendo sido posible regresarlas al corral de contención, se decidió que el éxito de colocar un embrión en ellas se vería reducido y por ende se canceló la transferencia.

Catorce vacas (46.6%) de este grupo, no presentaron signos de estro sincronizado, ni la presencia de un C.L. evaluado mediante palpación rectal y por lo tanto, fueron excluidas del programa de transferencia de embriones. El porcentaje de posibles vacas para ser transferidas con embriones después de haber sido seleccionadas se redujo al 53% del total en este grupo (Fig. 2).

Debido a los problemas anteriores con respecto a la respuesta a la sincronización y al temperamento de la raza Cebú, se tuvo la necesidad de seleccionar otras 50 posibles receptoras de la población élite (n=230) que conformaban al hato del rancho "La Soledad" las cuales también formaron parte de la época de empadre de ese año (1994) y que habían sido también sincronizadas por medio de progestágenos para ser inseminadas en el segundo calor que manifestasen (celo natural). De esta manera aquellas receptoras detectadas en celo no serían inseminadas para después ser separadas del resto del hato, y posteriormente, esperar un lapso de 6 días para poder ser dietadas y evaluadas mediante palpación rectal y de esta forma al día 7 poderlas incluir dentro del programa de transferencia de embriones a aquellas receptoras que se les haya detectado un C.L. De acuerdo a esta nueva selección sólo el 70% (n=35) presentaron un C.L. a la palpación rectal y por consiguiente se les transfirió un embrión (Fig. 9). De las 15 vacas restantes, el 18% (n=9) presentaron calor, pero al momento de la evaluación por palpación rectal no se encontró ningún C.L. en sus ovarios y el 12% (n=6) presentaron signos de calor y C.L. pero por su temperamento agresivo no se les incluyó en el programa de transferencia de embriones (Fig. 3).

El grupo III que fue conformado con los primeros cuatro productores que se integraron al programa de transferencia de tecnología, se organizó el programa de sincronización de las posibles receptoras para esperar a que expresaran el celo sincronizado, para posteriormente aguardar a que manifestasen un segundo celo natural. Se tuvieron que sincronizar un total de 70 posibles receptoras (Fig. 10) para que al final de la sincronización solo fueran incluidas dentro del programa de transferencia de embriones 27 receptoras distribuidas de acuerdo a la Fig. 4 de la siguiente manera:

Productor 1: A este productor se le sincronizaron 10 vacas respondiendo positivamente al celo sincronizado, así como a la posterior presentación del celo natural;

pero dicho productor en un término previo de 15 días a la presentación del celo natural de las receptoras, compró un semental de la raza Sardo Negro y decidió seguir en última instancia con su método de reproducción que era la monta natural, y dicho semental cubrió a las 10 vacas siendo estas receptoras excluidas del programa de transferencia de embriones.

Productor 2: Con este productor se sincronizaron 32 vacas divididas en 3 lotes pequeños de 10, 10 y 12 vacas, para facilitar el manejo en la detección de calores, manifestando estro sincronizado 3, 4 y 3 vacas respectivamente de los lotes formados, posteriormente mostraron las mismas vacas un siguiente celo natural siendo transferidos un total de 10 embriones con dicho productor.

Productor 3: Este productor solo aportó 3 vacas que fueron sincronizadas previamente mostrando celo para que, posteriormente durante el celo natural también respondieron positivamente las 3 vacas y se les incluyó dentro del programa de transferencia de embriones.

Productor 4: La sincronización inicial de este productor fue de 10 vacas que respondieron positivamente para manifestar estro sincronizado (100%) pero al momento de la segunda detección de calores para observar el estro natural por cuestiones de manejo por parte del personal encargado de este trabajo, en dicho rancho no fueron observados los calores de acuerdo a lo establecido, perdiéndose así la información de estas receptoras para poderlas incluir en el programa. Por lo tanto, hubo la necesidad de sincronizar un segundo lote de 15 receptoras amén de proporcionarles apoyo técnico para la capacitación en la detección de calores del personal. De las 15 receptoras seleccionadas, sólo 11 vacas presentaron un estro sincronizado y por cuestiones de tiempo, ya que habían transcurrido casi tres meses les fue transferido un embrión al día 7 después de haber sido detectadas en calor e incluídas en el grupo de celo sincronizado. También a 3 vacas que manifestaron celo natural espontáneamente, se les transfirió un embrión y se les incluyó en el grupo de celo natural. En total en esta finca se utilizaron 14 receptoras que fueron incluídas al programa de transferencia de embriones.

Las vacas empleadas como receptoras en el grupo IV que fueron incluídas al programa de transferencia de embriones, se contó con el apoyo de tres productores a los

cuales se les sincronizó un total de 33 posibles receptoras (Fig. 11), para que al final sólo fueran incluidas dentro del programa de transferencia de tecnología solamente 20 receptoras, que fueron aportadas por los productores de la siguiente forma que a continuación se describe (Fig. 5):

Productor 5: A dicho productor se le sincronizaron solo 7 vacas, las cuales respondieron positivamente al proceso de sincronización y formación de C.L. al día 7 y por consiguiente se incluyeron al programa; así también proporcionó 4 vacas que manifestaron celo natural en forma espontánea y como en el caso del productor 4 fueron incluidas en el grupo de celo natural (Grupo III), siendo un total de 11 receptoras a las cuales se les transfirió un embrión.

Productor 6: Este productor aportó un total de 20 posibles receptoras para ser sometidas al proceso de sincronización, las cuales fueron divididas en dos lotes de 10 vacas cada uno. En el primer lote solo manifestaron signos de estro sincronizado el 40% (n=4) de las cuales 3 fueron incluidas dentro del programa y 1 fue excluida por no formar un C.L. En el segundo lote solo presentaron celo sincronizado 6 vacas (60%) a las cuales se les transfirió un embrión; siendo un total de 9 receptoras incluidas dentro del programa de transferencia de embriones.

Productor 7: De las 6 posibles receptoras seleccionadas de este productor y que fueron sincronizadas, también se presentaron problemas con respecto al manejo en la detección de calores, ya que solo se tuvo la suposición de que habían manifestado celo 2 vacas, esto con el inconveniente de que la observación fue realizada por dos personas diferentes simultáneamente y hubo contradicciones al respecto, ya que al ser evaluadas por palpación rectal para ver si habían ovulado y la posterior formación de un C.L., dichas vacas no habían formado un C.L., lo cual presume que no manifestaron conducta de estro y por ende fueron excluidas del programa de transferencia de embriones.

DIA DE LA TRANSFERENCIA DE EMBRIONES.

En el grupo I de las receptoras que respondieron con la manifestación de celo natural y formación de C.L., por cuestiones del manejo total del lote élite de "La Soledad" durante los días que les correspondió la transferencia de embriones, no fué posible realizarla al día 7 y por ende 5 receptoras fueron transferidas en el día 8 del ciclo estral (Cuadro 1).

Para el grupo II en donde 9 de las vacas que presentaron signos de estro sincronizado y tuvieron la formación de un buen C.L. debido a que dichas receptoras se hallaban dentro del lote élite donde se encontraban 280 animales, por razones de manejo se tuvieron que realizar prácticas como identificación, tatuaje, vacunaciones y desparasitaciones de los becerros de todo el hato, así como la inseminación artificial de las hembras que hubieran manifestando conducta de celo, antes de realizar la transferencia de embriones lo cual dificultó enormemente la precisión del día de transferencia. Así como también por las dificultades encontradas en el porcentaje de hembras para manifestar conducta de celo, se tuvo que conformar un nuevo grupo formado por las 50 receptoras, para las cuales se tuvo mayor precisión en las transferencias de los embriones, que fueron realizadas al día 7.

En el caso de los grupos III y IV no existió ningún problema de manejo y todas las receptoras fueron transferidas en el día 7 del ciclo estral de acuerdo a lo establecido en los lineamientos de la transferencia de embriones.

RELACION DE LA TASA DE GESTACION SOBRE EL TIPO DE CELO, SUPLEMENTACION(CONDICION CORPORAL), DIA DE LA TRANSFERENCIA, CALIDAD/ETAPA DE LOS EMBRIONES Y EL SEXO DE LOS EMBRIONES Y CRIAS NACIDAS .

La fertilidad global irrespectivamente del grupo en que se encontraban fue de 25.8% (25/97). Estas hembras manifestaron estro conductual y la formación de C.L. al ser

transferidas. El número total de gestaciones obtenidas del CEIEGT fue 8 vacas gestantes y en los productores se obtuvo un total de 17 vacas gestantes (Cuadro 4).

El promedio de la tasa de gestación de las vacas de los productores fue significativamente más alto ($P < 0.05$) que para las vacas Cebú del CEIEGT, 32.6% vs 16% respectivamente (Cuadro 4).

Las vacas que fueron sincronizadas tuvieron una mejor tasa de gestación que aquellas vacas que manifestaron estro natural, 37.1% vs 19.4% respectivamente (Cuadro 2), siendo la diferencia significativa ($P < 0.05$).

El coeficiente de correlación no paramétrica de Spearman al ser calculado entre la tasa de gestación y la condición corporal; dicho coeficiente de correlación fue de 0.94 (altamente significativo, $P < 0.005$), sugiriendo que la probabilidad de que un animal con condición corporal 3 quede gestante es de 94% (Cuadros 3a y b, 4).

Todas las vacas del CEIEGT (Rancho "La Soledad") fueron suplementadas con alimento preparado dentro de las instalaciones del mismo rancho, mientras que 25 vacas de los productores recibieron suplementación de concentrado preparado en sus propias instalaciones. Todas las vacas de los productores fueron transferidas con embriones en el día 7, mientras que 14 vacas del CEIEGT fueron transferidas con embriones sobre los días 8 y 9 (Cuadros 6 y 7).

Dentro de los productores, dos de ellos que tuvieron siempre una suplementación de concentrado incidieron de manera importante sobre el promedio de la tasa de gestación con respecto a los otros productores (Cuadro 7). Del efecto de la suplementación sobre el tipo de celo sincronizado vs el celo natural no fue significativo. Sin embargo, el efecto de la suplementación y el tipo de celo no estuvo balanceado. En los productores que no suplementaron, la tasa de gestación fue muy baja y el efecto del celo sincronizado vs el celo natural no fue significativo ($P > 0.05$).

En la suplementación de los productores en el celo sincronizado, la tasa de gestación fue 11/17 y en el celo natural 4/8. Sin embargo, estas diferencias no fueron estadísticamente significativas debido al pequeño número de observaciones.

Para el pequeño número de vacas que se les transfirieron los embriones en los días 8 y 9, la prueba de Fisher sobre la Ji cuadrada no encontró diferencias significativas en la tasa de gestación entre los días de transferencia. Sin embargo, al observar los datos, se observa que el promedio de la tasa de gestación sobre los días 8 y 9 fue más baja que para el día 7 (Cuadro 1).

Para realizar el análisis estadístico con respecto al tipo de raza entre el CEIEGT y los productores se excluyeron aquellas receptoras que fueron transferidas fuera del día 7; por lo tanto, después de las exclusiones, las diferencias entre razas no fué significativa; sin embargo, la diferencia entre las vacas Cebú y las diferentes razas y genotipos de los productores está explicada por los hechos que sólo las vacas Cebú recibieron embriones sobre los días 8 y 9 (Cuadro 5).

La correlación entre la calidad/etapa de los embriones y la tasa de gestación no fue significativa ($P > 0.05$) (Cuadro 8).

La correlación del sexo de los embriones y la tasa de gestación no hubo diferencias significativas ($P > 0.05$) y la relación para crías machos fue del 56% con respecto a las crías hembras que fue del 44% (Cuadro 9). Así mismo, se encontró un 90% de exactitud dentro del sexo de las crías nacidas en relación a los embriones que fueron sexados.

DISCUSION.

Considerando en la actualidad la importancia que tiene la transferencia de embriones producidos por medio de fertilización *in vitro*, el sexado de los mismos, la criopreservación para su posterior transferencia, así como una aportación importante en reproducción animal en el área de los bovinos, se implementó un programa que contemplara estas características con embriones F₁ (Holstein-Cebú), para evaluar la factibilidad del mismo con productores del trópico húmedo mexicano.

No obstante, debido a la diversidad de variables en el estudio que afectaron el establecimiento de la gestación, así como al diseño experimental inicial para poder realizar inferencia estadística dentro de los grupos, se pudo observar que existieron efectos confundidos al realizar comparaciones entre aquellas variables como son las condiciones de manejo del CEIEGT y los productores, el tipo de celo ya sea sincronizado o natural, el día de la transferencia, la etapa del ciclo estral en las receptoras, el efecto de la suplementación evaluada a través de la condición corporal, la fertilización *in vitro*, la calidad embrionaria, el sexado, el método de criopreservación y transferencia; por lo cual es de esperarse una moderada tasa de gestación en las hembras a las cuales se les colocó un embrión de calidad sobresaliente y presentaron signos de estro. Sin embargo, Coleman *et al.* (1987) mencionan que se puede esperar una alta tasa de gestación entre la excelente calidad de los embriones con ningún retraso o complicación dentro de las receptoras que exhibieron signos de estro, por lo cual es difícil realizar una comparación con otras investigaciones, ya que bajo condiciones de campo, comerciales y combinación de ambas que tienen éxito individualmente frecuentemente varía de aquellas usadas durante el desarrollo de investigaciones de una técnica.

De esta forma es relevante mencionar la cantidad de animales que fueron necesarios utilizar para poder finalmente implantar 97 embriones con productores ubicados en el trópico húmedo ya que fueron necesarios utilizar 395 animales que se palparon por vía rectal en el CEIEGT y en las 7 explotaciones de los productores para obtener los grupos

experimentales encontrándose que el 52.6% (n=208) fueron empleados como posibles receptoras, debido a que exhibieron signos de estro. Estos resultados son inferiores a los resultados de la investigación realizada por Mahon y Rawle (1987) en 19 proyectos a través de 7 años con programas de transferencia de embriones en África y sureste de Asia con embriones criopreservados e importados, y encontraron un 71.7 % del total de animales programados e incluidos como posibles receptoras en base a la observación de estro. Cabe mencionar la similitud existente del gran tamaño de población necesaria con el fin de encontrar una muestra representativa del experimento que se pretende realizar sobre todo en condiciones tropicales. Otros investigadores han encontrado una problemática similar, así Landivar *et al.* (1985) cuando intentaron realizar un estudio donde su objetivo fue comparar la fertilidad a estro inducido con PGF_{2α} contra estro natural tanto en monta directa como con inseminación artificial y fue necesario que se palparon por vía rectal 616 animales en 6 explotaciones diferentes de ganado bovino de la raza Cebú en la zona tropical de México, para incluir en su estudio solo el 34% del total de animales. Así mismo de igual forma Wild (1989) cuyo objetivo fue analizar la distribución de la fertilidad en un empadre de 90 días comparando el comportamiento de hembras con estro inducido con prostaglandinas vs estro natural, valorando los resultados tanto de la inseminación artificial como de la monta natural y de igual forma fueron palpados mediante vía rectal 461 animales en 4 ranchos diferentes ubicados en el trópico húmedo incluyendo el 84% de los animales. Con base a estas investigaciones es evidente que los resultados de diferentes tipos de programas están sujetos a una amplia variabilidad, de modo que aún en condiciones similares no es de esperar resultados repetibles cada vez que se apliquen la selección de animales experimentales para un programa reproductivo. Esto aunado con la situación operacional que implica el examen mediante palpación rectal en el ganado de raza cebuina.

Por otro lado, la proporción de vacas eliminadas, que fueron las vacas que se descartaron por su temperamento y ausencia de estructuras (C.L.) en los ovarios, posterior a la manifestación del diferente tipo de celo ya sea sincronizado o natural y por lo tanto, no fueron transferidas con embriones fue el 53.37% y esto es superior a lo manifestado por Mahon y Rawle (1987) quienes reportaron un 28.8% de receptoras eliminadas por no ser

convenientes para recibir un embrión siendo la principal causa de eliminación la ausencia de C.L. Al respecto, McGrath *et al.* (1985) encontraron un 8.1% de vacas eliminadas después de haber sido sincronizadas con SMB, debido a la ausencia de C.L. Sin embargo, es evidente mencionar las observaciones realizadas por Wild (1989) durante la realización de su investigación el 33.9% de vacas eliminadas durante la época de empadre a través de inseminación artificial, donde existieron problemas de identificación y de esta forma ser dados de baja del estudio. Por lo que se enfatiza a través de esta investigación el alto porcentaje de animales eliminados del programa siendo bastante considerable y merece especial atención al momento de implementar un programa de transferencia de embriones, ya que por los resultados expuestos es evidente que faltó un estricto seguimiento y selección de los animales experimentales a lo largo de su inclusión en el programa, pero como ya ha sido mencionado el estudio se realizó en 7 diversas explotaciones ganaderas comerciales y el CEIEGT, en las que no es posible disponer totalmente de los animales en relación a las instrucciones dadas desde el inicio del estudio.

Así mismo, es interesante señalar que en este estudio dentro del lote del CEIEGT compuesto por 280 animales, al inicio de la fase experimental se programó la sincronización de estros, de tal forma que con 50 vacas serían suficientes para conformar los grupos I y II y para que de esta forma mostraran celo sincronizado. Sin embargo, la mitad de éstas fueron preparadas así para después mostrar celo natural en un período razonablemente sincronizado (celo natural posterior al sincronizado). De esta forma, se decidió el empleo de progestágenos para iniciar el programa de sincronización debido a que son utilizados ampliamente en el ganado bovino como método de control del ciclo estral (Porras y Galina, 1993), particularmente para sincronizar el celo. Cuando la administración de progestágenos se suspende los animales muestran estro 5 a 6 días después, siendo el estro seguido por ciclos estrales de duración normal (Ireland y Roche, 1982, King *et al.*, 1982), con alto grado de precisión (Santos *et al.*, 1976; Koppel *et al.*, 1979; Galina *et al.*, 1982; Lokhande, 1983), y la facilidad que esto representa al emplear cualquier técnica reproductiva (Wishart y Young, 1974). Sin embargo, al final tuvieron que ser sincronizadas un total de 105 posibles receptoras, para solo emplear 50 receptoras independientemente del grupo asignado, es

decir celo sincronizado o natural, esto probablemente debido a la implicación del manejo que representa el examen a través de palpación rectal así como la dificultad en detectar a la palpación las estructuras presentes en el ovario de las razas cebuinas, estando de acuerdo a lo manifestado por Vaca *et al.* (1983), en donde un lote sincronizado de vacas Cebú el 10% de las vacas que son sincronizadas presentan conducta de celo más no forman C.L.; así como también atribuible a la limitante que ofrece este tipo de ganado donde existe evidencia en la dificultad que presentan para interpretar su comportamiento cuando se encuentran en estro (Anderson, 1944; Plasse *et al.*, 1970); además del hecho de que las hembras cebuinas no aceptan ser montadas repetidamente en comparación con el ganado de tipo europeo (Galina *et al.*, 1980).

De igual forma, los grupos III y IV formado por los productores fuera del CEIEGT pero en un diseño similar se seleccionarían un total de 50 receptoras para ser sometidas al proceso de sincronización y luego ser incluídas de acuerdo a los dos tipos de celo. Sin embargo, fueron necesarios sincronizar un total de 103 receptoras además de incluir 7 vacas receptoras que manifestaron celo natural espontáneo, por lo que se utilizaron un total de 110 receptoras para emplear sólo 47 receptoras. Cabe mencionar que las receptoras antes de iniciar el programa de sincronización se hallaban en su mayoría ciclando y algunos animales que a pesar de no tener un C.L. evidenciaban actividad folicular.

En el ganado de la raza Cebú del CEIEGT (Brahman e Indobrasil), el porcentaje de vacas observadas en estro conductual después de la sincronización por medio de progestágenos (SMB) para el grupo I fue el 60% (n=15) y para el grupo II fue del 53.3% (n=16) y para ambos grupos fue del 56.4%, por otro lado en los productores el porcentaje de respuesta de los diferentes genotipos de las vacas receptoras detectadas en estro para los grupos III y IV fue del 62.8% (n=44) y 51.5% (n=17) respectivamente y la respuesta global fue de 59.2% (61/103). Si se observan estos resultados se consideran inferiores comparado con las observaciones obtenidas por otros autores que dicen que la conducta estral se ve aumentada cuando el agente sincronizador es un progestágeno (Gonzalez-Padilla *et al.*, 1975; Santos *et al.*, 1976; Galina *et al.*, 1987; Orihuela *et al.*, 1989; Odde, 1990).

Aquí podemos observar, que probablemente las grandes diferencias pudieron haber sido inherentes de la raza, condición corporal, época del año, temperamento e individualidad de cada receptora sincronizada. En efecto, lo encontrado por Porras y Galina (1993) explican la existencia de diversos factores que pueden modificar la respuesta del estro con progestágenos, como son la duración de la aplicación del fármaco utilizado, la etapa del ciclo estral en que se realiza el tratamiento, estado fisiológico del animal (vacas ciclando y no ciclando) condición corporal, edad de la hembra, efecto de la época del año y tipo racial.

Otros autores señalan que las diferencias individuales de la raza en ganado *Bos indicus* puede ser debida a la inherencia de la raza en respuesta a tratamientos hormonales exógenos y así mismo señalan que el medio ambiente es probablemente la causa principal de esta diferencia aparente, pudiendo ser responsable de los síntomas pobres de estro generalmente evidenciado en este tipo de animales (Morrow, 1986; Galina *et al.*, 1986).

De igual forma otros autores explican la existencia de factores de manejo que determinan el éxito o fracaso de un programa de sincronización de estros, tales como la nutrición y el intervalo posparto, por ejemplo, si las vacas pierden peso durante la gestación, el comienzo de los ciclos estrales después de parir demorará (Wilbank *et al.*, 1964, Wilbank y Faulkner, 1970), así como la existencia de otros factores antes de iniciar un tratamiento farmacológico como son una baja proporción de vacas ciclando en el hato, disfunción luteal, pobre condición corporal y retraso en la aparición del estro (Mikeska y Williams, 1988). Básicamente el aspecto nutricional se vio reflejado en los productores en los que no tienen incorporado un programa de suplementación para sus hatos y la base de alimentación es el pastoreo, lo cual se refleja en la condición corporal y en los cuales se vio implicada la baja respuesta a la sincronización. Es importante mencionar a los productores 2, 6 y 7, en los que se encontró el 35, 50 y 0% respectivamente a la respuesta del celo sincronizado promediando una condición corporal de 1.5, 1.7 y 1.4 respectivamente.

Por otro lado, el porcentaje de respuesta observado durante la fase de celo natural (segundo calor) en el grupo I del CEIEGT mostraron celo el 26.6% (n=4) y 20% (n=3) no lo hicieron, pero que a la palpación rectal se les detectó un C.L.. Además se observó que del tercer lote de posibles receptoras conformado por 50 vacas que fueron incluídas debido a

que manifestaron celo natural de las 230 hembras de lote élite que previamente fueron sincronizadas para manifestar estro natural para la época de empadre de 1994, sólo el 82% (n=41) mostraron signos de calor y posterior formación de C.L. al momento de ser evaluadas mediante palpación rectal ya que el 18% (n=9) restante aparentemente fue detectado en calor pero al ser evaluadas no se encontró ningún C.L., lo cual presume que no manifestaron conducta de celo o ésta se manifestó sin la formación de un C.L., esto está de acuerdo a lo encontrado por Quesada (1995). En efecto Vaca *et al.* (1983) encontró que en 20 hembras posparto de tipo Cebú observadas durante 53 días, sólo el 15% presentó 3 estros consecutivos, el 45% solo 2 estros, el 20% un solo estro y el 20% de los animales no fueron vistos en estro en ese periodo, sin embargo todos ellos tuvieron actividad cíclica evidenciada por los niveles de progesterona. Lo anterior está de acuerdo en el 20% de animales que no fueron vistos en calor en el grupo I y el porcentaje tan bajo de animales vistos en estro en el hato.

La eficiencia en la detección de los signos de estro en el celo natural después de la sincronización entre los productores fue de solo 32.8%, por ello con el fin de reunir el grupo de animales experimentales para colocar un embrión después del celo natural, fue necesario que se incluyeran 7 vacas que estaban en celo durante las visitas periódicas realizadas en las fincas. La modesta respuesta en la precisión de los signos de estro pudo deberse a la falta de conocimiento de los mecanismos básicos que regulan la reproducción, especialmente en animales de razas cebuinas (Galina *et al.*, 1982, Galina *et al.*, 1986). Actualmente existe evidencia en la literatura en donde Galina y Escobar (1985), determinaron que cuando se observa un hato de vacas Cebú ciclando durante 18 a 25 días, era posible detectar sólo el 20% de las vacas en estro. Asimismo Sharma y Luktuke (1983), observaron el 30% de vacas en calor en un hato durante 90 días y similares observaciones fueron hechas por Azevedo *et al.* (1981) en Brazil. Por otro lado, Morrow (1986) menciona que en vacas el 50% de los animales muestran intensidad estral normal, 34% muestran intensidad de estro promedio y 16% intensidad débil.

Es relevante mencionar que con el productor 4 fueron sincronizadas un lote de 10 hembras donde se encontró un 100% de respuesta a celo sincronizado. Sin embargo al

momento de la detección del segundo calor el cual fue el fin de semana desafortunadamente no se realizó este evento adecuadamente lo cual afectó ese ciclo estral y por ende la preparación del celo natural. Por ello se tuvo que sincronizar un segundo lote de 15 hembras contandose para entonces con la ayuda técnica de un profesional en ésta área y se detectó el 73.3% hasta que un repentino cambio de clima originó que posteriormente no manifestasen signos de estro conductual ni C.L. a la evaluación por palpación rectal. Sin embargo, existe evidencia indirecta en otro estudio realizado por Medrano *et al.* (1996), en donde este efecto también se presentó. Por lo que es necesaria más información al respecto para evaluar si existe una correlación entre el estado fisiológico del ganado Cebú y el medio ambiente, particularmente los cambios de clima. En este aspecto, Pimentel y Pimentel (1983) encontraron que en vacas Cebú que paren en agosto, septiembre, octubre y noviembre el porcentaje de vacas que exhibieron signos de estro en estos meses fueron 87, 49, 44 y 27% respectivamente. Esto significa que conforme la fecha de parto se aproxima hacia el invierno pocos animales pueden ser detectados. Similarmente, Galina *et al.* (1989) encontraron diferencias significativas en el número de vacas detectadas en estro en primavera y verano (31% del promedio del hato) comparado con otoño e invierno, donde solo el 17% del hato fue visto en calor y en otro estudio Galina *et al.* (1990) encontraron ahora que de un hato seleccionado para inseminación artificial pocas vacas fueron observadas en calor en el invierno (21%) comparado con el verano (33%). Estos resultados demuestran que la estación del año pudo afectar el número de animales que pueden ser detectados en calor para su posterior transferencia con embriones en hatos de ganado Cebú y sus diferentes cruzamientos.

También se está de acuerdo que la duración del estro es corto en ganado *Bos indicus* (Galina y Arthur, 1990). Obviamente, los breves periodos de observación, el observador ocasional tiene dificultades, así Orihuela *et al.* (1989) encontraron que observando vacas por 15 minutos en la mañana y 15 en la tarde solo fueron capaces de detectar un 30% de las vacas en comparación con observación continua. Aparte de esto existe información que sugiere un fracaso del hombre para registrar los signos de estro en ganado Cebú más que del fracaso de la vaca para expresar signos de estro (Galina, 1995). Esta información esta de

acuerdo en el caso del productor 7 en cuyo lugar se detectaron el 33% de vacas en calor, a pesar de existir 2 personas para esta función. Los observadores tuvieron datos contradictorios en la detección de calores de las vacas y aún así, posteriormente durante la revisión mediante palpación rectal, las vacas que ellos detectaron en estro no fueron confirmadas por el exámen rectal.

Debido a ejemplos como el anterior, en este estudio se observan variadas respuestas debidas seguramente a las diferentes condiciones de manejo en la detección de calores de cada productor, razas de ganado, época del año, considerandose como los principales factores que afectan un programa de sincronización. Además se debe considerar que para tener un exitoso programa de sincronización es necesario prestar muchísima atención al manejo y a la buena nutrición. Además las vacas posparto deben estar ciclando y las novillonas en caso de emplearlas deben estar listas en edad y peso. Los agentes farmacológicos a base de progestágenos son muy útiles en los programas de sincronización pero no pueden reemplazar al buen manejo.

Otro factor que pudiera justificar el número tan elevado de hembras receptoras utilizadas fue que en la mayoría de los productores el número de probables receptoras la selección fue hecha en base al ganado que conformaba sus hatos y que a la fecha de la evaluación dentro de los diferentes hatos eran vacas que no se encontraban gestantes independientemente de contar con la presencia de toros responsables de la reproducción. Posiblemente algunas de éstas vacas tenían dificultades para quedar gestantes. Sin embargo es necesaria mas información al respecto de las causas por las cuales dichas hembras no estan gestantes, si ésto es debido a la época del año o son las hembras con mayor dificultad para quedar gestantes. Por otro lado es importante considerar la responsabilidad implicada en gran proporción por el personal empleado en la detección de calores por parte de los ganaderos en las zonas tropicales en relación a sus diferentes sistemas de manejo ya que esto también influyó para que el número de hembras sincronizadas se incrementará, por el porcentaje de hembras sincronizadas y que no fueron detectadas en calor independientemente de los diversos grados de tecnificación de cada rancho.

Así mismo, es importante considerar que se debe de tener presente que al iniciar un programa de sincronización para implementar un programa reproductivo como lo la transferencia de embriones debe ser considerado un número mayor de hembras receptoras con respecto al número de embriones a transferir, debido a la individualidad de respuesta a los fármacos sincronizadores, al temperamento de la raza, condición corporal y alimentación.

Es conveniente mencionar que originalmente se diseñó que las receptoras que se les transfiriera un embrión fueran sangradas para evaluar a través del plasma sanguíneo los niveles de progesterona producidos por el C.L. y evaluar el índice de gestación posterior a la transferencia y asimismo correlacionarlo con la palpación rectal. Desafortunadamente las muestras sanguíneas que fueron tomadas posterior a la transferencia y al día 21 por cuestiones de manejo y distancias entre los productores las muestras permanecieron ± 8 hr en una nevera para después centrifugarlas y se decidió que las muestras pudieron haber sufrido alguna disminución en los niveles de progesterona debido al tiempo que estuvieron en refrigeración (Pulido *et al.*, 1991), por lo cual se tomó la decisión de eliminar las muestras.

En base a lo anterior, el criterio de la transferencia de los embriones se realizó a través de la palpación rectal, con la dificultad en la precisión que esto implica (Pathiraja *et al.*, 1986), así por ejemplo, Plasse *et al.* (1970) manifiestan que la detección de un C.L. en ganado Brahman (*Bos indicus*) es más difícil que en vacas *Bos taurus* tipo europeo, debido a que en estas vacas el C.L. está encajado más profundamente y en muchos casos se extiende solo levemente por encima de la superficie del ovario; fenómeno que ha sido confirmado por Randel (1978) y Aguilar *et al.* (1983), quienes afirman que el tamaño y peso del C.L. en vacas *Bos indicus* es menor que en animales *Bos taurus*. Así de 262 vacas, que fueron examinadas por vía rectal momentos antes de entrar al sacrificio y luego del mismo observados los órganos reproductivos, se comprobó en Simmentals alemanas que el 19.1% de lo determinado por palpación rectal en el ovario fue incorrecto (Horing, 1978). A su vez, Perjes *et al.* (1979) en 100 vacas que fueron sujetas a palpación rectal una vez antes de entrar al rastro para ser sacrificadas, obtuvieron una exactitud de 93.7% en el diagnóstico

del estado del útero y un 62% en el estado funcional del ovario con relación al ciclo estral, de acuerdo a los hallazgos posmortem. Body y Munro (1979) en 51 vacas lecheras *Bos taurus*, observaron que la relación entre los hallazgos a la palpación rectal y los niveles de progesterona fueron compatibles en un 77%, y posteriormente Watson y Munro (1980) estudiando vacas Holstein, encontraron que solo el 84% de los C.L. diagnosticados por palpación rectal coincidieron con la presencia de tejido luteínico activo, evidenciado por los niveles altos de progesterona circulante. Todo esto representa que la probabilidad de haber eliminado vacas que no manifestaran calor pero que tuvieran C.L. y no se hallan detectado a la palpación rectal, y de igual forma aquellas vacas que manifestaran conducta de celo sin la formación de C.L. realmente se encontraría un porcentaje bajo de error. Al respecto, Nelson y Nelson (1985) encontraron que la palpación de receptoras no detectadas en estro y de igual forma áquellas detectadas en estro con C.L. cuestionable, resultan en una alternativa para la transferencia de embriones congelados con una moderada tasa de gestación (37%).

De los resultados obtenidos con respecto a las diferencias entre razas, es decir, las vacas receptoras Cebú del CEIEGT y las razas y genotipos de los productores esta explicado por los hechos que solo las vacas Cebú recibieron embriones sobre los días 8 (8.33%) y 9 (0%); Sin embargo, al observar los datos, esto es claro que el promedio de la tasa de gestación sobre los días 8 (12/1) y 9 (2/0) fue más baja que para el día 7 (83/24(28.9%), no encontrándose diferencias significativas; esto esta explicado en estudios de transferencia de embriones en ganado bovino que evidencia una proporción amplia que el establecimiento de la gestación depende en una sincronía muy cerrada entre la etapa del embrión y la correspondiente etapa de desarrollo del útero de la receptora (Zavy, 1994). Los presentes resultados concuerdan en un estudio hecho por Rowson *et al.* (1969), quien encontró una sincronía exacta tiende a resultar en una mayor tasa de gestación; además mostró que una desviación de ± 2 días puede resultar en gestación, este es el caso donde debido al pequeño número de embriones transferidos sobre el día 9 no resultó en gestación. Más tarde, Rowson *et al.* (1972) mostraron que hubo una declinación dramática en la tasa de gestación entre receptoras que recibieron embriones de donadoras que fueron sincronizadas exactamente (91%) y donadoras que tuvieron ± 1 día de asincronía con los

hembras receptoras (52 a 57%). Sin embargo, estos datos obtenidos en el segundo estudio no son aplicables para todas las situaciones en las que se maneje una asincronía entre el desarrollo del embrión con respecto a la receptora. Tal es la relación obtenida en este estudio donde se encontró una disminución en la tasa de gestación del 29% cuando existió un día de asincronía de las receptoras en relación al desarrollo del embrión. Generalmente, hoy en día se esta de acuerdo que los mejores resultados con transferencia de embriones son obtenidos cuando existe una adecuada sincronización entre el desarrollo del embrión y la etapa de desarrollo del útero de la receptora (Thibier y Nibart, 1992; Zavy, 1994). Por otro lado otros estudios apoyan la necesidad de una sincronía tan cerrada (± 1 día) del ciclo reproductivo de la receptora y desarrollo del embrión para el éxito del mantenimiento de una gestación seguida de la transferencia de embriones (Rowson *et al.*, 1969; Betteridge *et al.*, 1980). Así mismo, hay clara evidencia que la tasa de gestación declina con el grado de asincronía pero como énfasis en una revisión realizada por Seidel (1980) existe una tolerancia de 1.5 día en ambas direcciones. Sin embargo, hay pocos reportes y existen conflictos en los resultados relacionandolos con la etapa del ciclo estral al tratamiento, el agente sincronizador y la interacción de la etapa con el agente (Louis *et al.*, 1974; Cooper, 1974; Newcomb, 1975; Jhonson, 1978; Jackson *et al.*, 1979; Refsal y Seguin, 1980; Stevenson *et al.*, 1984; Tanabe y Hann, 1984; Deaver *et al.*, 1986). Por otro lado, es importante considerar los resultados con otro estudio hecho por Coleman *et al.* (1987) que encontraron que hay un efecto lineal significativo de la etapa del ciclo estral de la receptora al día de la transferencia expresado como un 9.1% de baja tasa de gestación conforme avanza cada día sobre el día 6.

Interesante resulta el hecho de aquellas vacas que tuvieron problemas nutricionales y durante el intervalo postparto pierden peso durante la gestación o en el comienzo de los ciclos estrales; también pueden tener una tasa de gestación reducida después de recibir un embrión viable. En un estudio realizado por Mapletoft *et al.* (1986), la condición corporal de las receptoras fue evaluada en el momento de la transferencia de embriones en una escala de 1 (delgada) al 5 (gorda); las tasas de gestación fueron significativamente más altas en las receptoras que registraban 3 y 4 que en aquellas que registraban 1, 2 ó 5. Esto esta de

acuerdo con los resultados obtenidos en este estudio donde el coeficiente de correlación entre la tasa de gestación y la condición corporal e evaluada con la misma escala que va del 1 al 5 fue altamente significativo ($P < 0.005$), y por ende, se consideró que las receptoras muy delgadas presentan una tendencia a tener una reducida tasa de gestación.

Dentro de los productores (4 y 5) que tuvieron como práctica de manejo constante una suplementación de concentrado y que siguieron las instrucciones al ingresar al programa de transferencia de embriones se encontró una alta significancia sobre la tasa de gestación con respecto a los otros productores que no fueron capaces de mantener un programa constante de suplementación. Sin embargo, esto fue debido a que los requerimientos de alimento son bastantes altos y el costo beneficio sobrepasa la situación de los productores en sus hatos. Por lo tanto, la cantidad y calidad de forraje disponible influyó grandemente en la estrategia de suplementación cuando se intentó incrementar la condición corporal. Estas observaciones están de acuerdo con los resultados encontrados por Spitzer, 1986 y Herd y Sprat, 1986. Cabe mencionar que durante el año que se realizó la transferencia de embriones existió una sequía bastante prolongada ocasionando un costo extra de suplementación que no estaba presupuestado por los productores originando ésto una falta de continuidad en la dieta con seguros cambios metabólicos en el animal. En efecto Rubio *et al.* (1994) encontraron que los cambios de dieta originan un desbalance metabólico que puede afectar el balance energético originando una baja eficiencia reproductiva.

Se conoce que bajo condiciones prácticas de explotación, una alta proporción de vacas se encuentran en anestro al inicio de la época de empadre, dependiendo principalmente del estado nutricional ya que los niveles bajos de energía durante el crecimiento, antes y después del parto, inhiben la aparición del estro y reducen la fertilidad en los pocos animales que lo presentan bajo éstas condiciones nutricionales deficientes (Numan, 1987; Williams, 1989). Por lo tanto, en este estudio se les recomiendo iniciar la suplementación un mes antes de iniciar el proceso de sincronización para que ganaran peso previniendo que durante el transcurso del experimento, los animales se encontraran con una sequía muy marcada. En efecto McDowell (1985) ha demostrado que la suplementación debe considerarse como una estrategia en beneficio de la eficiencia reproductiva del hato, debiéndose considerar el tipo y

duración de la suplementación y la finalidad zootécnica. Es innegable que las marcadas fluctuaciones en la disponibilidad alimenticia del forraje durante las diferentes épocas del año bajo condiciones de pastoreo en el trópico, son muy comunes y presentan variaciones de producción de forraje debido principalmente a la precipitación y temperatura. Por lo tanto, se considera de primordial importancia que las vacas que reciben un embrión requieren de una mayor demanda de energía que debe ser proporcionada a través de la suplementación a base de concentrado, ya que las condiciones impredecibles que se presentan en el trópico a través del año tiene un efecto detrimental sobre la condición corporal de las vacas al inicio de la gestación, por lo cual dichas receptoras probablemente sin la suplementación entrarían en un balance energético negativo, independientemente de la alimentación que les proporciona. Además de los factores mencionados, el pastoreo extensivo en época de sequía afecta considerablemente el suelo por lo que es importante crear conciencia y responsabilidad en los ganaderos de las zonas tropicales al tratar de implementar una tecnología de vanguardia en reproducción, como lo es la transferencia de embriones, la importancia que esto significa con respecto al manejo general que emplean en sus hatos, el cual es a base de libre pastoreo lo cual reduce las posibilidades de éxito en las receptoras que se les transfieren embriones.

Dentro de las innovaciones tecnológicas que presenta la industria de la transferencia de embriones es la fertilización *in vitro*, representa hoy en día una mayor producción de embriones en relación con los sistemas tradicionales de producir embriones *in vivo*. Aunque la viabilidad de embriones producidos *in vitro* quizá sea inferior a los producidos *in vivo*. Con esto la posibilidad de producción de ganado por transferencia de embriones *in vitro* fue confirmada satisfactoriamente en un estudio realizado por Takeda *et al.*, (1991) que encontraron con embriones producidos mediante esta técnica un 46.7% de gestaciones transferidos por el método transvervical al día 7 del ciclo estral, resultado que supera lo obtenido en este estudio que fue del 25.8%.

Para embriones frescos está bien establecido que la probabilidad de gestación está altamente relacionada con la calidad morfológica de los embriones (Wright, 1985; Hasler *et al.*, 1987). Sin embargo, una comparación de los resultados de gestaciones logradas entre

embriones frescos y criopreservados basados en su grado de calidad antes de la congelación sugiere que esta conclusión no puede ser justificada, esto es, porque el porcentaje de gestación de embriones congelados es en realidad menor que el de los frescos; pero la proporcionalidad de gestación con respecto al grado del embrión parece ser la misma para ambos embriones (Leibo, 1986); esto esta de acuerdo a los resultados obtenidos al correlacionar la calidad/etapa de los embriones y la tasa de gestación que resultó no ser significativa para embriones criopreservados en este estudio ($P > 0.05$).

A este respecto, Seidel (1989) evaluó la tasa de gestación producida a través de transferencia de embriones en las regiones centro de México, tuvieron un bajo porcentaje de gestación debido a las variables de manejo de las receptoras en climas que van de áridos a tropicales e incluyendo la inexperiencia en la preparación del ganado para recibir un embrión. En éste estudio se encontró una tasa de gestación para el año de 1987 con embriones frescos y embriones criopreservados del 30.4% y 17.7% respectivamente y para el siguiente año observaron un 54.5% y 47.7% para ambos tipos de embriones, observandose un incremento a través del tiempo.

Cabe mencionarse que para los inicios de los 80's algunas compañías de transferencia de embriones reportaron tasas de gestaciones para embriones bovinos criopreservados del 50% (Shea *et al.*, 1983; Pettit, 1985; Wright, 1985). El primer lugar en tecnología de criopreservación digno de confianza hacia el desarrollo rápido de un comercio internacional en embriones congelados; la tasa de gestación excede el 60% en algunos casos (Voss *et al.*, 1986; Thibier y Nibart., 1987; Munar y Hasler, 1989), siendo inferior la tasa de gestación al comparar el resultado obtenido en este estudio con los estudios anteriores.

La utilización de Norgestomet como sincronizador de estros fue indicada por el conocimiento de que éste producto ocasiona una muy cerrada sincronización en lotes grandes de receptoras, en efecto en un estudio realizado por Mapletoft (1987) en los E.U. la tasa de gestación de 2092 receptoras sincronizadas con Norgestomet no mostró diferencia alguna con respecto a 1380 receptoras que mostraron celo natural. Dichos resultados difieren a los encontrados en este estudio donde las vacas sincronizadas con éste progestágeno tuvieron una mejor tasa de gestación que aquellas vacas que manifestaron

estros naturales 37.1 vs 19.4% respectivamente ($P < 0.05$). Sin embargo están de acuerdo a lo encontrado en un estudio realizado por Hasler (1987) quien sincronizó vaquillas con prostaglandinas $F_{2\alpha}$ y exhibieron una alta tasa de gestación posterior a la transferencia de embriones comparado con vaquillas receptoras en estros naturales.

El sistema de transferencia de embriones de un solo paso "one step" patentado por Leibo (1984) elimina la necesidad de usar un microscopio, descongelando y descargando embriones, rehidratación de ellos y después recargarlos de nuevo dentro de pajillas. Consecuentemente esto elimina la necesidad de un experto técnico especializado, reduce el equipo y ahorra tiempo. Esta técnica no ha sido extensamente adoptada por la industria de la transferencia de embriones probablemente porque la tasa de gestación fluctúa entre 26 y 42 % (Leibo, 1984; Leibo, 1986). Considerado como bajo cuando se compara con la tasa alcanzada con la tecnología tradicional de la industria de transferencia de embriones. Sin embargo, esto puede ser un reflejo de las condiciones bajo las cuales las pruebas de campo fueron realizadas más bien que por el potencial del sistema de congelamiento. La tasa de gestación es aproximadamente del 50% para otros sistemas similares de un paso simple. Bajo las condiciones descritas anteriormente en material y métodos en las cuales se llevó a cabo la transferencia de embriones de un solo paso, el porcentaje de gestación global fue del 25.8% (25/72) irrespectivamente del grupo que pertenecieron.

En el sexado de los embriones la mayoría de las técnicas invasivas requieren tomar una muestra de las células del embrión, aun cuando en la actualidad el número de células necesarias para efectuar el análisis se ha reducido considerablemente (2 ó 3). Dichas técnicas implican la ruptura de la zona pelúcida y debido a la posibilidad de transmisión de enfermedades a través de embriones cuya zona pelúcida no está intacta se dificulta su exportación. También causan una reducción de aproximadamente 10% en los porcentajes de preñez, principalmente si los embriones sexados fueron criopreservados posteriormente. Aún así, las técnicas invasivas son hasta hoy en día el enfoque más preciso (Avery *et al.*, 1989; Avery *et al.*, 1991; Herr y Reed, 1991; Utsumi e Iritani, 1993).

Dentro de los fenómenos más interesantes en bovinos es que la relación de sexos de la descendencia generalmente es 50:50 y encuentran un 80% de exactitud en el sexaje de los

mismos (Seidel y Elsdén, 1989). Resultados superiores en un 10% a éste reporte fué encontrado en el presente estudio, con relación a la exactitud del sexo de los embriones que fueron sometidos a dicha técnica, sin embargo, son similares a lo reportado por Thibier y Nihart (1995). Así mismo, por razones obvias en la producción pecuaria se prefiere el nacimiento de hembras para la producción de leche (Baier y Hagen, 1958), en cuanto al pie de cría de bovinos productores de carne y leche, razas de doble propósito, razas puras, también se desea que nazcan un mayor número de hembras (Bondioli, 1992). Sin embargo, en la transferencia de embriones tanto frescos como criopreservados se encuentran una mayor proporción de crías machos 55.3% y 55.8% respectivamente. Esto esta de acuerdo con los resultados obtenidos en este estudio donde el porcentaje de crías machos obtenidos fue del 56% en relación al de las hembras (44%) con embriones criopreservados. Lo anterior se asemeja a otro estudio realizado por Takeda et al. (1991), donde encontraron una relación de becerros machos y hembras nacidas de 50% y 50% respectivamente. Al respecto, dicha evidencia en relación al sexo concuerda con la relación existente del sexo de las crías hembras y machos, con lo cual se encaminan al propósito zootécnico deseado de cada región.

Por lo tanto, se puede concluir que dada la experiencia del trabajo de campo sera necesario en futuros experimentos que:

a) Considerar el nivel tecnológico de los productores, con lo cual se obtendrá una mayor posibilidad de éxito en programas de transferencia de embriones, esto es, para aquellos que tienen implementada la inseminación artificial como método reproductivo en comparación con los que utilizan la monta natural. Así mismo, se debe contar con la disponibilidad de los productores para aceptar y respetar las disposiciones establecidas al inicio de un programa reproductivo.

b) Para obtener un exitoso programa de sincronización de estros, es necesario prestar muchísima atención al manejo y buena nutrición, además, las vacas posparto deben estar ciclando, ya que los agentes farmacológicos son muy útiles en los programas de sincronización pero no pueden reemplazar al buen manejo.

c) Considerar que la evidencia clínica de estro acompañada de la confirmación de la presencia del C.L. mediante palpación rectal, son los puntos cardinales en que se debe fundamentar la realización de la transferencia de embriones.

d) Se debe tomar en cuenta la época del año para implementar un programa de transferencia de embriones, para así poder estimar imprevistos con respecto a la alimentación de las vacas receptoras, en cuanto a la disponibilidad de forraje y suplementación, lo cual se ve reflejado en las receptoras que responden con una mayor fertilidad cuando son manejadas sobre un plano de incremento nutricional anterior a la transferencia.

e) Se deben tener en consideración cada uno de los manejos a los que son sometidos los embriones antes de ser transferidos, ya que en este estudio se emplearon embriones producidos a través de fertilización *in vitro*, sexados (48%) y la criopreservación por medio de etilenglicol. Ya que realmente las técnicas incluidas dentro del manejo global de éstos embriones a nivel de campo en áreas tropicales es de esperarse una tasa de fertilidad inferior al 50% con respecto a la tecnología tradicional de la industria de transferencia de embriones a través de lavados.

f) Se debe considerar la habilidad y destreza del técnico en materia de transferencia de embriones. Por lo tanto, bajo las condiciones del trópico húmedo se deben tomar en consideración cada uno de los factores antes mencionados para poder implementar un programa de transferencia de embriones y lograr una tasa de gestación aceptable.

LITERATURA CITADA.

1. Aguilar, J.A.: Estudio comparativo de los ovarios de la vaca Cebú y la vaca Holstein Tesis de Licenciatura. FMVZ, UNAM. México, D.F. (1980).
2. Ames, D.R. y Ray, D.F.: Environmental manipulation to improve animal productivity. *J. Anim. Sci.* 57 (Suppl 2):209-220 (1983).
3. Anderson, J.: The periodicity and duration of oestrus in Zebu and grade cattle. *Journal of Agricultural Science, Cambridge* 34:57-67 (1944).
4. Aoyagi, Y., Fukui, Y., Iwazumi, M., Minegishi, Y. y Ono, H.: Effects of culture system on development of in vitro-fertilized bovine ova into blastocysts. *Theriogenology* 31:168 (1989).
5. Avery, B., Bak, A. y Schmidt, M.: Differential cleavage rates and sex determination in bovine embryos. *Theriogenology* 35:139 (1989).
6. Avery, B., Madison, V. y Greve, T.: Sex and development in bovine in-vitro fertilized embryos. *Theriogenology* 35:953 (1991).
7. Ayalon, N.: A review of embryonic mortality in cattle. *J. Reprod. Fert.* 54:483-493 (1978).
8. Beal, W., Good, G. y Peterson, L.: Estrus synchronization and pregnancy rates in cyclic and noncyclic beef cows and heifers treated with Synchronate-B or Norgestomet and Alfaprostol. *Theriogenology* 22:59-65. (1984).
9. Biggers, B.G., Geisert, R.D., Wettman, R.P. y Buchanan, D.S.: Effect of heat stress on early embryonic development in the beef cow. *J. Anim. Sci.* 64:1512-1518 (1987).
10. Bondioli, K.R., Ellis, S.B., Pryor, J.H., Williams, M.V. y Harpold, M.M.: The use of male-specific chromosomal DNA fragments to determine the sex of bovine preimplantation embryos. *Theriogenology* 31:95-104 (1989).
11. Bondoc, O.L., Smith, C. y Gibson, J.P.: A review of breeding strategies for genetic improvement of dairy cattle in developing countries. *Anim. Breed. Abst.* 57:819-829 (1989).
12. Boyd, H.: Anoestrus in cattle. *Vet. Rec.* 100:150-153 (1977).
13. Boyd, H. y Munro, C.D.: Progesterone assays and rectal palpation in pre-service management of dairy herd. *Vet. Rec.* 104:341-343 (1979).
14. Brackett, B.G., Bousquet, D., Boice, M.L., Donawick, W.J., Evans, J.F. y Dressel, M.A.: Normal development following in vitro fertilization in the cow. *Biol. Reprod.* 27:147 (1982).
15. Brackett, B.G., Keefer, C.L., Troop, C.G., Donawick, W.J. y Bennett, K.A.: Bovine twins resulting from in vitro fertilization. *Theriogenology* 21:224 (1984).

16. Brackett, B.G., Younis, A.I. y Fayrer-Hosken, R.A.: Enhanced viability after in vitro fertilization of bovine oocytes matured in vitro with high concentrations of luteinizing hormone. *Fertil Steril* 52:119 (1989).
17. Brackett, B.G. y Zuelke, K.A.: Analysis of factors in the in vitro production of bovine embryos. *Theriogenology* 39:43-64 (1993).
18. Britt, J.H. y Roche, J.F.: Inducción y sincronización de la ovulación. En: Reproducción e Inseminación Artificial en Animales. Ed. Interamericana. México. pp 521-534 (1985).
19. Broadbent, P.J., Topps, J.H. y Dolman, D.F.: The effect of undernutrition during winter on the performance of beef cows and their autumn born calves. En: Rose, Mary (de.) Herbivore Nutrition Research. Second International Symposium on the Nutrition of the Herbivores. Occasional publication of the Australian Society of Animal Production. pp. 171-172 (1987).
20. Broadbent, P.J., Stewart, M. y Dolman, D.F.: Recipient management and embryo transfer. *Theriogenology* 35:125-139 (1991).
21. Buvanendran, V. y Mahadevan, P.: El mestizaje para la producción de leche en Sri Lanka. *Revista Mundial de Zootecnia* 15:7 (1975).
22. Castillo, R.H.: Observaciones sobre la eficiencia reproductiva de ganado lechero de las razas Holstein-Friesian y Suizo Pardo importado de E.U. y Canadá al trópico mexicano. *Tec. Pec. Méx.* 22:32-33 (1972).
23. Coleman, D.A., Dailey, R.A., Leffel, R.E. y Baker, R.D.: Estrous synchronization and establishment of pregnancy in bovine embryo transfer recipients. *J. Dairy Sci.* 70:858 (1987).
24. Corro Morales, M. D.: Efecto de la suplementación mineral preparto sobre el comportamiento reproductivo y productivo posparto en vacas Holstein x Cebú en el trópico húmedo. Tesis de Maestría. FMVZ. UNAM. (1992).
25. Cunningham, E.P.: The genetic component of cattle in developing countries. *Theriogenology* 31:17 (1989).
26. Darrow, M.D.: Transfer of imported embryos to Zebu recipients in tropical Venezuela. *Theriogenology* 34: 23 (1987).
27. De Alba, J.: Progress in the selection of the Latin American Dairy Criollo. *World Anim. Rev.* 28:26-30 (1978).
28. De Dios, V.O., Johnson, H.D. y Patterson, L.D.: El ganado Holstein en el trópico húmedo mexicano I. Condiciones meteorológicas por época y circadianas en relación a la producción de leche. *Rev. Univ. Cien.* 4:13-24 (1987).
29. De la Fuente, D.: La producción láctea en áreas tropicales. La Gaceta. Editada por el Instituto Nacional de la Leche. SARH. Tercer año, núm. 36. (1982).

10. Deresz, F., Javne, C.M., De Carvalho, M.R. y Gonzalez, C.A. The effect of body weight at calving on milk production and reproductive performance of Friesian x Zebu heifers. *Anim. Prod.* 45:325-333 (1987)
31. Dobrinsky, J.R., Stice, S.L., Phillips, P.E., Doby, R.T. y Robl, J.M. Development of IVM-IVF bovine embryos following vitrification dilution treatments. *Theriogenology* 37:202 (1992)
32. Dominko, T. y First, N.L.: Kinetics of bovine oocyte maturation allows selection for development competence and is affected by gonadotrophins. *Theriogenology* 37:203 (1992).
33. Ducker, M.J., Haggett, R.A., Fisher, W.J., Morant, S.V. y Bloomfield, G.A. 1.: The effect of level of feeding in late pregnancy and around the time of insemination on the reproductive performance of first lactation dairy heifers. *Anim. Prod.* 41:1-12 (1985).
34. Dziuk, P.J. y Cook, B.: Passages of steroids through silicone rubber. *Endocrinology* 78:208-211 (1966).
35. Edmonson, A.J., Lean, I.J., Weaver, L.D., Farver, T. y Webster, G.: A Body Condition Scoring Chart for Holstein Cows. *J. Dairy Sci.* 72:68-78 (1989).
36. Elsdén, R.P.: Embryo collection by surgical methods. Page 10 in Embryo Transfer in Farm Animals. A Review of Techniques and Applications. Monogr. No. 16. Agric. Canada, Ottawa, ON. (1977).
37. Escobar, F.J., Jara, L.C., Galina, C. y Fernández-Baca, S.: Efecto del amamantamiento sobre la actividad reproductiva posparto en vacas Cebú, Criollas y F₁ (Ho/Ce) en el trópico húmedo de México. *Vet. Méx.* 15:243-247 (1984).
38. Etherington, W.G. y Bosu, W.T.K.: Reproductive performance in dairy cows following postpartum treatment with gonadotropin-releasing hormone and/or prostaglandin: A field trial. *Can. J. Comp. Med.* 48:245-250 (1984).
39. Fallas, R.A.: Estudio de la involución uterina y el reinicio de la actividad ovárica después del parto en vacas F₁ (Holstein x Cebú) en el trópico húmedo de México. Tesis de Doctorado. FMVZ. unam. México (1987).
40. First, N.L.: New animal breeding techniques and their application. *J. Reprod. Fert. Suppl.* 41:3-14 (1990).
41. Fehilly, B.C. y Willadsen, S.M.: Embryo manipulation in farm animal. *Theriogenology* 23:208-209 (1985).
42. Ferguson, J.D.: Nutrition and Reproduction in Dairy Cows. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 7:483-507 (1991).
43. Foot, R.H.: Sex ratios in dairy cattle under various conditions. *Theriogenology* 8:349 (1977).
44. Fukada, Y., Ichikawa, K., Naito, K. y Toyoda, Y.: Birth of normal calves resulting from bovine oocytes matures, fertilized and cultured with cumulus cells in vitro up to the blastocyst stage. *Biol. Reprod.* 42:114-119 (1990).

45. Fukui, Y.: Effects of sera and steroid hormones on development of bovine oocytes matured and fertilized in vitro and co-cultured with bovine oviduct epithelial cells. *J. Anim. Sci.* 67:1318-1323 (1989).
46. Fukui, Y., McGowan, L.T., James, R.W., Pugh, P.A. y Tervit, H.R.: Factors affecting the in-vitro development to blastocyst of bovine oocytes matured and fertilized in vitro. *J. Reprod. Fert.* 92:125-131 (1991).
47. Fukushima, M., Shioya, Y., Kuwayama, M., Iwasaki, S. y Hanada, A.: Effects of gonadotropins and estradiol added into maturation medium of bovine oocytes in vitro on the subsequent capacity for fertilization and embryonic development. *Jpn. J. Anim. Reprod.* 37:127-132 (1991).
48. Gaines, J.: The relationship between nutrition and fertility in dairy herds. *Food Animal Practice. Vet. Med.* pp. 997-1002 (1989).
49. Galina, C.S., Orihuela, A., Duchateau, A., Navarro-Fierro, R.: Reproductive performance of Zebu cattle in Mexico using Artificial Insemination. *Veterinary Clinics of North America* 3:619-632 (1987).
50. Galina, C.S. y Arthur, G.: Review of cattle reproduction in the tropics. Part 2. Parturition and Calving Intervals. *Anim. Breed. Abst.* 57:679-686 (1989b).
51. Galina, C. y Arthur, G. Review of cattle reproduction in the tropics. Part 4. Oestrous Cycles. *Anim. Breed. Abst.* 58:697-707 (1990).
52. Galina, C.: Reproductive performance of cattle raised under different environmental conditions with special emphasis on tropical Latin America. En: Proceedings of a regional seminar held by the International Foundation for Science (IFS) Niamey, Niger pp. 67-78 (1994).
53. García, A.F., Soto, A.V. y Dorado, R.M.: Influencia de la distribución estacional de los partos en la producción de leche. *Rev. Cub. Prod. Anim.* 1(1):53-60 (1985).
54. García, B.C. y Montemayor, D.: Importancia de la suplementación mineral en la productividad de bovinos en pastoreo. V. Simposium Internacional Sobre Ganadería. Mejoramiento genético a través de inseminación artificial y transferencia de embriones. Chihuahua, México. Memoria. pp. D1-D23 (1987).
55. Gody R.P. y Smith, J. K.: Applied statistics and the SAS programming language. Third Ed. Rentice Hall, Englewood Cliff, N.J. USA. (1991).
56. González, P.E., Ruiz, D.R. y Wiltbank, J.N.: Inducción y sincronización del estro en vaquillas prepúberes mediante la administración de estrógenos y progestágenos. *Tec. Pec. Méx.* 28:17-22 (1975).
57. González-Stagnaro, C.: Edad y peso al 1er. servicio y al 1er. parto en novillas mestizas. *Memorias Asoc. Lat. Prod. Anim.* 81, México (1986).
58. Gordon, I. y Lu, K.H.: Production of embryos in vitro and its impact on livestock production. *Theriogenology* 33:77-87 (1990).

59. Goto, K., Kajihara, S., Kosaka, S., Koba, M., Nakanishi, Y. y Ogawa, K.: Pregnancies after co-culture of cumulus cells with bovine embryos derived from in vitro fertilization of in vitro matured follicular oocytes. *J. Reprod. Fert.* 83:753-758 (1988).
60. Goto, K., Iwai, N., Takuma, Y. y Nakanishi, Y.: Co-culture of in vitro fertilized bovine embryos with different cell monolayers. *J. Anim. Sci.* 70:1449-1453 (1992).
61. Greve, T. y Del Campo, M.: Embryo loss following embryo transfer in cattle and swine. En: Sreenan, J.M. y Diskin, M.G. (Eds) *Embryonic Mortality in Farm Animals*. Martinus Nijhoff for Eec. pp. 179-194 (1986):
62. Hanada, A., Shioya, Y. y Suzuki, T.: Birth of calves after transfer of bovine embryos produced by in vitro fertilization of in vitro-matured oocytes. *Proc. 78th Meeting, Jpn. Soc. Zootech. Sci.* pp. 18 (1986).
63. Hare, W.C.D., Mitchell, D., Betteridge, K.J., Eaglesome, M.D. y Randall, G.C.B.: Sexing two-week-old bovine embryos by chromosomal analysis prior to surgical transfer: preliminary methods and results. *Theriogenology* 5:243 (1976).
64. Hasler, J.F., McCauley, A.D., Lathrop, W.F. y Foote, R.H.: Effect of donor-embryo-recipient interactions on pregnancy rate in a large-scale bovine embryo transfer program. *Theriogenology* 27:139 (1987).
65. Hasler, J.F.: Current status and potencial of embryo transfer and reproductive technology in dairy cattle. Symposium: Reproductive technology and genetic improvement. *J. Dairy Sci.* 75:2857-2879 (1992).
66. Hawk, H.W.: Infertility in dairy cattle. En: Beltsville Symposia In Agricultural Research. 3. Animal Reproduction. Ed. H.W. Hawk, Allanheld, Osmun and Co., Montclair, N.J. p. 19-29. (1979).
67. Heersche, G., Kiracofe, G., Debenedetti, R., Wen, S. y McKee, R.: Synchronization of estrus in beef heifers with a Norgestomet implant and Prostaglandin F_{2α}. *Theriogenology* 11:197-208 (1979).
68. Hernández, E., Mondragón, I., Rivera, J. y Velázquez, A.: Influencias ambientales sobre algunas características reproductivas de un hato lechero en el oriente de Yucatán. *Memorias Asoc. Lat. Prod. Anim.* 86 México (1982).
69. Herr, C.M. y Reed, K.C.: Micromanipulation of bovine embryos for sex determination. *Theriogenology* 35:45 (1991).
70. Horing, B.: Accuracy of determination of ovarian status in cows by means of rectal examination. Thesis, Tierärztliche Hochschule Hannover, German Federal Republic (Abstrac) (1978).
71. Hunter, R.H.F.: *Physiology and technology of reproduction in females domestic animals*. Academic Press Inc. (London) (1980).
72. Ireland, J.J. y Roche, J.F.: Effect of progesterone on basal L.H. and episodic L.H. and F.S.H. secretion in heifers. *J. Reprod. Fert.* 64:295-302 (1982).

73. Kajihara, Y., Kometani, N., Kobayashi, S. y Shitanaka, Y.: Pregnancy rates and births after co-culture of cumulus cells with bovine embryos derived from in vitro fertilization of in-vitro matured follicular oocytes. *Theriogenology* 33:264 (1990).
74. Kajihara, Y., Kometani, N., Shitanaka, Y. y Saito, S.: Pregnancy rates and births after the direct transfers of frozen-thawed bovine IVF embryos. *Theriogenology* 37:233 (1992).
75. Katpatal, B.G.: Dairy cattle crossbreeding in India 1: Growth and development of crossbreeding. *World Anim. Rev.* 22:15-21 (1977).
76. Kesler, D.J. y Troxel, T.R.: Estrus synchronization in cattle. *Veterinary Professional Topics: Cattle* 9:1-6 (1983).
77. Kim, C.L., Ellington, J. E. y Foote, R.H.: Maturation, fertilization and development of bovine oocytes in vitro using TCM199 and a simple defined medium with co-culture. *Theriogenology* 33:433 (1990).
78. King, W.A.: Intrinsic embryonic factors that may affect survival after transfer. *Theriogenology* 23:161-174 (1985).
79. King, K.K., Seidel, G.E. Jr. y Elsdén, R.P.: Bovine embryo transfer pregnancies. 1. Abortion rates and characteristics of calves. *J. Anim. Sci.* 61:758 (1985).
80. Koppel, R.W., Padilla, R.F., Hernández, L.J., Román, P.H., Pérez, S.J. y Castillo, R.H.: Comportamiento reproductivo del ganado bovino lechero en clima tropical 4. Duración del estro, ovulación y respuestas fisiológicas en tres genotipos en dos épocas del año. *Tec. Pec. Méx.* 47:71-77 (1984).
81. Kraemer, D.C. y Dorn, C.G.: Bovine embryo transfer. *Laboratory Manual. Reproductive Sciences Laboratory*. Texas A&M University. College Station, Texas. (1989b).
82. Kraemer, D.C. y Dorn, C.G.: Bovine embryo grading. *Laboratory Manual. Reproductive Sciences Laboratory*. Texas A&M University. College Station, Texas. (1989c).
83. Landivar, C., Galina, C.S., Duchateau, A. y Navarro-Fierro, R.: Fertility trial in Zebu Cattle after a natural or controlled estrus with prostaglandin F2 alpha, comparing natural mating with artificial insemination. *Theriogenology* 23:421-429 (1985).
84. Leaver, J.D.: Rearing of dairy cattle. 7. Effect of level of nutrition and body condition on fertility of heifers. *Anim. Prod.* 25:219-224 (1977).
85. Lehn-Jensen, H.: Cryopreservation of bovine embryos. A/S Carl Fr. Mortensen, Copenhagen. (1986).
86. Leibo, S.P.: A one-step method for direct non-surgical transfer of frozen-thawed bovine embryos. En: *Proc. Int. Congr. Embryo Transfer in Mammals*. Annecy, France. pp. 97 (1982).
87. Leibo, S.P.: Embryo transfer method and apparatus. Rio Vista Int., Inc., assignee. US Pat. No.4:380,997 (1983).
88. Leibo, S.P.: A one-step method for direct nonsurgical transfer of frozen-thawed bovine embryos. *Theriogenology* 21:767 (1984).

89. Leibo, S.P.: Commercial production of pregnancies from one-step diluted frozen-thawed bovine embryos *Theriogenology* 25:166 (1986)
90. Leibo, S.P.: Criobiology preservation of mammalian embryos. En. Genetic Engineering of Animals J.V. Evans and A. Hollaender, eds. Plenum Publ. Corp. pp. 251-272 (1986).
91. Leibo, S.P. y Loskutoff, N.M.: Cryobiology of in vitro-derived bovine embryos. *Theriogenology* 39:81-94 (1993).
92. Lemka, L., McDowell, R.E., Vleck, L.D., Ghus, H.A. y Salazar, J.J.: Reproductive efficiency and viability in two Bos indicus and two Bos taurus breeds in the tropics of Indian and Colombia. *J. Anim. Sci.* 36:652-654 (1972).
93. Letenneur, L.: Crossbreeding N Dama and Jersey cattle in Ivory Coast. *World Animal Reviews* 27:36-42 (1978).
94. Lohuis, M.M.: Potencial benefits of bovine embryo-manipulation technologies to genetic improvement programs. *Theriogenology* 43:51-60 (1995)
95. Lowman, B.G., Scott, N.A. y Somerville, S. H.: Condition scoring of cattle. Bull. No. 6. East of Scotland College of Agric., Anim. Prod., Advisory Dev. Dep. (1973).
96. Lowman, B.G.: Feeding in relation to suckler cow management and fertility. *Vet. Rec.* 117:80-85 (1985).
97. Lu, K.H., Gordon, I., Chen, H.B., Gallagher, M. y McGovern, H.: Birth of twins after transfer of cattle embryos produced by *in vitro* techniques. *Vet. Rec.* 122:539-540 (1988).
98. Lu, K.H., MacDonnell, H.F. y Gordon, I.: Birth of calves after *in vitro* maturation and fertilization of follicular oocytes. *Theriogenology* 31:222 (1989).
99. Mahon, G.D. y Rawle, J.E.: The export of deep frozen bovine embryos. *Theriogenology* 27:21-35 (1987).
100. Mapletoft, R.J., Lindsell, C.E. y Pawlyshyn, V.: Effects of clenbuterol, body condition, and nonsurgical embryo transfer equipment on pregnancy rates in bovine recipients. *Theriogenology* 25: 172 (1986).
101. Mapletoft, R.J.: Embryo Transfer management: Pharmacologic management of donors and recipients. *Proceedings of a Symposium. 13th. Annual Food Animal Medicine Conference.* pp. 5-13 (1987).
102. Martínez, G.: Efecto de la raza y época del año sobre la involución del útero y actividad ovárica en vacas. *Rev. Cub. Reprod. Anim.* 4:51-57 (1979).
103. Massip, A., Van Der Zwalmen, P., Scheffen, B. y Ectors, F.: Pregnancies following transfer of cattle embryos preserved by vitrification. *Cryo-Letters* 7:270-273 (1986).
104. Mazur, P.: Equilibrium, quasi-equilibrium and nonequilibrium freezing of mammalian embryos. *Cell Biophysics* 17:53-92 (1990).
105. McDowell, L. R.: Minerales para rumiantes en pastoreo en regiones tropicales. Universidad de Florida. Press. USA (1984).

- 106 McDowell, R.E. Meeting constrains to intensive dayring in tropicals areas. Depart of Anim. Sci. Cornell Univ. USA (1985).
107. McDowell, L. R., Conrad, J.H. y Loosli, J.K.: Mineral in balances and their diagnosis rumiants. En: Nuclear and related Thecniques in Animal Production and Health, pp. 521-524 Proceedings of a symposium, Vienna, IEAE and FAO, International Atomic Energy Agency. Vienna (1986).
108. Medrano, E. A., Hernández, O., Lamothe, C. y Galina, C.S.: Evidence of asynchrony in the onset of oestrous signs in Zebu cattle following synchronate B treatment. *Research in Veterinary Science* (1996).
109. Menéndez, A., Morales, J.R., Dora, J., Iglesias, C. y Chávez, H.: Resultados de los servicios de inseminación artificial en ganado vacuno de diferentes razas en las condiciones de Cuba. *Rev. Cub. Reprod. Anim.* 2:38-53 (1975).
110. Morales, T.H., Aguilar, C.J. e Hinojosa, C.J.: Comportamiento reproductivo de un hato Holstein en la Chontalpa, Tabasco I. Intervalo parto-primer servicio e intervalo parto-concepción. *Rev. Vet. Méx.* 12:217-221 (1981).
111. Morales, T.H., Aguilar, C.J. e Hinojosa, C.J.: Comportamiento reproductivo de un hato Holstein en la Chontalpa, Tabasco II. Período de gestación e intervalos entre partos. *Rev. Vet. Méx.* 14:74-79 (1983).
112. Munar, C.J. y Hasler, J.F.: Results of the first frozen bovine embryos exported from the USA to Argentina. *Theriogenology* 31:230 (1989)
113. Nicolas, F.W. y Smith, C.: Increased rates of genetic change in dairy cattle by embryo transfer and splitting. *Anim. Prod.* 36:341 (1983).
114. Niemann, H.: Cryopreservation of ova and embryos from livestock: current status and research needs. *Theriogenology* 35:109-124 (1991).
115. Numan, P.: Fertilidad en vacas al primer, segundo y tercer celo postparto. Escuela de Zootecnia , Universidad de Oriente, Venezuela (1987).
116. Odde, K.G.: A Review of synchronization of estrus in postpartum cattle. *J. Anim. Sci.* 68:817 (1990).
117. Orihuela, A., Galina, C.S. y Duchateau, A.: The efficiency of estrous detection and fertility following synchronization with PGF 2α or Synchronate B in Zebu cattle. *Theriogenology* 32:745-753 (1989).
118. Parrish, J.J., Susko-Parrish, J.L., Leibfried-Rutledge, M.L., Crister, E.S., Eyestone, W.H. y First, N.L.: Bovine in vitro fertilization with frozen-thawed semen. *Theriogenology* 25:591-600 (1986).
119. Pathiraja, N., Oyedipe, E.O., Voh, A.A., y Dawuda, P.M.: Accuracy of rectal palpation in the diagnosis of corpora lutea in Zebu heifers. *British Veterinary Journal* 141:467-483 (1986).
120. Perjes, I., Kocsy, L., Meszaros, J. y Ternoczay, M.: Evaluation of rectal palpation in cattle by means of postmortem studies. *Magyar Allatorvosok Lapja* 34:382-385 (1979).
121. Peters, A.R.: Hormonal control of the bovine oestrous cycle II. Pharmacological principles. *British Vet. J.* 142:20-29 (1986).

122. Pettit, W.H., Jr.: Commercial freezing of bovine embryos in glass ampules. *Theriogenology* 23:13 (1985).
123. Pinyopummintr, T. y Bavister, B.D. In vitro-matured/in vitro-fertilized bovine oocytes can develop into morulae/blastocysts in chemically defined, protein-free culture media. *Biol. Reprod.* 45:736-742 (1991).
124. Plasse, D., Warnick, A.C. y Koger, M.: Reproductive behaviour of *Bos indicus* females in a subtropical environment. IV. Length of the estrous cycle, duration of estrous, time ovulation, fertilization and embryo survival in grade Brahman heifers. *Journal of Animal Science* 30:63-72 (1970).
125. Porras, A.A. y Galina, C.S.: Utilización de Prostaglandina F_{2α} y sus análogos para la manipulación del ciclo estral bovino. *Vet. Méx.* 22:4 (1991).
126. Porras, A.A. y Galina, C.S.: Utilización de progestágenos para la manipulación del ciclo estral bovino. Memorias V Curso Internacional de Reproducción Bovina. A.I.B.I.R., México. pp. 187-192 (1993).
127. Pulido, A., Zarco, L., Galina, C.S., Murcia, C., Flores, G. y Posadas, E.: Progesterone metabolism during storage of blood samples from Gyr cattle: Effects of anticoagulant, time and temperature of incubation. *Theriogenology* 35:965-975 (1991).
128. Pullan, N.B.: Condition scoring of Fulani Cattle. *Trop. Anim. Hlth.* 10:118-120 (1978).
129. Putney, D.J., Thatcher, W.W., Drost, M., Wright, J.M. y DeLorenzo, M.A.: Influence of environmental temperature on reproductive performance of bovine embryo donors and recipients in the southwest region of the United States. *Theriogenology* 30:905 (1988).
130. Rall, W.F. y Fahy, G.M.: Ice-free cryopreservation of mouse embryos at -196°C by vitrification. *Nature* 313:573-575 (1985).
131. Rall, W.F.: Factors affecting the survival of mouse embryos cryopreserved by vitrification. *Cryobiology* 24:387-402 (1987).
132. Rall, W.F. y Leibo, S.P.: Production of sexed bovine pregnancies by cytogenetic analysis of cultured demi-embryos. *Theriogenology* 27:269 (1987).
133. Randel, R.D.: Interrelationship of endocrine and physiological events during the estrous cycle in Brahman cattle. Progress report. Texas A & M University. USA (1978).
134. Reichenbach, H.D., Liebrich, J., Berg, U. y Brem, G.: Pregnancy rates and births after unilateral or bilateral transfer of bovine embryos produced in vitro. *J. Reprod. Fert.* 95:363-370 (1992).
135. Renard, J.P., Heyman, Y. y Ozil, J.P.: Congelation de l'embryon bovine: une nouvelle methode de congelation pour le transfert cervical d'embryons conditionnes ne seule fois en paillettes. *Ann. Med. Vet.* 126:23-32 (1982).
136. Richards, M.W., Gisert, R.D., Rice, L.E., Buchanam, L.S. y Castree, J.W.: Influence of Synchronate B and breed composition on estrous response and pregnancy rate in spring and fall-breed Brahman crossbreed beef cows. *Theriogenology* 29:951-960 (1988).

137. Rieger, D., Loskutoff, N.M. y Betteridge, K.J.: Developmentally related changes in the metabolism of glucose and glutamine by cattle embryos produced and co-cultured in vitro. *J. Reprod. Fert.* 95:585-595 (1992).
138. Rivera, J.A., Anta, E., Galina, C., Porras, A y Zarco, L.: Análisis de la información publicada en México sobre la eficiencia reproductiva de los bovinos III. Factores que la afectan. *Rev. Vet. Méx.* 20:19-25 (1989).
139. Roche, J.F.: Effect of short-term progesterone treatment on oestrous response and fertility in heifers. *J. Reprod. Fert.* 40:433-440 (1974).
140. Rodríguez, F.: Ganado lechero en el trópico. Memorias del VII día del ganadero. CEP La Posta, INIP. Veracruz, Ver. pp. 27-29. (1976).
141. Román-Ponce, H., Thatcher, W.W., Buffington, D.E., Wilcox, C.J. y Van Horn, H.H.: Physiological and production responses of dairy cattle to shade structures in a subtropical environment. *J. Dairy Sci.* 60:424-430 (1978).
142. Román-Ponce, H., Hernández, L.J.J. y Castillo, R.H.: Comportamiento reproductivo de ganado bovino lechero en clima tropical I. Características reproductivas de vacas Holstein y Suizo Pardo. *Téc. Pec. Méx.* 45:21-30 (1983).
143. Rose, T.A. y Bavister, B.D.: Effect of oocyte maturation medium on in vitro development of in vitro fertilized bovine embryos. *Molec. Reprod. Dev.* 31:72-77 (1992).
144. Rowson, L.E.A., Moor, R.M. y Lawson, R.A.S.: Fertility following egg transfer in the cow: effect of method, medium and synchronization of oestrus. *J. Reprod. Fert.* 18:517 (1969).
145. Rowson, L.E.A., Lawson, R.A.S., Moor, R.M. y Baker, A.A.: Egg transfer in the cow: synchronization requirements. *J. Reprod. Fert.* 28:427 (1972).
146. Russell, A.J.F., Doney, J.M. y Gunn, R.G.: Condition scoring in sheep. *Journal of Agricultural Science, Cambridge*, 72:451-454 (1969).
147. Rutter, L.M. y Randel, R.D.: Postpartum intake and body condition: Effect on pituitary function and onset of estrus in beef cattle. *J. Anim. Sci.* 58:265-274 (1984).
148. Salazar, D. y Huertas, V.E.: Eficiencia de la reproducción de leche en el trópico colombiano. *Memoria, Asociación Latinoamericana de Producción Animal*. pp. 11-15 (1976).
149. Scheffen, B., Van Der Zwalmen, P. y Massip, A.: A simple and efficient procedure for preservation of mouse embryos by vitrification. *Cryo-Letters* 7:260-269 (1986).
150. Seidel, G.E.: Critical review of embryo transfer procedures with cattle. En: Mastroianni, L. Jr., and Biggers, J.D. (Eds) *Fertilization and Embryonic Development in vitro*. Plenum Press. pp. 323-353 (1980).

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

151. Seidel, G.E., Jr. Economic aspects of sexing embryos. En: Proc. An. Embryo Transf. Assoc. Annu. Mtg. Hastings, NE. pp. 48 (1985).
152. Servicio Meteorológico Nacional, Dirección General de Geografía y Meteorología. S.A.R.H. México, D.F. 1985.
153. Shea, B.F., Janzen, R.E., McAlister, R.J. y McDermand, D.P.: Freezing of bovine embryos: effects of embryos quality, time from thawing to transfer and number frozen per vial. *Theriogenology* 20:205 (1983).
154. Sirard, M.A. y Lambert, R.D.: Birth of calves after in vitro fertilisation using laparoscopy and rabbit oviduct incubation of zygotes. *Vet. Rec.* 119:167-169 (1986).
155. Smith, M.F., Burnell, W.C., Shipp, L.D. y Sprott, L.R.: Hormone treatments and use of calf removal in postpartum beef cows. *J. Anim. Sci.* (48) 6:1285-1294 (1979).
156. Smith, M., Lishman, A., Lewis, G., Harms, P., Ellersieck, M., Inskoop, E., Wiltbank, J. y Amos, M.: Pituitary and ovarian responses to gonadotropin releasing hormone, calf removal and progesterone in anestrus beef cows. *J. Anim. Sci.* 57:418-424 (1983).
157. Somerville, S.H., Lowman, B.G. y Deas, D.W.: The effect of plane of nutrition during lactation on the reproductive performance of beef cows. *Vet. Rec.* 104:94-97 (1979).
158. Spitzer, J.C., Burrell, N.C., Lefever, D.G., Whitman, R.W. y Wiltbank, J.N.: Synchronization of estrus in beef cattle I. Utilization of a Norgestomet implant and injection of estradiol valerate. *Theriogenology* 10:181-200 (1978).
159. Spitzer, J.C., Jones, D.L., Miksch, E.D. y Wiltbank, J.N.: Synchronization of estrus in beef cattle III. Field trials in heifers using a Norgestomet implant and injections of Norgestomet and estradiol valerate. *Theriogenology* 10:223-229 (1978).
160. Sreenan, J., Mulvehill, P. y Gosling, J.: The effects of progesterone and oestrogen treatment in heifers on oestrous cycle control and plasma progesterone levels. *Vet. Rec.* 101:13-14 (1977).
161. Sreenan, J.M. y Diskin, M.G.: Factors affecting pregnancy rates following embryo transfer in the cow. *Theriogenology* 27:99-113 (1987).
162. Suzuki, T., Yamamoto, M., Ooe, M., Sakata, A., Matsuoka, M., Nishikata, Y. y Okamoto, K.: Effect of sucrose concentration used for one-step dilution upon in vitro and in vivo survival of bovine embryos refrigerated in glycerol and 1, 2-propanediol. *Theriogenology* 34:1051-1057 (1990).
163. Szell, A. y Shelton, J.N.: Role of equilibration before rapid freezing of mouse embryos. *J. Reprod. Fert.* 78:699-703 (1986).
164. Takagi, Y., Mori, K., Tomizawa, M., Takahashi, T., Sugawara, S. y Masaki, J.: Development of bovine oocytes matured, fertilized and cultured in a serum-free, chemically defined medium. *Theriogenology* 35:119 (1991).

165. Takeda, T., Elsdon, R.P. y Seidel, G.E.: Cryopreservation of mouse embryos by direct plunging into liquid nitrogen. *Theriogenology* 21:266 (1984)
166. Thatcher, W., Knickerbocker, J., Bartol, F., Bazer, F., Roberts, M. y Drost, M.: Maternal recognition of pregnancy in relation to the survival of transferred embryos: Endocrine aspects. *Theriogenology* 23:129-139 (1985).
167. Thibier, M. y Nibart, M.: Disease control and embryo importations. *Theriogenology* 27:37 (1987).
168. Thibodeaux, J.K., Goodeaux, L.L., Roussel, J.D., Mnzo, Y., Amborski, G.F., Moreau, J.D. y Godke, R.A.: Effects of stage of the bovine oestrous cycle on in-vitro characteristics of uterine and oviductal epithelial cells. *Hum Reprod.* 6:751-760 (1991).
169. Thompson, J.G.E., Simpson, A.C., Pugh, P.A., Donnelly, P.E. y Tervit, H.R.: Effect of oxygen concentration on in vitro-development of preimplantation sheep and cattle embryos. *J. Reprod. Fert.* 89:573-578 (1990).
170. Vaca, L.A., Galina, C., Fernández-Baca, Escobar, J. y Ramírez, B.: Progesterone levels and relationship with the diagnosis of a corpus luteum by rectal palpation during the estrous cycle in Zebu cattle. *Theriogenology* 20:67-76 (1983).
171. Van Vliet, R.A., Verrinder Gibbins, A.M. y Walton, J.L.: Livestock embryo sexing: a review of current methods, with emphasis on Y-specific DNA probes. *Theriogenology* 32:421 (1989)
172. Voelkel, S.A. y Hu, Y.X.: Direct transfer of frozen-thawed bovine embryos. *Theriogenology* 37:23-37 (1992).
173. Voelkel, S.A., y Hu, Y.X.: Use of ethylene glycol as a cryoprotectant for bovine embryos allowing direct transfer of frozen-thawed embryos to recipients females. *Theriogenology* 37:687-697 (1992).
174. Voelkel, S.A. y Hu, Y.X.: Effect of gas atmosphere on the development of one-cell bovine embryos in two culture systems. *Theriogenology* 37:1117-1131 (1992).
175. Voss, H.J., Landmark, D., Wilke, G., Hasler, J.F., Whitaker, R.O. y Heilman, R.D.: Pregnancy rate after surgical transfer of imported frozen bovine embryos. *Theriogenology* 25:209 (1986).
176. Watson, E.D. y Munro, C.D.: A reassessment of the techniques of rectal palpation of corpora lutea in cow. *Br. Vet. J.* 136:555-560 (1980).
177. Wenkoff, M.S.: The management of prostaglandin-controlled breeding programs in beef cattle a five years study. *Can Vet. J.* 24:50-53 (1983).
178. Whittingham, D.C.: Fertilization of mouse eggs *in vitro*. *Nature* 220:592 (1968).
179. White, K.L., Anderson, G.B. y Bondurant, R.H.: Expression of a male-specific factor on various stages of preimplantation bovine embryos. *Biol. Reprod.* 37:867 (1987).

180. Wiemer, K.E., Watson, A.J., Polanski, V., McKenna, A.I., Fick, G.H. y Schultz, G.: Effects of maturation and co-culture treatments on the developmental capacity of early bovine embryos. *Molec. Reprod. Dev.* 30:330-338 (1991).
181. Wilkings, J.V., Ali, J.A. y Vaca, D.C.: El cruzamiento para la producción lechera en los llanos de Bolivia. En: Seminario sobre cruzamientos de bovinos productores de leche en el trópico. El rol del animal cruzado en diferentes sistemas de producción. *Memorias. Asoc. Lat. Prod. Anim.* 7:13 (1979).
182. Willadsen, S.M.: Deep freezing of embryos in the large domestic species. *Proceedings of a Symposium. 9th Int. Congr. Anim. Reprod. & A.I.* pp 255-261 (1980).
183. Williams, G.L.: Modulation of luteal activity in postpartum beef cows through changes in dietary lipid. *J. Anim. Sci.* 67:785-793 (1989).
184. Wilmut, I. y Rowson, L.E.A.: Experiments on the low-temperature preservation of cow embryos. *Vet. Rec.* 92:686-690 (1973).
185. Wiltbank, J.N.: Short breeding periods with the aid estrus synchronization. Proceeding of the Range Beef Cow. A Symposium on Production. Chadrom Nebraska (1969).
186. Wishart, D.F., Young, I.M. y Drew, S.B.: Fertility of Norgestomet treated dairy heifers. *Vet. Rec.* 100:417-420 (1977).
187. Wishart, D.F., Young, I.M. y Drew, S.B.: A comparison between the pregnancy rates of heifers inseminated once or twice after progestin treatment. *Vet. Rec.* 101:230-231 (1977).
188. Wright, I.A., Rhind, S.M., Russel, A.J.F., Whyte, T.K., McBean, A.J. y McMillen, S.R.: Effects of body condition, food intake and temporary calf separation on the duration of the post-partum anoestrus period and associated LH, FSH and prolactin concentrations in beef cows. *Anim. Prod.* 45:395-402 (1987).
189. Wright, J.M.: Commercial freezing of bovine embryos in straws. *Theriogenology* 23:17 (1985).
190. Xu, K.P., Greve, T., Callesen, H. y Hyttel, P.: Pregnancy resulting from cattle oocytes matured and fertilization in vitro. *J. Reprod. Fert.* 81:501 (1987).
191. Xu, K.P., Pollard, J.W., Rorie, R.W., Plante, L., King, W.A. y Betteridge, K.J.: Pregnancy rates following transfer of bovine embryos produced by in vitro maturation, fertilization and co-culture. *Theriogenology* 33:351 (1990).
192. Xu, K.P., Hill, B. y Betteridge, K.J.: Application of in vitro fertilisation techniques to obtain calves from valuable cows after slaughter. *Vet. Rec.* 130:204-206 (1992).
193. Yang, N.S., Lu, K.H., Gordon, I. y Polge, C.: Vitrification of bovine blastocysts produced in vitro. *Theriogenology* 37:326 (1992).
194. Younis, A.I. y Brackett, B.G.: Thyroid stimulating hormone enhancement of bovine oocyte maturation in vitro. *Molec. Reprod. Dev.* 31:144-151 (1992).
195. Zavy, M.T. y Geisist, R.D.: *Embrionic Mortality in Domestic Species.* CRC press, London (1994).

Cuadro 1. Número de receptoras transferidas sobre el día 7, 8 y 9 y tipo de celo ya sea natural o sincronizado con respecto al número de gestaciones logradas.

DIAS	7	8	9
CELO NATURAL CEIEGT	36/7	5/0	0/0
CELO SINCRONIZADO CEIEGT	0/0	7/1	2/0
CELO NATURAL PRODUCTORES	20/5	0/0	0/0
CELO SINCRONIZADO PRODUCTORES	27/12	0/0	0/0

Datos presentados como: Número de receptoras transferidas/Número de gestaciones obtenidas ($P > 0.05$).

Cuadro 2. Número de receptoras transferidas sobre el día 7, 8 y 9 y el número de gestaciones logradas con respecto al tipo de celo ya sea de tipo natural o sincronizado.

DIAS	7	8	9	PROMEDIO (%)
CELO SINCRONIZADO CEIEGT Y PRODUCTORES	27/12	7/1	2/0	37.1
CELO NATURAL CEIEGT Y PRODUCTORES	56/12	5/0	0/0	19.4

Datos presentados como: Número de receptoras transferidas/Número de gestaciones obtenidas (P < 0.05).

Cuadro 3a. Número de receptoras transferidas de acuerdo a sus diferentes condiciones corporales (C.C.) y tipo de celo en relación al número de gestaciones obtenidas.

C.C.	1.5	2.0	2.5	3.0	3.5	4.0	TOTAL
C. NAT. CEIEGT	9/0	13/3	13/3	6/1	0/0	0/0	41/7
C. SIN. CEIEGT	2/0	6/0	1/1	0/0	0/0	0/0	9/1
C. NAT. PROD.	5/0	4/1	3/0	4/2	4/2	0/0	20/5
C. SIN. PROD.	4/0	10/4	0/0	7/3	5/4	1/1	27/12

C. NAT.=Celo Natural

C. SIN. =Celo Sincronizado

Datos presentados como: Número de receptoras transferidas/Número de gestaciones obtenidas ($P < 0.005$).

Cuadro 3b. Resultado de las transferencias de embriones en las receptoras transferidas de acuerdo a sus diferentes condiciones corporales independientemente del tipo de celo manifestado.

C.C.	1.5	2.0	2.5	3.0	3.5	4.0
VACIAS	20	25	13	11	3	0
RE. GE.	0	8	4	6	6	1
TOTAL	20	33	17	17	9	1

C.C.=Condición Corporal. ($P < 0.005$)

RE. GE.=Receptoras Gestantes.

Cuadro 4. Número de receptoras transferidas, gestantes en relación a la condición corporal y el promedio de gestación del CEIEGT y los productores participantes.

	VACAS TRANSFERIDAS	VACAS GESTANTES	PROMEDIO DE COND. CORPORAL	PROMEDIO DE GESTACION
CEIEGT	50	8	2.4	16%
P2	10	1	2.0	10%
P3	3	0	0	0%
P4	14	9	3.4	64.3%
P5	11	6	2.5	54.5%
P6	9	1	2.0	11.1%
TOTAL	97	25	2.8	25.8%

CEIEGT = Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Ganadería Tropical.

P = Productor

Cuadro 5. Relación entre el número de receptoras transferidas de acuerdo a la raza y tipo de celo con respecto al número de gestaciones obtenidas.

GANADO CEBU CELO NATURAL CEIFGT	41/7
GANADO CEBU CELO SINCRONIZADO CEIEGT	9/1
GANADO CRUZADO CELO NATURAL PRODUCTORES	20/5
GANADO CRUZADO CELO SINCRONIZADO PRODUCTORES	27/12

Datos presentados como: Número de receptoras transferidas/Número de gestaciones obtenidas ($P > 0.05$).

Cudro 6. Relación entre el número de receptoras del CEIEGT con respecto a la suplementación y tipo de celo de acuerdo al número de gestaciones obtenidas.

C/SUPLEMENTACION CELO NATURAL CEIEGT	41/7
C/SUPLEMENTACION CELO SINCRONIZADO CEIEGT	9/1

Datos presentados como: Número de receptoras transferidas/Número de gestaciones obtenidas ($P > 0.05$).

Cuadro 7. Relación entre el número de receptoras de los productores con respecto a la suplementación y tipo de celo de acuerdo al número de gestaciones obtenidas.

C/SUPLEMENTACION CELO NATURAL PRODUCTORES	7/4
S/SUPLEMENTACION CELO NATURAL PRODUCTORES	13/1
C/SUPLEMENTACION CELO SINCRONIZADO PRODUCTORES	18/11
S/SUPLEMENTACION CELO SINCRONIZADO PRODUCTORES	19/1

Datos presentados como: Número de receptoras transferidas/Número de gestaciones obtenidas ($P > 0.05$).

Cuadro 8. Número y porcentaje de gestaciones obtenidas en relación a la calidad embrionaria y número de embriones transferidos, independientemente del día de transferencia ($P > 0.05$).

CALIDAD EMBRIONARIA	EMBRIONES TRANSFERIDOS	GESTACIONES OBTENIDAS	%
41-44	5	1	25
51-54	6	2	33
61-64	27	6	20
71-74	54	14	25
81-84	5	2	40
TOTAL	97	25	25.8

Cuadro 9. Número de receptoras transferidas, gestantes y la relación/promedio del sexo de las crías en base al número de gestaciones logradas en el CEIEGT y los productores participantes.

	VACAS TRANSF.	VACAS GESTANTES	CRIAS DE SEXO M(%)	CRIAS DE SEXO H(%)	PROMEDIO DE GESTACION
CEIEGT	50	8	5(62.5%)	3(37.5%)	16%
P2	10	1	0(0%)	1(100%)	10%
P3	3	0	0(0%)	0(0%)	0%
P4	14	9	7(77.8%)	2(22.2%)	64.3%
P5	11	6	2(33.3%)	4(66.7%)	54.5%
P6	9	1	0(0%)	1(100%)	11.1%
TOTAL	97	25	14(56%)	11(44%)	25.8%

CEIEGT = Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Ganadería Tropical.

P = Productor. Sexo M = Macho. Sexo H = Hembra.

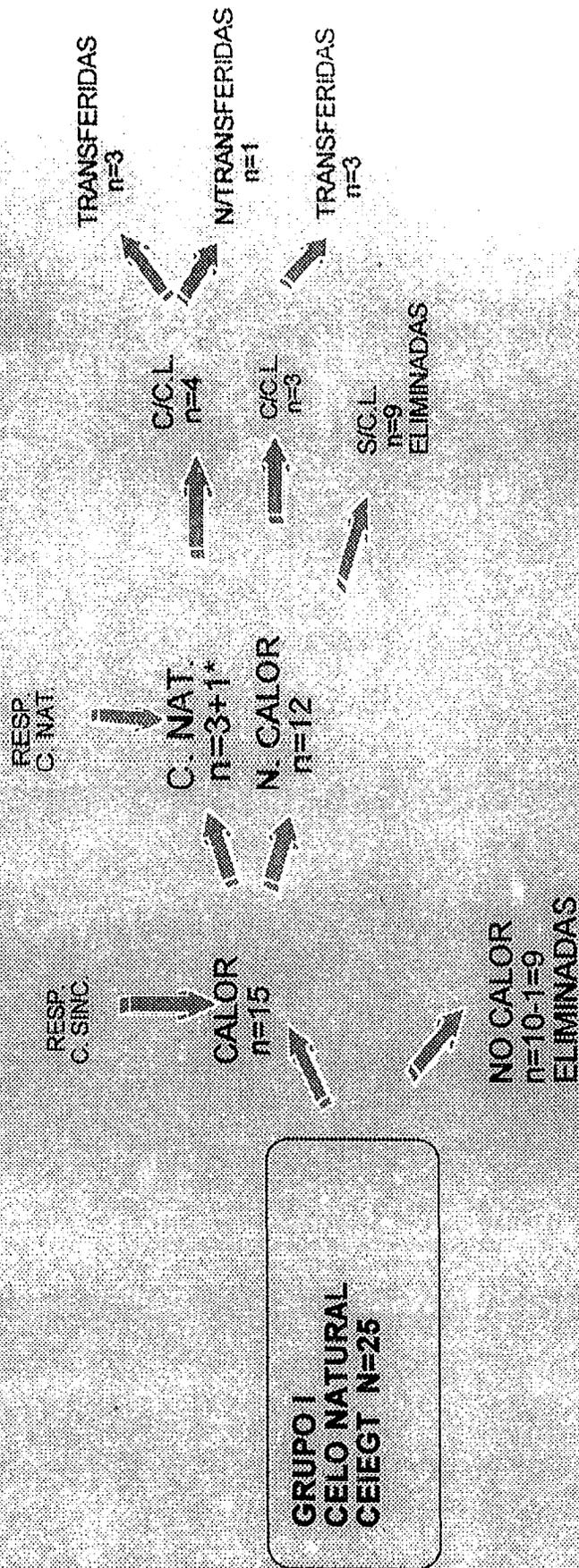


Fig.1. Descripción del destino de las receptoras para el grupo celo natural (C/NAT) las cuales fueron previamente sincronizadas. No mostro celo sincronizado pero si celo natural.

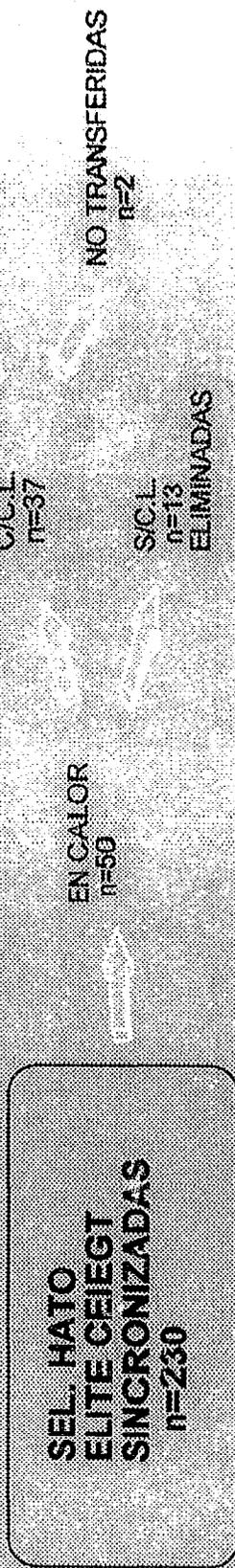


Fig.3. Descripción del 3er. lote seleccionado (SEL.) de receptoras previamente sincronizadas (SINC.) del ható elite para ser incluidas al grupo celo natural. Forman cuerpo lúteo (C/C.L.) no forman cuerpo lúteo (S/C.L.)

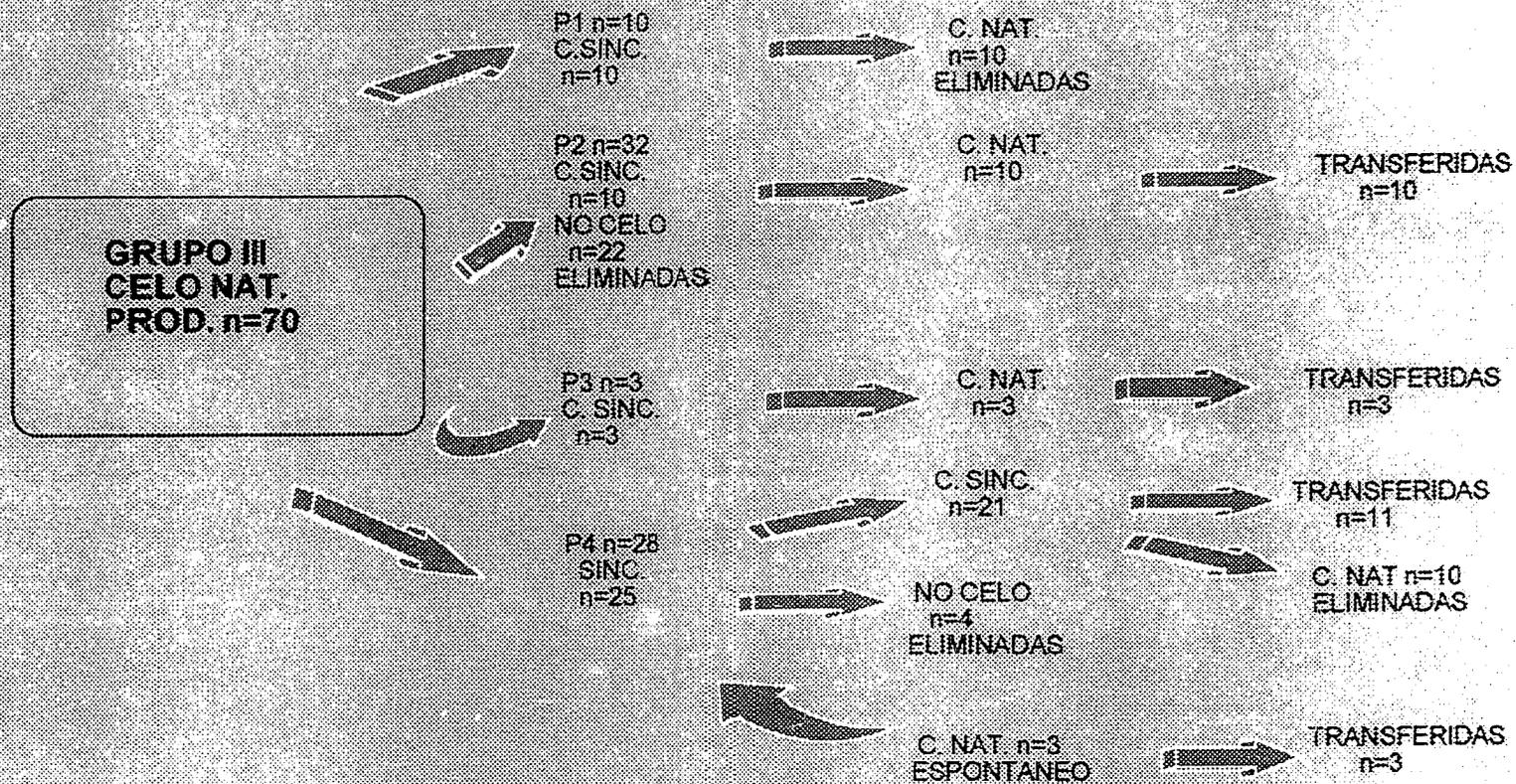


Fig.4. Descripción del destino de las receptoras seleccionadas para formar el grupo celo natural (C.NAT.) de los productores (PROD.) las cuales fueron previamente sincronizadas para manifestar celo sincronizado (C.SINC.) P=productor.

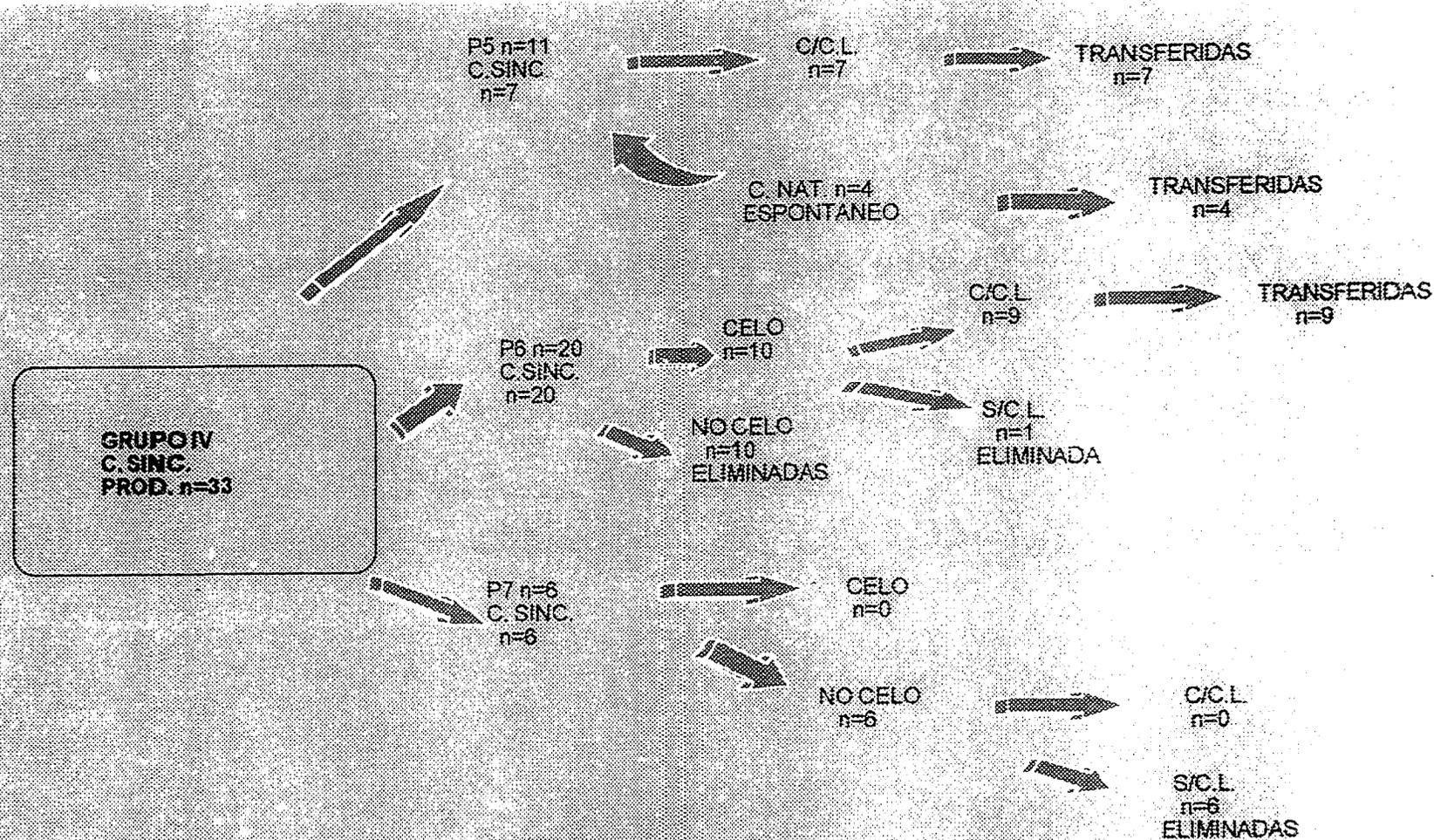
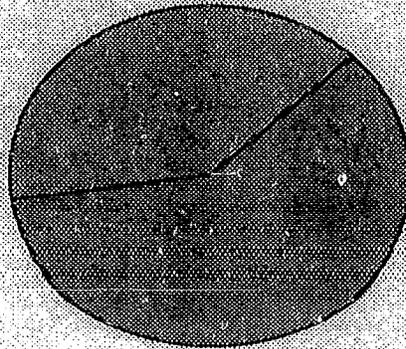


Fig.5. Descripción del destino de las receptoras seleccionadas para formar el grupo celo sincronizado (C. SINC.) de los productores (PROD.). P= productor. Formen cuerpo lúteo (C/C.L.). No formen cuerpo lúteo (S/C.L.).

Fig. 6. Respuesta a celo sincronizado grupo I (CEIEGT) n= 25.

Ausencia de celo

40%



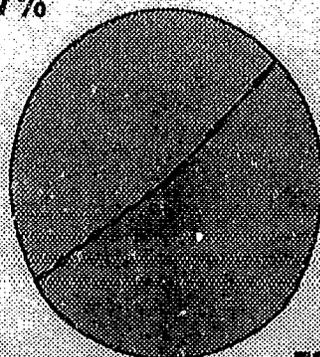
60%

Presencia de celo

**Fig 7. Respuesta a celo sincronizado grupo II
(CEIEGT) n = 30.**

Ausencia de cel

47%



53% Presencia de cel

Fig. 8. Respuesta a celo natural posterior al sincronizado del grupo I (CEIEGT) n = 25

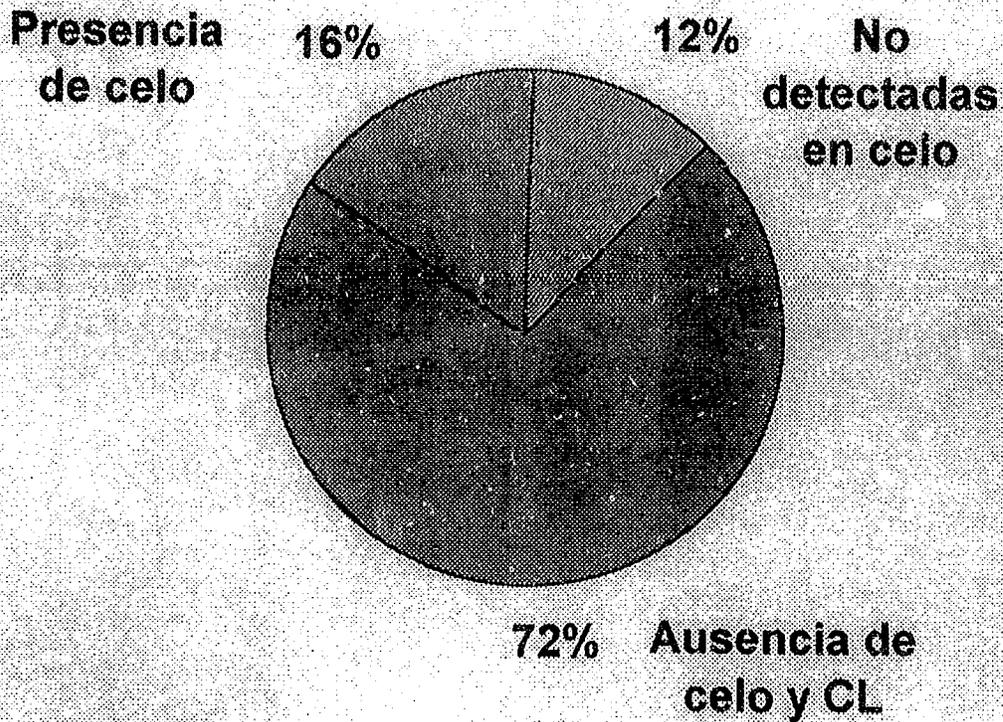


Fig. 9. Respuestas de un 3er. grupo de posibles receptoras (n = 50) en celo natural del CEIEGT.

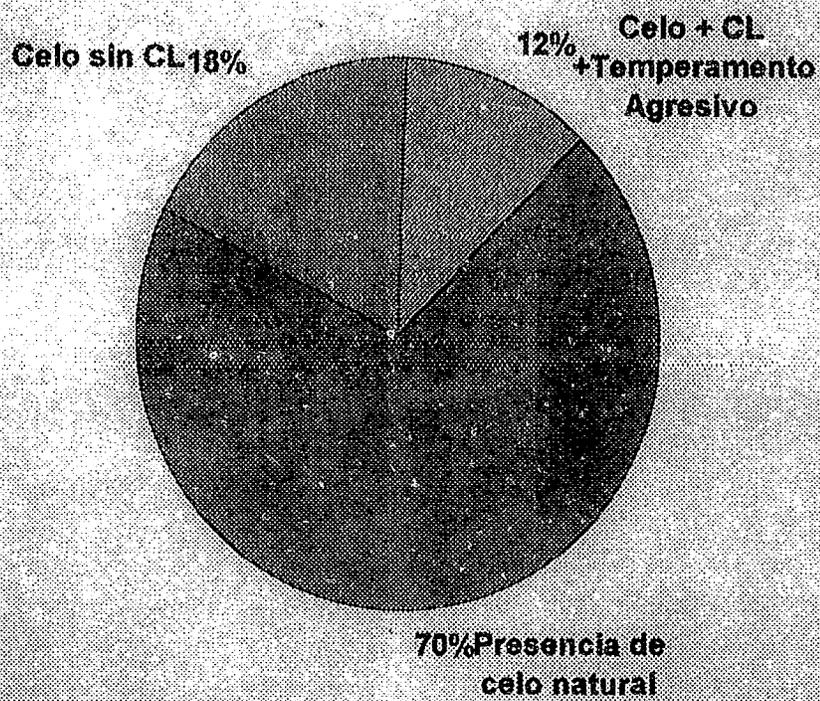
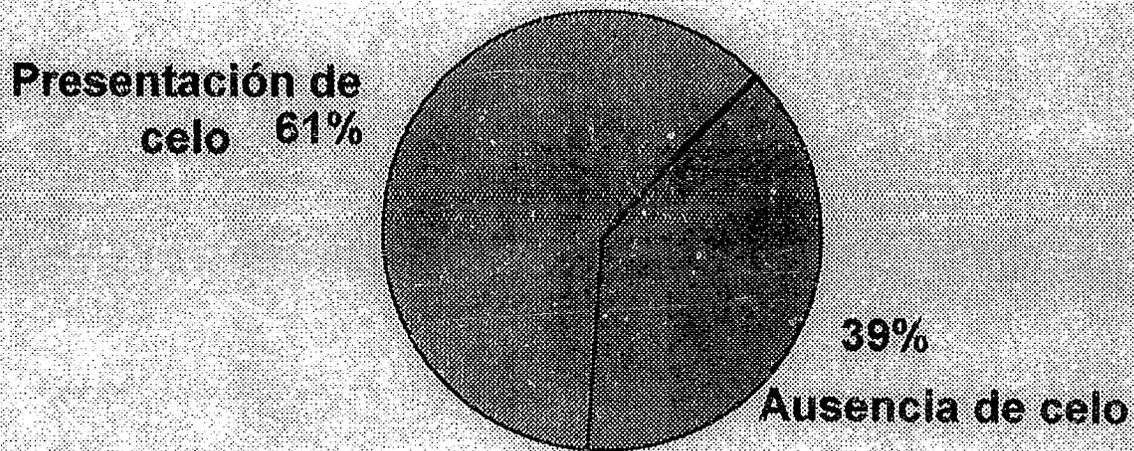


Fig. 10. Respuesta a celo sincronizado grupo III (Prod) n= 70.



**Fig. 11. Respuesta a celo sincronizado grupo IV (Prod)
n= 33.**

