



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO

MAESTRIA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCION Y DE LA SALUD ANIMAL

EFFECTO DEL SELENIO Y SOMATOTROPINA RECOMBINANTE
BOVINA SOBRE LA TASA DE OVULACION Y CALIDAD
EMBRIONARIA EN CABRAS ESTABULADAS, SOMETIDAS A UN
TRATAMIENTO DE SUPEROVULACION CON FSH

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

MOISES PEÑA VERDUZCO

TUTOR

DR. ALFREDO MEDRANO HERNANDEZ

COMITE TUTORIAL

DR. SALVADOR ROMO GARCIA

DR. CARLOS GUILLERMO GUTIERREZ AGUILAR

CUAUTITLAN, IZCALLI ESTADO DE MEXICO

2006



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

AGRADECIMIENTOS

A MI ASESOR, M^sC ARTURO A. TREJO GONZALEZ, POR SU PACIENCIA, DEDICACIÓN, APOYO Y POR COMPARTIR CONMIGO SUS CONOCIMIENTOS.

AL COMITÉ TUTORAL, POR SUS VALIOSAS OBSERVACIONES QUE ME PERMITIERON TERMINAR SATISFACTORIAMENTE EL PRESENTE TRABAJO

A LOURDES, POR SU CARIÑO, COMPRENSION Y PACIENCIA, JUNTO A QUIEN TODO ME HA PARECIDO MAS FACIL POR EL AMOR QUE NOS HA MANTENIDO UNIDOS

A ALAN Y RODRIGO, A QUIENES HE DEDICADO TODOS MIS ESFUERZOS CON TODO MI AMOR

A MIS PADRES, A QUIENES DEBO MI SER Y EL HABER SABIDO ESCOGER MI RUMBO Y LOGRAR MIS METAS

CONTENIDO

1.- INTRODUCCIÓN	6
2.- REVISIÓN DE LITERATURA	9
2.1 Hormona del Crecimiento	9
2.2 Oxidación	17
2.3 El Selenio	18
2.4 La transferencia de embriones	22
2.4.1 Antecedentes	22
2.4.2 Ventajas de la técnica	26
2.4.3 Desarrollo de la técnica	27
2.4.4 El estado nutricional en la respuesta a la superovulación	32
3.- JUSTIFICACIÓN	34
4.- OBJETIVOS	35
5.- HIPÓTESIS	36
6.- MATERIAL Y METODOS	37
6.1 Ambiente	37
6.2 Unidades experimentales	37
6.3 Grupos experimentales	38
6.4 Proceso experimental	39
6.5 Recolección embrionaria	40
6.6 Clasificación embrionaria	41
6.7 Variables de respuesta	41
7.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO	42
8.- RESULTADOS	44
8.1 Número de ovulaciones	44
8.2 Embriones totales	45
8.3 Embriones transferibles	46
8.4 Desarrollo embrionario	46
8.5 Determinación de Glutación Peroxidasa	47
8.6 Determinación de IGF	47
8.7 Determinación de progesterona	48
9.- DISCUSIÓN	50
10.- BIBLIOGRAFIA	53

RESUMEN

EFFECTO DEL SELENIO Y SOMATOTROPINA BOVINA RECOMBINANTE (rbST) SOBRE LA TASA DE OVULACION Y CALIDAD EMBRIONARIA EN CABRAS ESTABULADAS, SOMETIDAS A UN TRATAMIENTO DE SUPEROVULACION CON FSH

Peña Verduzco Moisés

COMITE TUTORAL: J. A. Medrano, C. Gutiérrez, S. Romo.

32 cabras lotificadas al azar por edad y peso, fueron sometidas a los siguientes tratamientos: grupo rbST: 160 mg de rbST via s.c.; grupo rbST-Se: 160 mg de rbST+ 380 mg de Selenio orgánico via oral; grupo Se: 380 mg de Selenio orgánico v. o.; grupo Testigo: agua inyectable via s.c. y placebo v. o. Todos los animales recibieron un tratamiento de sincronización con esponjas vaginales (45 mg de FGA) y fueron sometidos a un tratamiento superovulatorio con 188 mg de FSH repartidos en 8 aplicaciones con intervalo de 12 horas en esquema decreciente y una aplicación de 50 mcg de Cloprostenol al momento de la quinta inyección de FSH. Las esponjas se retiraron al momento de la séptima inyección de FSH. Las cabras fueron cubiertas mediante montas dirigidas a las 0, 12 y 24 horas de detectado el celo. Se tomaron muestras sanguíneas los días 1, 7, 9, 16, 21, 23, 25 y 27 para la determinación de Glutati6n Peroxidasa, IGF1 y Progesterona. La recolecci6n de embriones se realiz6 a los 6.5-7.0 días despu6s de la presentaci6n del celo por el m6todo quir6rgico previa evaluaci6n de la respuesta por laparoscopia. Los embriones fueron evaluados con microscopio estereosc6pico y clasificados con base en los criterios de la IETS, encontr6ndose los siguientes resultados: N6mero de ovulaciones (Cuerpos L6teos observados) 19.5, 16.1, 17.6 y 14.7, embriones transferibles 13.4, 14.5, 8.1 y 8.3, y embriones totales (Fertilizaci6n) 13.7, 14.6, 8.2 y 8.8 como promedios para los grupos rbST, rbST+Se, Se y Testigo respectivamente, no observ6ndose diferencia estadística entre tratamientos. La concentraci6n plasmática de Glutati6n peroxidasa tampoco mostr6 diferencia estadística (1041, 1048, 1008 and 1102 nmol NAADPH ox/min/ml). En conclusi6n la respuesta al tratamiento con rbST y/o la suplementaci6n con Selenio orgánico fue similar a la observada en el grupo control para N6mero de ovulaciones, embriones transferibles y embriones totales aunque se aprecia cierta tendencia a una mejor respuesta a los tratamientos para los parámetros evaluados.

SUMMARY

EFFECT OF SELENIUM AND RECOMBINANT BOVINE SOMATOTROPINE (rbST) ON OVULATION RATE AND EMBRYO QUALITY IN SUPEROVULATED GOATS

This study was conducted to evaluate the effect of recombinant bovine Somatotropin (rbST) treatment and/or Selenium Yeast (Se) supplementation on ovulation rate and embryo quality in superovulated goats with FSH.

32 nubian goats were assigned in a complete randomized design by weight and age to four groups: 1)rbST (160 mg), 2) rbST+Se, 3) Se and 4) Control Group. rbST was given 7 days before FSH treatment, Selenium was given daily in capsules from 16 days before superovulation treatment until the embryo collection day. Goats were synchronized with 45 mg MGA during 12 days and were superovulated with 188 mg FSH in eight injections in decreasing dosage and 50 mg of cloprostenol i.m. with the fifth FSH injection. Goats were mated at 0, 12, and 24 hours after estrus detection. Blood samples were collected on days 1, 7, 9, 16, 21, 23, 25 and 27 from Se supplementation, to determine Glutathione peroxidase, Progesterone and IGF1 in plasma. Embryo collection was performed surgically after laparoscopic evaluation. The ovulation rate was 19.5, 16.1, 15.8 and 15.5, transferable embryos 13.4, 14.5, 10.0 and 10.4, total embryos (fertilizing rate) 13.7, 14.6, 10.2 and 11.0 for rbST, rbST+Se, Se and Control groups respectively, showing no difference among treatments. Plasmatic concentration of glutathione peroxidase did not differ among treatments (1041, 1048, 1008 and 1102 nmol NAADPH ox/min/ml respectively). In conclusion, rbST treatment and/or Selenium yeast supplementation effects were similar to Control group for ovulation rate, transferable embryos and total embryos. However, there is a slightly higher tendency to a better response in the rbST and Se treated groups.

1.- INTRODUCCION

Con el índice de crecimiento acelerado de la población humana, las demandas de alimentos se han incrementado paralelamente, de tal manera que han tenido que surgir nuevas tecnologías para mejorar la producción de alimentos, es así que en el ramo agrícola se cuenta en la actualidad con una gran variedad de alternativas que van desde nuevos métodos de cultivo que respeten el medio ambiente, hasta la producción de un buen número de especies transgénicas. En el sector pecuario sucede algo parecido y las demandas están tratando de ser satisfechas mediante la adopción de metodologías y técnicas que hagan más eficientes y rentables a las explotaciones pecuarias incidiendo así en aspectos tales como la nutrición, instalaciones, manejo sanitario y manejo reproductivo, en este último caso se ha recurrido a la adopción de técnicas llamadas de reproducción asistida, mismas que permiten controlar y seleccionar las razas que ofrezcan mejores ventajas en cuanto a la productividad se refiere, entre las técnicas mas utilizadas para este fin tenemos desde las más básicas hasta las más complejas tecnológicamente hablando:

- a) Empadres Controlados; es decir la selección, separación y apareamiento con los sementales que cubrirán a cada una de las hembras de una explotación,
- b) Inseminación Artificial; con ésta se ha logrado difundir la genética de sementales sobresalientes de una amplia región geográfica a una área mucho mayor, incluso a nivel mundial.
- c) Transferencia de Embriones; esta técnica, complementada con la inseminación artificial, ha permitido difundir no sólo la calidad genética de machos seleccionados, sino que también las hembras sobresalientes pueden difundirse a través de su progenie de una manera más eficiente ya que les permite tener un número de descendientes mucho mayor al de su capacidad fisiológica normal.
- d) Otras técnicas de vanguardia en la reproducción asistida: En este grupo se incluyen técnicas innovadoras que implican una tecnología más delicada y compleja, destacan en orden de factibilidad: La maduración de ovocitos in-vitro (IVM) y la Fertilización in-vitro (IVF), Inyección Intracitoplásmica de espermatozoide (ICSI), Sexado de Semen, Sexado de Embriones y Clonación.

La Transferencia de Embriones en los animales domésticos puede servir para multitud de objetivos de orden genético, económico y sanitario, el éxito de la misma depende de una

gran variedad de factores que pueden influir tanto en la hembra donadora como en las receptoras. En el caso de la donadora, el éxito de la superovulación implicaría una adecuada respuesta al tratamiento reflejada en un buen número de folículos madurados, una elevada tasa ovulatoria, un alto índice de ovocitos fecundados y finalmente un buen porcentaje de embriones transferibles. Sin embargo, la eficiencia de la técnica ha sido severamente limitada por el hecho de que hay un gran porcentaje de hembras que no responden o lo hacen pobremente a los tratamientos superovulatorios.

Entre los factores que pueden ser responsables de este problema se han citado el estado nutricional, la condición corporal, la pureza y calidad de las gonadotropinas empleadas, el régimen de tratamiento ([Monniaux 1983](#); [Kanagawa 1993](#)), el foto período (en ovinos y caprinos), la raza, el estatus ovárico y diversos factores endócrinos. Diferentes trabajos encaminados a controlar los factores citados han sugerido que el factor más importante que influye en la respuesta a la superovulación es la cantidad de folículos sensibles a las gonadotropinas que presenten los ovarios al inicio del tratamiento. En ovejas y cabras se han realizado diversos estudios para mejorar la respuesta al tratamiento superovulatorio, desde la preestimulación con FSH para uniformizar la población folicular, uso de diferentes hormonas gonadotrópicas, aplicación de GnRH y LH para sincronizar la ovulación y control de la regresión lútea después de la superovulación entre otros ([Baril G. y cols. 1992](#); [Armstrong y Evans, 1983](#)).

Actualmente se sabe que la Hormona del Crecimiento (GH) es un importante regulador endócrino, autócrino y parácrino de la reproducción y que además participa en el control de procesos como proliferación, apoptosis, crecimiento y diferenciación así como en actividades secretoras y generativas de diferentes órganos reproductivos ([Sirotkin, 2004](#)), además participa en la función gonadal a través de su acción en sitios hipotalámicos, pituitarios y gonadales, ya sea de manera directa o a través de los factores de crecimiento, haciendo evidente su participación al modificar sus niveles durante los diferentes estadios de la vida reproductiva de un individuo. ([Hull y Harvey 2000](#); [Hull y Harvey 2002](#); [Kuehner y cols. 1993](#)).

El manejo nutricional es un factor que aparentemente puede ser atendido y corregido fácilmente, sin embargo se tiene que considerar que las hembras sometidas a un tratamiento superovulatorio están siendo objeto de una modificación de sus patrones fisiológicos de tal

manera que es evidente que durante el tratamiento los requerimientos en determinados elementos de la nutrición podrían no ser satisfechos por la mera alimentación, por lo que se deberán suplementar atendiendo en este aspecto elementos nutricionales que jueguen, de alguna manera, un papel importante en los procesos reproductivos. En este aspecto la suplementación mineral ha destacado de manera importante y dentro de éstos el Selenio ha demostrado tener efectos significativos gracias a su participación en contra de los procesos oxidativos derivados del metabolismo. El simple hecho de que la administración de Selenio en forma de Selenito de Sodio mas vitamina E antes del empadre y del parto sea capaz de mejorar la incidencia de estros y la fertilidad en ovejas ([Gabryszuk y Klewiec 2002](#)), nos permite entender que su efecto en hembras superovuladas puede multiplicarse.

La presente investigación se ha propuesto probar el efecto de la suplementación de Selenio (Sel Plex, Selenio orgánico, Alltech, Mex.) y el tratamiento con rGH (Boostin-G, Shering Plough División Veterinaria) sobre la tasa de ovulaciones, así como el número y calidad de embriones obtenidos, con la finalidad de encontrar alternativas que permitan obtener mejores resultados en la aplicación de la técnica de superovulación en caprinos.

2. REVISION DE LITERATURA

2.1 HORMONA DEL CRECIMIENTO

La hormona del crecimiento (GH) también llamada Somatotropina (STH), es un péptido con un peso molecular de 21500, tiene una vida media de 25 minutos, se produce principalmente en la adenohipófisis por los somatotropos, aunque ésta y sus receptores se han detectado en gónadas, utero, placenta, glándula mamaria, leucocitos y otros tejidos reproductivos y no reproductivos diferentes a la hipófisis ([Harvey y cols., 2000](#); [Hull y Harvey, 2000](#)). La GH tiene 4 variantes en su estructura molecular ya que se ha identificado la presencia de Leucina o Valina en la posición 126 y además puede estar formada por 190 o 191 aminoácidos ([Wood y cols., 1989](#)) desde el punto de vista reproductivo resalta su presencia en gónadas y glándula mamaria.

En glándulas salivales se ha detectado su producción mediante un implante local de GHRH ([Tresguerres y cols. 1999](#)).

Su secreción a nivel hipofisiario está regulada por hormonas hipotalámicas como el péptido Somatostatina que inhibe su secreción y el polipéptido Hormona Liberadora de Hormona del Crecimiento (GHRH) que estimula su secreción. Los niveles de GH circulante ejercen un mecanismo de retroalimentación por medio de sus receptores en neuronas de somatostatina en el núcleo paraventricular y neuronas Neuropéptido Y en el núcleo arcuato ([Minami y cols., 1997](#)).

La GH puede actuar a nivel endócrino, autócrino, parácrino e intrácrino, ejerciendo sus efectos sobre el crecimiento y metabolismo mediante su unión con receptores (GHR) extracelulares, transmembrana e intracelulares. Su acción es regulada por proteínas de enlace (GHBP) que al atraparla pueden prolongar su acción alargando su vida media o bien inhibir su acción por secuestro ya que sólo la GH libre es activa ([Hull y Harvey, 1999](#)).

La GH ejerce sus efectos somatogénicos y metabólicos en todos los tejidos, algunos de manera directa y otros indirectamente al generar la producción de factores de crecimiento (IGF's) ([Swenson y Reece, 1999](#)).

Los factores de crecimiento son péptidos con un peso molecular menor a 30000 d, que pueden actuar en forma parácrina y endócrina y están involucrados en la sobrevivencia,

diferenciación y proliferación celular. Los diferentes factores de crecimiento se han clasificado en las siguientes familias basándose en su estructura y actividad biológica: Familia del factor de crecimiento epidermico (EGF), Familia del factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), Familia del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), Familia del factor de crecimiento tipo insulina (IGF), Familia del factor β de crecimiento y transformación (TGF β) incluyendo Inhibina y Activina y el factor del crecimiento hematopoyético (citokinina) ([Monniaux y cols.](#), 1997).

Las IGF's se unen a proteínas específicas (IGFBP) para su transporte y a su vez las IGFBP's modulan la respuesta fisiológica de IGF1 e IGF2, de manera similar al control de GH mencionado anteriormente. El tratamiento de vacas con BST suele provocar un incremento en los niveles séricos de IGF, posiblemente por un incremento en su síntesis o por la disminución en la producción de IGFBP ([Cohick y cols.](#), 1992). Estos investigadores identificaron en el suero bovino y linfa de glándula mamaria IGFBP2 e IGFBP3 y demostraron que la administración de BST (40mg/día) fue capaz de aumentar en tres veces los niveles de IGFBP3 en suero mientras que los de IGFBP2 disminuyeron en igual proporción tanto en suero como en linfa por el quinto día del tratamiento restableciéndose hasta cuatro días después de cesar el mismo.

Los niveles séricos de IGF1 se incrementan desde las primeras 5 horas después del inicio de la administración diaria de 40 mg de rbST alcanzando una concentración máxima en el segundo día del tratamiento ([Cohick y cols.](#), 1989).

Los factores de crecimiento a su vez pueden ejercer un efecto de retroalimentación negativa en la secreción de GH, al respecto [Wilson](#) (1997) observó que en monos hembras adolescentes la administración única de IGF-I (1 mg/kg, SC), provocó un incremento en los niveles séricos de IGFBP-3 en las primeras tres horas, en contraste, los niveles de GH disminuyeron significativamente. En otro estudio, este mismo autor utilizó monos hembras ovariectomizadas a las que les aplicó una infusión subcutánea de 300 μ g/día de IGF-I desde los 13 a los 32 meses de edad y desde los 26 meses les dio un tratamiento de estradiol alternado cada 3 meses, observando un incremento en IGFBP-3 en el grupo tratado con IGF-I, mientras que cuando administró el estradiol hubo un incremento significativo tanto en IGF-I como en IGFBP-3 y el crecimiento de las hembras fue mayor, sin ningún cambio

en los niveles de GH, lo que sugiere que el estradiol tiene efectos directos en la síntesis de IGF-I.

En el tejido adiposo la GH puede regular la expresión de Leptina en presencia de Insulina y de Dexametasona in vitro e in vivo ([Houseknecht y cols., 2000](#)).

La STH tiene un efecto galactopoyético, influyendo primero en el desarrollo de la glándula mamaria así, el tratamiento con 50 microgramos de GH humana en ratas hipofisectomizadas incrementó significativamente la actividad de receptores para estrógenos en células glandulares y células grasas de glándula mamaria favoreciendo con ello el desarrollo de la misma ([Feldman y cols., 1999](#)). Se han observado receptores para GH en compartimientos epiteliales y estroma glandular, durante la mamogénesis, lactación e involución, lo que demuestra la participación de GH en la lactogénesis ([Sinowatz y cols., 2000](#)). Se cree que IGF1 es el mediador de STH en glándula mamaria, pues se ha observado el incremento de IGF1 en suero en vacas en producción tratadas con bST, así como la presencia de receptores para IGF1 en tejido mamario ([Cohick 1998](#)). La bST se ha utilizado ampliamente para mejorar la producción en las vacas lecheras y este efecto galactopoyético también se ha podido observar en diferentes razas de ganado de carne en las que además de elevar la producción láctea eleva los niveles séricos de bST, IGF-1, Insulina, glucosa y ácidos grasos no esterificados, ([Armstrong y cols., 1995](#)).

[Dalton y Marcinkowski](#) (1994) utilizando bST-metionil recombinante (Sometribove) en vacas lecheras observaron que se incrementó la producción láctea sin afectar los niveles basales o inducidos con GnRH de LH, tampoco se modificó la concentración plasmática de progesterona en fases lúteas posteriores.

En las cabras también ha demostrado tener un efecto positivo en la producción láctea. [Davis y Cols.](#) (1999), evaluaron el efecto de la administración subcutánea de 100 microgramos de bST en la producción láctea, crecimiento de las crías y producción de mohair en cabras Angora, obteniendo un aumento en la producción de leche lo que se reflejó en una mejora del peso de las crías, pero no se mejoró la producción de mohair.

[Chiofoloa y Cols.](#), (1999), evaluaron el efecto de la administración de Somatotropina bovina recombinante (rbST) en la producción láctea y composición de la leche en la oveja, encontrando que se incrementó la producción de leche, proteína en leche y contenido de lactosa; en otro trabajo, ([Brozos y cols. 1999](#)) observaron que la administración de 160 mg

de bST en un dispositivo de liberación lenta aplicado cada 2 semanas a ovejas lactantes de la raza Chios provocó un incremento en la producción láctea, pero en los primeros 45 días se observó una disminución en la producción de progesterona, que se incrementó después, la fase lútea se acortó, el estro inducido fue más corto y las concentraciones de LH fueron mas bajas, aunque el porcentaje de preñez no resultó afectado. [Chadio y cols.](#), (2000) administrando en cabras 160 mg vía s.c. cada 14 días observó un incremento en la producción láctea, en el contenido de grasa y en lactosa, mientras que el porcentaje de proteína no se vio afectado. Por otro lado la infusión arterial de IGF1 en glándula mamaria de cabras también incrementa la producción de leche ([Cohick](#), 1998).

La GH no es considerada como una hormona reproductiva, aunque mucha literatura indica que tiene acciones en la función reproductiva. Es requerida para la diferenciación sexual y la madurez puberal y participa en la esteroidogénesis gonadal, gametogénesis y ovulación. La GH es requerida también para la nutrición y crecimiento fetal durante la preñez y como ya hemos mencionado, para el desarrollo mamario y lactación ([Hull y Harvey, 2000](#)). Por sus efectos sobre la función gonadal, hipotalámica e hipofisiaria, particularmente estimulando la foliculogénesis, esteroidogénesis y la ovulación, se le ha llegado a considerar una cogonadotropina ([Hull y Harvey, 2002](#)).

Además de los efectos de la GH sobre el sistema IGF/IGFBP y sobre la secreción de oxitocina, esteroides, activina y gonadotropinas, algunas de las acciones de la GH en los procesos reproductivos son mediadas por receptores específicos que actúan a través de cama/proteína finaza A, proteína kinasa G, tirosina kinasa, MAP kinasa y mecanismos intracelulares dependientes de CDC2 kinasa ([Sirotkin, 2004](#)).

Los factores de crecimiento que actúan en respuesta a GH, sean de origen endócrino o parácrino juegan un papel determinante en el desarrollo folicular modulando la sobrevivencia, proliferación y diferenciación de las células foliculares, actuando en interacción con las gonadotropinas. Se cree que los factores de las familias del Factor de crecimiento tipo insulina (IGF-I y II), Factor de crecimiento epidérmico (EGF y TGF- α) y el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF) pueden apoyar el crecimiento de pequeños folículos antrales promoviendo la proliferación celular. Durante el desarrollo folicular terminal, factores como los factores de crecimiento insulínicos y la Inhibina, potencializan las acciones de promoción de la diferenciación de las Gonadotropinas en las células de la

granulosa y de la teca respectivamente. Además, las proteínas de unión modulan la biodisponibilidad de esos factores de crecimiento en los folículos. En particular, el desarrollo folicular terminal en los rumiantes domésticos es acompañado por importantes disminuciones en las concentraciones intrafoliculares de proteínas de unión para IGF (IGFBP2, 4 y 5), debido tanto a la disminución de su síntesis por las células foliculares, como a un incremento en su degradación por proteinasas intrafoliculares específicas. Como resultado, la biodisponibilidad de IGF se incrementa en los grandes folículos antrales, aumentando la amplificación de la acción de gonadotropinas en las células foliculares. En contraste la atresia es caracterizada por un incremento en la expresión de RNAm para IGFBP2, 4 y 5 y una disminución en la degradación proteolítica de las proteínas correspondientes, resultando en un incremento de su concentración folicular y una disminución en la biodisponibilidad de IGF-I. Todos esos mecanismos intrafoliculares, contribuyen a asegurar el desarrollo final del folículo dominante y la atresia de los folículos dependientes de gonadotropinas de la cohorte ([Monniaux y cols., 1997](#)).

Recientes estudios han demostrado que las hormonas metabólicas como una señal del estatus nutricional ejercen un efecto directo a nivel ovárico, así la rGH es capaz de incrementar la población de pequeños folículos ováricos. Esto está asociado con incrementos en las concentraciones circulantes de Insulina e IGF-1, ambas hormonas pueden actuar sinérgicamente con FSH y LH, sobre todo en individuos con un buen plano nutricional; [Gong \(2002\)](#), basándose en estos hechos, demostró que el pretratamiento con rGH y un buen nivel nutricional incrementa significativamente la respuesta a los regímenes estándar de superovulación, también que una alimentación adecuada que permita elevar los niveles de Insulina circulante durante la lactación temprana, puede anticipar la primera ovulación post parto e incrementar los índices de preñez al primer servicio.

[Hall y cols. \(1994\)](#) estudiaron el efecto de la administración de 350 mg cada 2 semanas de bST en vaquillas de carne prepúberes comparando dos niveles de suplementación energética (14.15 Mcal vs 10.84 Mcal), observando que las vaquillas suplementadas con el nivel energético mas alto, alcanzaron la pubertad a menor edad pero con el mismo peso que el grupo testigo mientras que la edad y peso corporal no se vieron afectados por la bST, los niveles de insulina fueron mayores en el lote consumiendo alta energía y en los que recibieron bST. Las vaquillas en el alto plano energético fueron más jóvenes a la primera

ovulación mientras que el peso no difirió entre tratamientos. El tratamiento de vaquillas con bST no afectó la edad ni el peso a la primera ovulación. La dieta alta en energía mejoró los pulsos de LH a la pubertad a diferencia del grupo recibiendo el plano nutricional moderado, mientras que no se observó efecto en la frecuencia de pulsos de LH entre los grupos con y sin bST. Resultados similares encontraron [Radcliff y cols.](#), (2000), quienes administraron bST a uno de dos grupos de vacas holstein suplementadas con una dieta alta en energía y proteína desde los 135 kg hasta el diagnóstico de gestación misma que no resultó afectada y que además midieron la producción de leche de la primera lactación sin que ésta presentara diferencias entre grupos.

El incremento temporal en el plano nutricional favorece el reclutamiento folicular en vaquillas ciclando, hecho que está asociado con un incremento concomitante en los niveles de insulina circulantes ([Gutiérrez y cols.](#), 1997).

En un trabajo reciente con ratas a las que se les bloqueó el gen para receptores de GH (GHR) y el gen de proteínas de unión para GH (GGHBP), [Bachelot y cols.](#), (2000) demostraron que la actividad de la GH sobre los folículos depende de la presencia de dichos receptores en los mismos.

En un estudio in vitro con ovarios de coneja, [Yoshimura y cols.](#), (1994), observaron que la perfusión con GH, en cotratamiento con HCG, provocó un aumento del diámetro folicular, estimuló la meiosis, la maduración del ovocito y la producción de IGF-1, también mejoró el efecto de las gonadotropinas, promoviendo la ovulación. Estas observaciones sugieren que la GH puede amplificar la acción de las gonadotropinas en el proceso de desarrollo folicular y ovulación, al menos en parte, por la producción de IGF-1 a nivel ovárico.

En un trabajo comparativo entre factor liberador de hormona del crecimiento (GRF) y la hormona liberadora del Tirotrópina (TRH), en vaquillas holstein inyectadas diariamente por un periodo de 86 días, [Spicer y Enright.](#), (1991), encontraron que la administración de GRF incrementó el tamaño folicular y las concentraciones de progesterona en los folículos de tamaño medio, mientras que la TRH no tuvo efecto en el tamaño folicular ni en la concentración de esteroides en el fluido folicular, las concentraciones de IGF-I no fueron afectadas por ninguno de los tratamiento en el fluido folicular pero GRF aumentó las concentraciones séricas de IGF-I.

La respuesta al tratamiento con GH en algunos trabajos no parece ser constante en relación a su efecto positivo sobre la producción de ovocitos, por ejemplo, en un trabajo con vacas y vaquillas usando rbGH, [Pavlok y cols.](#), (1996), encontraron que el desarrollo folicular no se afectó pero si se incrementó la calidad y desarrollo de los ovocitos. En otro trabajo en vaquillas sometidas a recolección de ovocitos por la vía transvaginal, que fueron tratadas semanalmente con 640 mg de rbST, no se observó un efecto significativo en el número de ovocitos recolectados ni en su posterior desarrollo hasta blastocitos después de FIV ([Bols y cols.](#), 1998).

Partiendo del conocimiento de que la GH tiene efectos en el desarrollo folicular en la vaca, [Izadyar y Cols.](#), (1996), probaron el efecto de la misma en la maduración nuclear y citoplasmática del ovocito bovino *in vitro*, encontrando que se aceleró significativamente la maduración nuclear, logrando finalmente un buen desarrollo embrionario hasta el estadio de blastocito, concluyendo que la presencia de GH durante la IVM tuvo un efecto benéfico en el desarrollo embrionario. En un trabajo posterior ([Izadyar y Cols.](#), 1997), observaron que la proporción de ovocitos fertilizados normalmente también se mejoró por la adición de GH durante la maduración *in vitro*.

Parece evidente que el uso de la rbST tiene efectos sobre la fertilidad siempre y cuando se aplique antes o bien al momento del celo ya que [Rodríguez](#) (1999) observó que aplicando 500 mg de rbST en los días 3 y 17 post inseminación no se obtuvo ningún efecto favorable en los porcentajes de preñez ni en la función del cuerpo lúteo en vacas de primer servicio o repetidoras, mientras que como se verá mas adelante, aplicando la hormona en cuestión antes del celo se observan diferentes grados de ventaja.

Por ejemplo, [Mendoza](#) (2000), aplicando 500 mg de rbST en vacas repetidoras al momento de la inseminación logró incrementar de un 35 a un 46% el porcentaje de concepción.

La administración de 500 mg de bST al momento de la inseminación artificial en vacas Holstein superovuladas durante su lactación, incrementó los porcentajes de fertilización y calidad embrionaria, de igual forma, en receptoras, aplicando bST al momento del celo y continuando el tratamiento cada 14 días, se logró un ligero incremento en los porcentajes de gestación ([Thatcher y cols.](#), 2001).

En vacas cebuinas superovuladas y tratadas con 500 mg de bST 5 días antes de iniciar el tratamiento superovulatorio, [Molina](#) (2000) reporta que no se observó efecto en la respuesta

a la superovulación en época de secas, mientras que en época de lluvias se mejoró el porcentaje de embriones transferibles. Morales (2000), después de aplicar 500 mg de rbST al inicio del estro en vacas superovuladas encontró una diferencia entre vacas de primer servicio y vacas repetidoras, observando que en las repetidoras se mejoró la calidad embrionaria 54.55% contra 87.38% respectivamente.

La aplicación de 320 mg de rbGH en vaquillas en el día 7 del ciclo sincronizado con $\text{PgF2}\alpha$, seguido de un tratamiento superovulatorio 5 días más tarde, incrementó el número de ovulaciones, el número total de ovocitos y embriones recuperados y el número de embriones transferibles de manera significativa, además se redujo la incidencia de quistes foliculares en las vaquillas tratadas ([Gong y cols., 1996](#)).

[Kuehner y cols.](#) (1999), aplicaron rBST a diferentes grupos de vaquillas en los días 4, 11 o 15 del ciclo mismas que fueron superovuladas a partir de día 11 e inseminadas el día 15, destacando en los resultados que aunque las tratadas el día 11 tuvieron un mayor número de cuerpos lúteos que las controles, las inyectadas el día 4 tuvieron un buen número de cuerpos lúteos y un mayor porcentaje de embriones transferibles

En ovejas sincronizadas con progestágenos en esponjas vaginales, se evaluó el efecto de la administración i.m. de 15 mg de rGH durante 7 días previo al tratamiento superovulatorio con FSH, se observó un incremento en el número de folículos desarrollados (mayores a 2.5 mm), pero no se reflejó en el número de ovulaciones ([Joyce](#), 1998). El tratamiento de ovejas con rGH (12.5 mg/día/7días), incrementó significativamente la población folicular entre 2.5 y 4.0 mm de diámetro mientras que redujo la población de folículos entre 1.0 y 2.0 mm, en el mismo trabajo se detectó que se elevaron los niveles séricos de GH, IGF1, Insulina y Progesterona ([Gong y Cols.](#), 1996).

Mientras que en otro trabajo con ovejas, [Folch y Cols.](#) (2001), administrando 0.50 mg de Hormona del crecimiento porcina (pGH), en el tercer (último) día del tratamiento superovulatorio con pFSH, encontraron que no se afectó el porcentaje de ovejas en estro pero se mejoró el grado de sincronización del mismo. Por otro lado la cantidad total de LH fue más baja en las ovejas tratadas que en las control y finalmente la proporción de ovocitos sin fertilizar y embriones degenerados fue menor en las tratadas lo que se tradujo en un mayor porcentaje de embriones transferibles y corderos nacidos por donadora. Ellos

argumentan que este resultado podría ser debido a una acción directa en la maduración de los ovocitos o a una acción indirecta en el micro ambiente del oviducto.

[Ugalde y Cols.](#) (2003), midieron el efecto de aplicación de GH porcina a ovejas receptoras sincronizadas con FGA y PMSG, encontrando que se elevó la tasa de ovulación y los niveles de progesterona, observando además, que la calidad de embriones de 2 días recuperados 3 días después de la transferencia fue ligeramente mayor en las tratadas que en las testigo.

2.2 OXIDACION

Las especies reactivas del oxígeno (ROS) constituyen átomos, iones y moléculas con uno o más electrones impares en el orbital más externo; así como moléculas derivadas del oxígeno que tengan alta capacidad reactiva. Estas especies pueden provocar daño en diferentes tejidos al interactuar con moléculas de importancia biológica. Por su potencial efecto destructivo el organismo utiliza potentes mecanismos para evitar la acumulación de estas formas radicálicas; entre éstos se encuentran medios antioxidantes endógenos constituidos por algunos sistemas enzimáticos y otros exógenos constituidos por algunas vitaminas. Uno de estos sistemas antioxidantes es el sistema glutatión peroxidasa (GPx)/glutatión reductasa (GRd). La GRd cataliza la reducción del glutatión oxidado (GSSG) a glutatión reducido (GSH) el cual será utilizado por la GPx para la reducción del peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y de lipoperóxidos (L-OOH), los cuales son elementos tóxicos. El sistema antioxidante GPx/GRd está relacionado con otros sistemas antioxidantes como el superóxido dismutasas/catalasa (SOD/CAT). Se ha observado que ambos sistemas no actúan a la par, la CAT actúa en presencia de altas concentraciones de H_2O_2 mientras que a bajas concentraciones actúa la GPx.

Las ROS incluyen el radical superóxido (O_2^-), el radical hidroxilo (OH) y el peróxido de hidrógeno (H_2O_2). Los radicales superóxido son generados en la mitocondria y son convertidos a peróxido de hidrógeno por la Superóxido Dismutasa (SOD). El peróxido de hidrógeno en presencia del radical superóxido y hierro forma el radical hidroxilo, una forma mas reactiva, la cual es convertida posteriormente en peróxido lipídico. Los radicales superóxido son transformados en agua por la GPx o la Catalasa (CAT). Los Lipoperóxidos son transformados en agua por la GPx o la glutatión-5-transferasa ([Kato y cols.](#), 1999).

Los radicales libres se producen de manera continua en las células aeróbicas y su acumulación podría causar daño y pérdida de función. Por ello las células cuentan con un sistema de defensa que remueve esos agentes para prevenir los daños oxidativos. Aunque potencialmente destructores, los radicales libres desempeñan también un papel benéfico para la célula como reguladores de la actividad metabólica. Por ejemplo, el radical superóxido (SOR) y oxidantes relacionados, inducen la formación de peróxidos lipídicos que estimulan la capacidad fosfolipasa A2 y ciclooxigenasa. Los peróxidos lipídicos regulan a la enzima mitocondrial Citocromo P450 que participa en la producción de progesterona a partir del colesterol. Sin embargo, en presencia de $\text{PGF2}\alpha$, se elevan los niveles de ROS a cantidades que interfieren con la función de LH y la esteroidogénesis causando una caída en los niveles de Progesterona, demostrando que aunque a niveles elevados inhiben la síntesis de Progesterona, se requieren niveles basales de ROS para una adecuada síntesis de Progesterona ([Sawada y Carlson](#), 1996).

2.3 EL SELENIO

a) Descripción general

Se le llamó selenio del griego “selene” (luna), debido a que el selenio está muy relacionado con el elemento Telurio, cuyo nombre viene de tierra. Fue descubierto y nombrado por un químico Sueco, Berzelius en 1817. En 1957 se confirmó su esencialidad nutricional, en 1973 se confirmó que el selenio es un nutrimento esencial para los animales de laboratorio. Hoy en día, hay la certidumbre de que es esencial en la dieta de todo individuo, funciona junto con la vitamina E y también se sabe que tiene función antioxidante igual que la vitamina E ([Arthur](#), 1993).

b) Funciones

La función específica bien conocida del selenio es la actividad dentro de la enzima GPx. Este es uno de los principales mecanismos antioxidantes que el cuerpo tiene. La participación del selenio a través de esta enzima se relaciona con la prevención del daño oxidativo a las grasas y ácidos nucleicos en las células. Esta es una de las maneras como se aceleran los mecanismos de envejecimiento celular. Además de formar parte de la enzima, el Se es un componente esencial de la iodotironina 5-deiodinasa (IDI), enzima que convierte a la Tiroxina (T4) en 3,5,3'-Triiodotironina (T3), forma activa de la hormona en

los diferentes tejidos ([Arthur y Beckett](#), 1999), por lo que animales con carencia de Se presentan elevados niveles de T4 y bajos niveles de T3, esta situación genera que ni hipotálamo ni hipófisis sean capaces de regular la secreción de TSH, ya que en estos tejidos como en el tejido adiposo marrón, la enzima IDI1, aunque no es una selenoenzima es inhibida por la deficiencia de Se, así en tejido adiposo, en donde la IDI1 participa en la actividad termogénica, provoca un incremento en la susceptibilidad al estrés por frío. El etiquetado en vivo con Se^{75} , indica que puede haber cuando menos 20 selenoproteínas funcionales y proteínas con selenio de enlace en tejidos de los mamíferos ([Arthur](#), 1993). El Selenio estimula también la función fagocítica.

En complementos se puede encontrar en forma inorgánica como selenito o selenato de sodio y como selenio orgánico. En los alimentos el selenio se encuentra en forma orgánica y en los suplementos, cuando es orgánico se saca principalmente de una levadura enriquecida con selenio. Hay alguna evidencia que las formas orgánicas son mejor aprovechadas, la forma más importante en que se encuentra el selenio en los alimentos es junto con un aminoácido, L-selenometionina. Esta forma orgánica del selenio se puede encontrar también en suplementos de levadura.

La forma química en la que se suministra el Se, tiene un efecto directo en su aprovechamiento cuando se instituye una suplementación de este mineral, misma que depende de la especie suplementada, [Mahan y Parret](#) (1996), compararon en cerdos en crecimiento y finalización el Selenio-Yeast (selenio orgánico) contra el Selenito de Sodio (selenio inorgánico), encontrando que el primero tuvo una mejor retención en el tejido muscular mientras que el segundo tuvo una mejor disponibilidad biológica para la actividad de la GPx. [Ortman y Pehrson](#) (1999), compararon fuentes inorgánicas (selenato y selenito de sodio) contra una fuente orgánica (selenio-yeast) observando que esta última forma fue mucho más efectiva para lograr un incremento en la concentración de Se en la leche; en otro trabajo similar, [Pehrson y Cols](#). (1999), comparando selenito contra selenio-yeast, encontraron que con Se-yeast, la actividad de la GPx en eritrocitos de las vacas fue mucho más elevada y que los becerros de las vacas que recibieron Se-yeast, tuvieron un estatus de selenio adecuado, mientras que [Koenig y Cols](#). (1996), trabajando con ovejas, determinaron que tanto las fuentes inorgánicas (Selenito de Sodio) como las orgánicas (Selenio-Yeast) pueden ser afectadas en su biodisponibilidad por la composición de la dieta.

En cuanto a la dosis de Se a suplementar, [Awadeh y cols.](#) (1998), evaluaron el suministro de 20, 60 y 120 ppm. de Se como Selenito y 60 ppm como Selenio-yeast, encontrando que con 60 y 120 ppm se mejoran las concentraciones de hormonas tiroideas e inmunoglobulinas medidas en el plasma sanguíneo de vacas y crías y en calostro de vacas suplementadas desde los 90 días antes del parto. [Enjalbert y cols.](#) (1999), encontraron que la suplementación con 45 mg. de Se como selenito de sodio, en vacas 15 días antes del parto, resultó en un adecuado estatus de Se hasta 98 días después del parto en las vacas y sus crías con una adecuada actividad de la *GPx*, resultado que no fue igual si se suplementaba después del parto.

Se sabe que la vitamina E y el Se son nutrimentos esenciales que constituyen una parte integral de la defensa antioxidante de tejidos y células y su demanda se incrementa en el periparto, período en el que su deficiencia suele favorecer infecciones intramamarias, incremento en el conteo de células somáticas y finalmente afección de la calidad de la leche, dichas alteraciones derivadas de un deterioro en la actividad de las células de defensa (polimorfonucleares). La vitamina E no es capaz de cruzar la barrera placentaria, pero si se secreta en grandes cantidades en el calostro, esto es importante porque tanto los becerros como los corderos nacen con deficiencia de vitamina E, por lo que requieren de consumir calostro rico en vitamina E, esto se garantiza si se suplementa a las hembras al final de la gestación, ello permitirá mejorar la respuesta inmune y con ello la salud tanto de madres como de crías ([McDowell y cols.](#), 1996; [Ferguson](#), 1996; [Cuesta y cols.](#), 1995; [Smith y cols.](#), 1997). En vacas, la aplicación de Se y Vit. E, 30 días después del parto, tuvo un efecto positivo sobre el parámetro parto-concepción ([Vázquez](#), 1994).

Los suelos en muchas de las regiones ganaderas del mundo son deficientes en Selenio (Se) y por lo tanto las pasturas que ahí se producen no contienen las cantidades de Se requeridas en la dieta, así pues, la deficiencia de Se en los suelos y consecuentemente en las pasturas presenta una distribución geográfica. [Dargatz y Ross](#) (1996), encontraron un 18.6 y 23.8% de ganado con deficiencias severas y marginales respectivamente en los estados del sureste de los Estados Unidos. En México se considera que hay amplias regiones con bajos niveles de Selenio en el suelo y por lo tanto en sus pasturas, en un estudio reciente hecho por [Ramírez-Bribiesca y cols.](#) (2001), se reportan bajos niveles de Selenio en dos distintas regiones del Estado de Tlaxcala, sugiriendo que gran parte del estado está en igualdad de

circunstancias, en el estudio se encontraron bajos niveles de selenio en las pasturas y en las cabras de las regiones estudiadas, este mismo autor en otro trabajo ([Ramírez-Bribiesca y Cols. 2001b](#)), reporta la deficiencia de Selenio como una de las principales causas de mortalidad en cabritos.

La administración profiláctica de Se en ovejas gestantes en el último tercio de preñez en un hato con historia de distrofia muscular de tipo nutricional, redujo considerablemente el problema en los corderos nacidos en los que se pudo detectar niveles de creatin fosfokinasa sérica más altos que en los corderos de ovejas no tratadas ([El-Neweehy y cols. 2001](#)).

Desde 1984 [Harrison y cols.](#), demostraron que la suplementación de vitamina E y Se previenen la retención placentaria de vacas alimentadas con forraje ensilado y que la inyección de Se antes del parto es efectiva en la reducción de la incidencia de metritis y quistes ováricos durante el postparto temprano. Lo anterior quizá debido a que el Se es capaz de mejorar la respuesta inmune ([Finch y Turner, 1996](#)). Se ha observado que la vitamina E y el Se aplicados de 10 a 5 días antes del parto mejoran la respuesta inmune reduciendo los problemas de mastitis y mejorando la calidad de la leche ([Smith y cols., 1997](#)).

En una revisión reciente de los requerimientos minerales en cabras [Meschy \(2000\)](#) destaca la importancia de los niveles de Se en cabras gestantes y en lactación para prevenir la enfermedad del músculo blanco en cabritos.

En el sistema reproductivo, el cuerpo lúteo es una de las estructuras ováricas más afectadas por la formación de radicales libres, así, uno de los sitios iniciales afectados por el proceso luteolítico parece ser la membrana plasmática, los cambios observados incluyen una elevación transitoria de los radicales superóxido, quienes causan cambios en la membrana que son los responsables de la disfunción del cuerpo lúteo en la rata ([Sawada y Carlson, 1991](#)). En el cuerpo lúteo las ROS son generadas en las células esteroideogénicas y en los fagocitos mononucleares. Durante la producción de progesterona en las células lúteas por acción de LH, se generan ROS, cuyos niveles son regulados por las enzimas antioxidantes y por la progesterona misma. En la fase lútea se observa un incremento en ROS, aparentemente debido al incremento en LH y la posible participación de $PgF2\alpha$, que además incrementa el calcio intracelular activando a la protein Kinasa-C afectando la

producción de progesterona por inhibición del transporte del colesterol (Niswender y cols. 1994).

Un efecto interesante del Se fue observado por [Kamada e Ikumo](#) (1997), cuando al adicionar Se a células lúteas cultivadas, registraron un incremento en la producción de progesterona y proliferación celular aparentemente debido a una disminución de la concentración de lipoperóxidos, estos son formados como subproductos de la síntesis de Progesterona por las células lúteas. [Basini y Tamanini](#) (2000), trabajando con células de la granulosa en cultivo, observaron que en presencia de FSH, el Se moduló la proliferación celular e incrementó la síntesis de estrógenos aparentemente por la inhibición en la síntesis de óxido nítrico.

La administración de Se y vitamina E en machos también tiene efectos favorables, al mejorar la calidad del semen de verracos ([Marin-Guzmán y cols.](#), 1997), pareciendo ser incluso esencial para el desarrollo y maduración espermática ([Marin-Guzmán y cols.](#), 2000).

[Kendall y cols.](#) (2000), suplementaron a corderos de 8 meses con bolos conteniendo Se y Zinc, encontrando que los perfiles sanguíneos mostraron un elevado nivel de Se y GPx en eritrocitos, lo que posiblemente mejoró considerablemente la calidad del semen en cuanto a motilidad, porcentaje de espermatozoides vivos e integridad de membrana.

En ovejas, la aplicación de Selenito de sodio inyectado antes del apareamiento y antes del parto mejoró significativamente la presentación del estro (100%), fertilidad (100%), peso de corderos a 28 días y ganancia diaria de peso ([Gabryszuk y Klewicz](#), 2002).

2.4 LA TRANSFERENCIA DE EMBRIONES

2.4.1 ANTECEDENTES

En las condiciones tradicionales de cría de ovinos y caprinos, el número de descendientes producidos por hembra y por año es aproximadamente de 2 ([Chemineau y cols.](#) 1991) sin superar los 6 u 8 al término de su vida. Este escaso potencial reproductor limita considerablemente las posibilidades de mejora y difusión en los progresos genéticos por la vía madre-hija. Es por ello que en los pequeños rumiantes como en otras especies, se han buscado metodologías para hacer más eficiente su cría, adoptando esquemas de manejo en

el aspecto reproductivo que ofrezcan un mayor control y mejores rendimientos en progenie durante la vida productiva de las hembras.

La primera estrategia que se implementó fue la selección y uso racional de sementales sobresalientes utilizados en rebaños sometidos a un seguimiento o supervisión reproductiva, mas tarde el esquema empezó a modificarse al introducirse poco a poco la técnica de Inseminación Artificial (IA), con la que además de tener cierto control sobre el comportamiento reproductivo del rebaño destaca la posibilidad de movilizar e intercambiar material genético (germoplasma masculino) entre puntos o zonas geográficamente distantes permitiendo introducir nuevos genotipos con mejores características productivas y de adaptación logrando así mejorar, en cierta medida, la productividad del rebaño. Para ello obviamente considerando una adecuada genética ([Faulkner y Pineda, 1977](#)), así como la calidad del semen procesado([Rao y Pandey 1977](#)), aunque se han encontrado problemas en la congelación del semen ovino ([Healey 1969](#); [Thasseron y cols., 1977](#); [Durán del Campo, 1980](#); [Valencia y cols., 1994](#)), que poco a poco han sido identificados, dando paso a diversas investigaciones que han permitido mejorar distintos aspectos de la técnica como son tipos de diluentes ([Ennen y cols., 1976](#); [Deka y Rao, 1985](#); [Azawi y cols., 1993](#); [Medrano y cols., 1994](#)), métodos de congelación ([Dhami y Sahni, 1993](#); [Pinzón y Trejo, 1994](#)). [Byrne y cols. \(2000\)](#), observaron que el semen congelado a 5°C/min tuvo una fertilidad *in vitro* del 57% contra solo un 26% del semen congelado a 0.5°C/min. En una prueba *in vivo* con inseminación intrauterina por laparoscopia, usando el mismo semen en ovejas superovuladas obtuvieron una fertilidad del 81.4% contra 39.3% para ambos procedimientos respectivamente. En la fertilización de ovejas sincronizadas inseminadas por vía laparoscópica o transcervical, nuevamente el porcentaje de fertilidad fue mayor para el semen congelado más rápido independientemente de la vía de inseminación. Otros aspectos de la IA en pequeños rumiantes han sido revisados por diferentes autores ([Guilbert y Almquist, 1978](#); [Corteel, 1981](#); [Deka y Rao, 1987](#); [Ritar y Salamon, 1991](#)). La IA en pequeños rumiantes ha evolucionado desde la inseminación pericervical hasta la actualmente difundida técnica de IA intrauterina por medio de laparoscopia ([Vallet y cols., 1992](#); [Maxwell y cols., 1984](#)). Todos los aspectos mencionados han sido ampliamente evaluados por [Holt \(2000\)](#) revisión en la que trata los principios básicos de la criopreservación y los daños en la congelación, crioprotectores y aditivos, aspectos

prácticos en la criopreservación, control de enfermedades y valoración del semen congelado y descongelado. Una revisión similar fue hecha por [Leboeuf](#) y cols. (2000) en caprinos y [Salamon y Maxwell](#) (2000) en ovinos. Para que la IA pueda aplicarse con éxito, independientemente del método utilizado se requiere de una cuidadosa elección del momento óptimo para lograr un buen grado de fertilización para lo que se requiere de conocer el momento preciso de la presentación del celo, para facilitar lo anterior en pequeños rumiantes se recurre a la inducción sincronizada del celo de tal manera que se pueda estimar el tiempo de la ovulación haciéndola coincidir con la IA hecho que difiere entre hembras con ciclo normal y hembras sometidas al tratamiento estimulador de la superovulación, así por ejemplo, se ha visto que las ovejas sincronizadas con implante subcutáneo (Sincomate-B) y superovuladas con FSH presentan la ovulación en un período de tiempo que va hasta las 48 horas de retirado el implante, las concentraciones de LH se mantienen elevadas durante el primer día para descender en el segundo día de retirados los implantes, también se ha registrado que hasta un tercio de los folículos pueden permanecer sin ovular ([Stenbak y cols.](#), 2003).

Como se puede ver hasta aquí, las metodologías mencionadas se encaminan a lograr el mejoramiento genético reproduciendo de manera masiva al macho. Actualmente, con la técnica de Transferencia de Embriones (TE), se tiene la posibilidad de lograr un número de descendencia mucho mayor al natural de una hembra sobresaliente.

Para los programas de mejora genética, la TE es a menudo más económico que el desplazamiento de animales vivos, y de menor riesgo desde el punto de vista sanitario, ya que el embrión en los primeros estadios de desarrollo goza de una protección natural contra los agentes infecciosos, como ha sido demostrado en diversos trabajos ([Chemineau y cols.](#), 1986; [Hare y cols.](#), 1988) y para lo que han sido propuestos protocolos de procesamiento de embriones ([Anónimo](#), 1990).

La TE es un método de reproducción artificial basado en la transferencia, antes de la implantación, de embriones generados por una hembra donadora (madre genética) a hembras receptoras (madres portadoras) que aseguran el desarrollo de los mismos hasta el final de la gestación. La aplicación de este método en los animales domésticos puede servir para multitud de objetivos de orden genético, económico y sanitario.

Por otro lado, la TE constituye un complemento muy útil de la inseminación artificial en el mejoramiento genético de los animales domésticos

La TE está constituida por una serie de etapas técnicas que parten de un determinado número de donadoras y termina con productos vivos nacidos después del trasplante. Con el fin de aumentar la descendencia, una hembra donadora podrá ser inducida a varios ciclos sucesivos de producción de embriones ([Baril y Cols., 1993](#)).

Las hembras donantes seleccionadas por su alto valor genético (potencial de producción, ejemplares únicos, etc.) reciben un tratamiento para la sincronización del celo y de estimulación ovárica que conduce a una superovulación que permite generar un número de ovocitos netamente superior a las posibilidades naturales. ([Baril y Cols., 1990](#); [Baril y cols., 1992](#))

La fecundación de estos ovocitos es obtenida generalmente por inseminación artificial con semen procedente de machos de alto valor genético (por ejemplo, probados sobre su descendencia respecto a la mejora de ciertos caracteres de producción).

Los embriones son extraídos a los siete días de desarrollo gestacional por vía quirúrgica o mediante control endoscópico. Estos podrán ser transferidos a hembras receptoras sin valor genético, directamente o después de una fase de crioconservación. El ciclo sexual de las receptoras se sincroniza previamente mediante un tratamiento hormonal para asegurar a los embriones transplantados un entorno uterino adaptado biológicamente a su estadio de desarrollo. ([Baril y Cols., 1993](#)).

Los primeros trasplantes de embriones en los caprinos y ovinos datan de más de 50 años ([Warwick et al., 1934](#)). a partir de los años sesenta se han realizado, numerosos trabajos sobre todo en Australia ([Moore y Rowson, 1960](#)) y Nueva Zelanda ([Tervit y Goold, 1984](#)). Estos trabajos han contribuido a precisar mejor las condiciones y posibilidades de la producción y transferencia de embriones en las especies y a aumentar su eficacia.

Sin embargo, la práctica de este método está poco desarrollada en los pequeños rumiantes, mientras que alcanza un desarrollo importante en los bovinos desde hace unos 30 años. En esta especie, tan solo para el año de 1990 se estima que fueron transferidos 300,000 embriones en el mundo ([Nibart, 1991](#)), y solamente algunos miles en diferentes razas de ovinos y caprinos. Esta relación parece guardar la misma proporción hoy en día pese a que poco a poco se han mejorado las técnicas en pequeñas especies, quedando claro que

algunos países (Australia, Nueva Zelanda, Francia, etc.) destacan con cifras sobresalientes, gracias a que en ellos se practica la técnica de manera rutinaria desde hace varios años ([FAO](#), 1991)

2.3.2 VENTAJAS DE LA TECNICA

El incremento del número de descendientes por hembra gracias al trasplante de embriones hace de esta técnica un instrumento de elección tanto para la creación de líneas genéticas como para la difusión del progreso genético. Este método aporta por otra parte una solución al problema de la protección de genotipos amenazados de extinción.

El progreso genético con la transferencia de embriones se basa en los siguientes puntos:

- a) Aumento de la presión de selección. Gracias al aumento del número de descendientes por hembra, se puede reducir el número de madres seleccionadas de una generación para procrear la generación siguiente de reproductores destinados a la renovación del rebaño, aumentando en consecuencia la presión de selección.
- b) Aumento de la precisión en la selección. La procreación de un elevado número de descendientes ofrece la oportunidad de mejorar el valor genético de las hembras por medio del control de los resultados de sus hermanas y sus hijas que viven en diferentes medios. Ello permite también incorporar criterios complementarios de selección.
- c) Reducción del intervalo entre generaciones. La posibilidad de acrecentar rápidamente la descendencia de las hembras jóvenes permite reducir el intervalo entre generaciones y aprovechar esta ventaja para difundir más rápidamente reproductores de alto valor genético y acelerar en consecuencia el progreso genético.

De manera similar en que el desarrollo de la inseminación artificial permite una amplia difusión de la mejora genética por vía paterna, el trasplante de embriones, ofrece un medio eficaz para incrementar sensiblemente la difusión del potencial genético por vía materna a través del aumento a algunas decenas de productos de la descendencia de hembras de alto valor genético.

Es un hecho que, al menos en pequeños rumiantes, existen, al igual que en especies salvajes, algunas razas en peligro de extinción y el trasplante de embriones podría constituir un instrumento complementario, junto con otras medidas para incrementar la eficacia en el rescate de dichas especies ([FAO](#), 1991)

En el aspecto sanitario, mientras que la propagación de enfermedades infecciosas está asociada íntimamente a los animales vivos, numerosos estudios han demostrado que el trasplante de embriones significa una barrera para la transmisión de algunos agentes víricos ([Singh y cols.](#), 1982 a,b; [McVicar y cols.](#), 1986; [Singh y cols.](#), 1986; [Stringfellow y cols.](#), 1990) o bacterianos conocidos ([Stringfellow y cols.](#), 1982; [Voelkel y cols.](#), 1983).

En el aspecto económico, la posibilidad de multiplicar la descendencia de hembras de alto valor económico abre al trasplante de embriones multitud de posibilidades puramente comerciales ya que la comercialización de embriones se presenta como un medio a la vez sanitariamente satisfactorio y económicamente rentable respecto a intercambios de material genético.

2.3.3 DESARROLLO DE LA TECNICA

En los pequeños rumiantes, como en cualquier otra especie doméstica en que se aplique esta técnica, deberán contemplarse los siguientes pasos:

- 1.- Selección de la donadoras y receptoras
- 2.- Tratamiento de Superovulación
- 3.- Sincronización de las Receptoras
- 4.- Inseminación Artificial de la Donadora
- 5.- Obtención de los Embriones (Lavado Uterino)
- 6.- Búsqueda y Evaluación Embrionaria
- 7.- Transferencia en Fresco
- 8.- Congelación Embrionaria

1.- Selección de donadoras y receptoras. Evidentemente, el elemento fundamental en que se basa la elección de una donadora, es su valor genético conforme a criterios apropiados de aptitudes zootécnicas investigadas en la raza en cuestión. En cambio, en la selección de receptoras no se tienen en cuenta este tipo de exigencias. Donadoras y receptoras deberán satisfacer los criterios fisiológicos y sanitarios que condicionan el éxito de las operaciones ([FAO.](#), 1991; [Armstrong y cols.](#), 1983; [Baril y Cols.](#), 1993 y [Kanagawa](#), 1993):

- Todas las hembras escogidas deben haber tenido un parto en la temporada reproductiva anterior y deberá haber transcurrido un tiempo razonable después de éste antes de

iniciar los tratamientos según la raza, para una fertilidad adecuada ya que de lo contrario se puede esperar una fertilidad reducida.

- Deberán rechazarse los animales que presenten líquidos vaginales que puedan revelar metritis.
- Si existe la menor duda de una posible gestación deberán descartarse, incluso las hembras con posible pseudogestación.
- Las donadoras, en particular, deberán contar con antecedentes de buena fertilidad y si ya fue sometida a algún tratamiento previo, evaluar la respuesta presentada con la finalidad de no incluir animales que pudieran haber desarrollado anticuerpos contra la hormona utilizada para superovular.
- Donadoras y receptoras deberán ser sometidas a diagnóstico de enfermedades contagiosas que pudieran afectarles en su respuesta al tratamiento.
- Con base en un estudio coproparasitoscópico, donadoras y receptoras deberán recibir un tratamiento antiparasitario específico en contra de la infestación observada por lo menos un mes antes de iniciar el tratamiento.
- Se recomienda la práctica del “Flushing” desde por lo menos tres semanas antes de iniciar el tratamiento en donadoras y receptoras, especialmente cuando la alimentación no satisface la totalidad de las necesidades energéticas.
- Finalmente, es recomendable manejar sistemas de identificación clara y permanente de los animales, para evitar confusiones y manejo excesivo, para ello conviene también agrupar a los animales participantes con anticipación razonable para evitar estrés. ([Baril y Cols.](#), 1993).

2.- Tratamiento de superovulación. El tratamiento hormonal específico de donadoras, está destinado a inducir la superovulación y el celo en un momento predeterminado. Estos tratamientos producen de hecho un estímulo temporal de la actividad ovárica, imitando los mecanismos endocrinos que controlan los ciclos sexuales en condiciones naturales.

Las hormonas que suelen utilizarse para este efecto son las gonadotropinas, que regularmente suelen administrarse en la fase final del diestro o inicio del proestro; dado que difícilmente se podría calcular el momento óptimo de inicio del tratamiento en un ciclo natural, se suele superovular a las donadoras al final de un tratamiento con progestágenos, situación que nos permite obtener un mayor número de ovulaciones y un celo sincronizado.

Las hormonas gonadotrópicas más usadas para este fin son:

- ❖ PMSG (Gonadotropina Sérica de Yegua Preñada) o eCG (Gonadotropina Coriónica equina), es una gonadotropina extraída del suero de yeguas gestantes, se caracteriza por tener una vida media más o menos larga de aproximadamente 40 horas, lo que le confiere una actividad biológica prolongada. Posee una doble actividad (LH y FSH) siendo la actividad LH 4 veces mayor que FSH, ambas características parecen provocar anomalías en la maduración de ovocitos ([Moore y cols.](#), 1985) y por la consecuente alteración hormonal después del celo, durante la fecundación y las primeras fases de desarrollo del huevo, la producción de embriones resulta de mala calidad. La dosis a administrar deberá ser calculada considerando la edad, peso, raza de la donadora, estado fisiológico, producción de leche, época del año y en su caso dosis-respuesta a tratamientos anteriores, suelen ser suficientes de 750 a 2000 U.I en una sola inyección aplicada 48 horas antes de finalizar el tratamiento progestativo, de sincronización e inductivo de estro ([Armstrong y Evans](#), 1983; [Armstrong y cols.](#), 1983; [Tsunoda y Sugie](#), 1989). Con el propósito de disminuir el efecto negativo sobre los embriones provocado por las dos características mencionadas se han hecho trabajos combinando el tratamiento de PMSG con suero anti-PMSG aplicado al inicio del estro o bien sustituyendo una parte de la dosis de PMSG por FSH ([Pintado y cols.](#), 1998).
- ❖ FSH (Hormona folículo Estimulante), esta es la hormona que más frecuentemente se emplea para inducir la superovulación en los pequeños rumiantes. Los preparados de FSH de origen porcino u ovino actualmente comercializados, proceden de los extractos hipofisarios parcialmente purificados cuya actividad FSH varía con cada producto. Además, el contenido de LH de estos preparados es igualmente variable según el origen del producto, así como por lote de fabricación. Por otra parte, a menudo no se indica al usuario la relación FSH/LH de los diferentes preparados comerciales ([Baril y Cols.](#), 1992)

La inducción repetida de la superovulación con pFSH produce en los caprinos una disminución de la respuesta ovulatoria debido a la aparición de anticuerpos anti pFSH.

Esta disminución se observa en el 40-50% de las cabras a partir del tercer tratamiento con pFSH y en el 70 a 80% al cuarto o quinto tratamiento.

La actividad de enlace FSH debida a la presencia de anticuerpos antihormona se puede determinar por evaluación radioinmunológica realizada a partir de plasma sanguíneo. Existe una correlación negativa entre la tasa de enlace de pFSH determinada dos o tres semanas después del tratamiento y el número de ovulaciones en el tratamiento siguiente, para un intervalo entre tratamientos de 7 semanas ([Remy y cols.](#), 1991).

En el caso de los caprinos, la investigación sobre la presencia eventual de anticuerpos puede ser por tanto útil para la selección de cabras donadoras antes de un nuevo tratamiento con pFSH. En las cabras que presentan una baja tasa de enlace de pFSH después del tratamiento, el número de ovulaciones en el tratamiento siguiente es similar al de las hembras tratadas por primera vez, mientras que es muy bajo en las que la tasa de enlace de pFSH es más elevado ([Baril y cols.](#), 1990).

La administración reiterada de FSH de origen caprino u ovino (OVAGEN-ICP) no determina en las cabras disminución alguna de la respuesta ovulatoria ([Baril y cols.](#), 1992).

Las cantidades de FSH que han de administrarse para obtener una superovulación se expresan en miligramos del estándar Armour. El miligramo Armour es una unidad de actividad de un ensayo biológico correspondiente a unos 10-14 microgramos de FSH pura.

La dosis total eficaz varía ampliamente según el preparado hormonal utilizado y el genotipo de la donante, por lo que debería determinarse previamente por medio de una curva de dosis-respuesta. Las dosis totales de pFSH más generalizadas en las ovejas y las cabras están comprendidas entre 16 y 21 mg Armour, equivalentes a aproximadamente 150 a 200 mg NIH (PLM) sin embargo estas dosis podrían ser insuficientes o excesivas dependiendo del genotipo ([FAO](#), 1991).

3.- Sincronización de las Receptoras. El objetivo principal es provocar que las Receptoras estén en celo en forma agrupada en un corto intervalo de tiempo con el fin de hacer coincidir su estado fisiológico con el correspondiente a la edad de los embriones que han de transferirse, condición favorable para la continuación de su desarrollo después del trasplante. La sincronización del celo se obtiene mediante la administración de progestágenos o de prostaglandinas.

Utilización de progestágenos. El tratamiento puede diferir por el tipo de progestágeno empleado (Progesterona, F.G.A., M.A.P. o Norgestomet), así como por la vía de administración (inyección, dispositivos intravaginales o implantes subcutáneos).

En Cabras se ha probado con éxito la aplicación de esponjas vaginales de poliuretano impregnadas con 45 mg de Acetato de Fluorogestona (F.G.A.), durante un período de 10 a 12 días presentando el celo a las 63 horas de retiradas las esponjas en promedio ([Evans y Maxwell](#), 1987; [FAO](#), 1991; [Baril y Cols.](#), 1993).

Utilización de Prostaglandinas. El tratamiento con prostaglandinas está dirigido a la destrucción de un cuerpo lúteo presente en alguno de los ovarios, por lo que solo será efectivo en la fase lútea del ciclo, en cabras de 6 a 17 días del ciclo. Para lograr la sincronización de un buen número de cabras podría emplearse un esquema de doble aplicación con un intervalo de 10 a 14 días. El celo se presentará generalmente entre el segundo y tercer día de la segunda aplicación ([Evans y Maxwell](#), 1987; [FAO](#), 1991).

4.- Inseminación Artificial de la donadora. El control de la fecundación de los ovocitos resultantes de la inducción de la superovulación es un punto clave de la producción *in vivo* de embriones de calidad. La fecundación de donadoras se puede conseguir bien por monta natural, en régimen libre o controlado, o bien por inseminación artificial, con semen fresco o congelado, alternativa mayormente utilizada ya que nos permite el uso de sementales sobresalientes; la inseminación artificial puede realizarse por la vía cervical o intrauterina bajo control endoscópico ([Armstrong y Evans](#), 1983), siendo esta última más eficaz en cuanto a fertilidad se refiere.

5.- Recolección de Embriones. La recolección en cabras se realiza en general el sexto o séptimo día después del inicio del celo. En cabras se pueden utilizar tres diferentes métodos, el transvaginal que resulta ser el menos traumático pero su eficiencia se está mejorando ([Suyadi y cols.](#), 2000, [Lima-Verde y cols.](#), 2003), la recolección por laparoscopia, que dependiendo de la habilidad del técnico puede superar al anterior en eficiencia ([Vallet y cols.](#), 1987, [McKelvey y cols.](#), 1986) y finalmente el más eficiente en cuanto a porcentaje de estructuras embrionarias recuperadas es el quirúrgico con apoyo laparoscópico ([Baril y cols.](#), 1993). Los embriones se recogen mediante lavados sucesivos de los dos cuernos uterinos. Para ello se introduce una solución fisiológica por un extremo de los cuernos uterinos, recogiéndose por el otro mediante un catéter colector, favoreciendo con el flujo formado el arrastre de los embriones, el medio se colecta en un recipiente protegido de la luz solar y se lleva cuanto antes a la búsqueda y evaluación microscópica de los embriones

6.- Búsqueda y evaluación embrionaria. Para la búsqueda y evaluación embrionaria se utiliza un microscopio estereoscópico con 15 a 45 aumentos respectivamente. Todo el material que entre en contacto con los embriones deberá ser estéril. El medio obtenido del lavado uterino se coloca en una caja de petri, de preferencia cuadriculada para controlar la búsqueda de los embriones, mismos que conforme van siendo encontrados se van pasando a otra caja con medio fresco de mantenimiento en donde serán evaluados con base en su apreciación morfológica, registrando su apariencia física y su grado de desarrollo ([Baril y Cols.](#), 1993).

7.- Transferencia embrionaria. La transferencia de embriones se puede realizar en fresco, una vez evaluados los embriones o bien se pueden transferir embriones descongelados, es recomendable transferir dos embriones por receptora, colocados en el tercio anterior del cuerno ipsilateral al ovario que presente el o los cuerpos lúteos ([Armstrong y Evans 1983](#), [Armstrong y cols., 1983](#)). Cualquiera que sea el tipo de embrión a transferir es importante seleccionar adecuadamente a las receptoras desde el punto de vista sanitario, nutricional y reproductivo. La receptora se deberá encontrar en una etapa del ciclo correspondiente a la edad de los embriones a transferir. El método de transferencia más comúnmente empleado en la actualidad es el método semiquirúrgico con apoyo endoscópico.

8.- Congelación embrionaria. El destino inmediato de los embriones dependerá del objetivo del programa de producción y de la disponibilidad de receptoras. Los embriones pueden ser preservados bajo congelación en Nitrógeno líquido. El método de congelación de embriones caprinos no difiere mucho del de bovinos y básicamente consiste en colocar los embriones en un medio para congelación que contará con un agente crioprotector, la velocidad de enfriamiento puede variar al igual que el tipo de medio requerido ([Tervit y Goold.](#), 1984)

2.3.4 INFLUENCIA DEL ESTADO NUTRICIONAL EN LA RESPUESTA A LA SUPEROVULACIÓN

Las deficiencias energéticas, proteínicas y de minerales o vitaminas, o cualquier otro desequilibrio en la alimentación, son factores bien identificados que originan problemas en la reproducción en los siguientes aspectos: regularidad en los ciclos estrales, intensidad de

los períodos estrales, tasa de concepción, muertes embrionarias, abortos, retención de membranas fetales, salud y desarrollo normal del producto, largo del período de gestación, incidencia de metritis y funcionamiento normal del ovario ([FAO](#), 1991).

La administración de un tratamiento de superovulación en cabras que han recibido una ración alimenticia insuficiente puede ser causa de luteólisis prematura en cerca de la mitad de los animales ([Jabbour y cols.](#), 1991), que se traduce en disminución espectacular de la progesteronemia y con ello alteraciones en la producción y el desarrollo embrionario.

[Hall y cols.](#) (1994) observaron que el nivel energético de la dieta influye en el inicio de la pubertad en vaquillas, mas que la administración de bST y que los niveles de insulina fueron mayores en el lote consumiendo alta energía y en los que recibieron bST. Algo similar observaron ([Gutiérrez y cols.](#), 1997) ya que al realizar un incremento temporal en el plano nutricional observaron que se favorecía el reclutamiento folicular al tiempo que se detectó un incremento en los niveles de insulina circulantes.

Resultados similares encontraron [Radcliff y cols.](#) (2000), quienes administraron bST a uno de dos grupos de vacas holstein suplementadas con una dieta alta en energía y proteína desde los 135 kg hasta el diagnóstico de gestación misma que no resultó afectada y que además midieron la producción de leche de la primera lactación sin que ésta presentara diferencias entre grupos.

Los conceptos nutricionales que comúnmente se manejan son energía, proteína, minerales y vitaminas. De todos ellos son los minerales los que menos atención reciben en la alimentación ya sea por falta de información de su disponibilidad en forrajes o por la falta de preparados con el adecuado balance para suplementar y precisamente es en las funciones reproductivas en las que se incrementa la importancia de los minerales, más aún en circunstancias en que se le exige al organismo respuestas que van más allá del funcionamiento fisiológico normal como lo es el caso de los tratamientos para inducir una multiovulación.

Uno de los elementos traza que ha demostrado tener una interesante participación en los procesos metabólicos y reproductivos es el Selenio cuya función está intrínsecamente ligada a la vitamina E ([García Bojalil](#), 1997).

3. JUSTIFICACION

La técnica de Transferencia de Embriones, como herramienta de mejoramiento genético, encuentra como principal obstáculo en su difusión, el grado de eficiencia que muchas veces no es óptimo y que por consiguiente eleva los costos de producción, es decir, depende de la respuesta individual al tratamiento con la FSH, entre menor sea esta respuesta el costo de inversión por embrión obtenido se eleva, por lo que es conveniente encontrar las alternativas que permitan mejorar la respuesta al tratamiento y elevar la eficiencia de la técnica para a su vez mejorar su productividad y rentabilidad. El éxito de la técnica radica en el número de embriones transferibles por tratamiento superovulatorio, para llegar a ello primero se debe lograr una buena estimulación en el desarrollo y maduración de folículos y con ellos de ovocitos, después, un buen número de ovulaciones con un alto grado de sincronía, en seguida, una eficiente fertilización y finalmente un buen desarrollo embrionario. Como se puede ver participa de todo el proceso reproductivo de un ciclo pero multiplicado en cuanto al número de ovocitos participando. Por lo anterior es importante encontrar un esquema de soporte al tratamiento superovulatorio que permita mejorar los resultados. El trabajo aquí propuesto se encamina a evaluar la suma de los efectos demostrados en pro del funcionamiento de los mecanismos reproductivos obtenidos con la administración de Selenio y Hormona del Crecimiento.

4. OBJETIVOS

a) GENERAL

Investigar el efecto de la adición de selenio y/o somatotropina en el número de ovulaciones y embriones transferibles como respuesta al tratamiento superovulatorio en cabras tratadas con FSH.

b) ESPECIFICOS

1.- Evaluar el efecto del tratamiento con Selenio sobre la respuesta al tratamiento superovulatorio con FSH y porcentaje de embriones transferibles en cabras.

2.- Evaluar el efecto del tratamiento con rbGH sobre la respuesta al tratamiento superovulatorio con FSH y porcentaje de embriones transferibles en cabras.

3.- Evaluar la suma de los efectos producidos por el tratamiento simultáneo con Selenio más la rbGH, sobre la respuesta al tratamiento superovulatorio con FSH y porcentaje de embriones transferibles en cabras.

5. HIPOTESIS

La administración de Selenio y rbGH, dadas sus acciones sobre el metabolismo y procesos reproductivos, es capaz de mejorar la respuesta a la superovulación en cabras, aumentando el número de ovulaciones y de embriones transferibles en esta especie.

6. MATERIAL Y METODOS

6.1 AMBIENTE

El trabajo se llevó a cabo durante los meses de Marzo a Junio, en las instalaciones de la Cátedra de Reproducción y Genética en Ovinos y Caprinos de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, ubicada a 2450 msnm, a 19° 43' de latitud norte y a 99° 14' de longitud poniente ([García 1973](#)).

6.2 UNIDADES EXPERIMENTALES

Se utilizaron 40 cabras fenotipo $\frac{1}{4}$ Criollo y $\frac{3}{4}$ Nubia con edades de 2 a 5 años, mantenidas en sistema estabulado, sin antecedentes de problemas reproductivos ni sanitarios, con un período postparto de más de 4 meses.

Un mes antes del experimento, los animales fueron tratados con vitaminas A,D,E y desparasitados.

Veinte días antes de iniciar el experimento, las cabras identificadas con aretes metálicos y de plástico, fueron lotificadas por talla y peso para disminuir el estrés por dominancia y mantenidas en pisos de concreto con bebederos de pvc y comederos de lámina con contenedores para forraje. La dieta estuvo integrada por alfalfa achicalada a libre acceso y 300 g de alimento concentrado comercial con 12% de Proteína suministrado de manera individual para asegurar su consumo. Lo que les permitió llegar a la prueba con una condición corporal homogénea para todo el lote, presentando grados de 3.5 a 4 en la escala de 1 a 5.

6.3 GRUPOS EXPERIMENTALES

Para el experimento, los animales se lotificaron al azar por edad y peso en cuatro grupos que recibieron los siguientes tratamientos sin ser cambiados de su corral original:

Grupo rbST (rbST, n=10): Aplicación subcutánea de 160 mg de rbST (Boostin-G, Schering-Plough) en el pliegue anocaudal 7 días antes del tratamiento superovulatorio

repitiéndolo a los 14 días y cápsulas vacías desde 16 días antes del tratamiento superovulatorio y hasta el día de la recolección como placebo imitando el tratamiento de los grupos con Se.

Grupo rbST-Se (rbST-Se, n=10): Tratamiento con rbST similar al grupo anterior y una cápsula diaria vía oral conteniendo 380 mg de Selenio orgánico (Sel-Plex, Alltech, Mex.) desde 16 días antes del tratamiento superovulatorio y hasta el día de la recolección.

Grupo Selenio (Se, n=10): Tratamiento con selenio similar al grupo anterior así como inyecciones de solución salina fisiológica sustituyendo al esquema utilizado en el primer grupo para rbST.

Grupo Testigo (T, n=10): Sin tratamientos de selenio y rbST, recibieron inyecciones de solución salina fisiológica sustituyendo a rbST y cápsulas vacías vía oral en lugar de Selenio.

6.4 PROCESO EXPERIMENTAL

El experimento dio inicio con la primera administración oral de Selenio (día 1) a los grupos rbST-Se y Se. El tratamiento y el placebo en los diferentes grupos se suministró diariamente durante todo el experimento.

En el día 8 los animales fueron sometidos a un tratamiento de sincronización mediante la inserción de esponjas vaginales con 45 mg de FGA (Chronogest, Intervet).

En el día 10 se aplicó la rbST o la solución salina fisiológica en los grupos correspondientes.

El día 17 se inició el tratamiento superovulatorio con 188 mg de FSH (Folltropin-Vetrepharm) repartidos en ocho aplicaciones con intervalo de 12 horas en un esquema decreciente (28/28, 24/24, 22/22 y 20/20), al tiempo de la quinta inyección de FSH se aplicaron 50 mcg de Cloprostenol (Sincronizador de celo-Cheminova).

El día 20, al momento de la séptima inyección de FSH se retiraron las esponjas.

La detección de celos se hizo por exposición directa de la cabra al semental, 24 horas después de retiradas las esponjas (día 21).

Las cabras recibieron montas dirigidas a las 0, 12, y 24 hs de presentado el celo, considerando como inicio del celo el momento de aceptación del macho después de varias

exposiciones al mismo en el tiempo teórico estimado para el inicio del celo después de retirar las esponjas vaginales.

El método de recolección de embriones utilizado fue el quirúrgico realizándose los días 6.5-7.0 después del celo (día 27). (Ver Figura 1, el mapa conceptual de más adelante)

6.5 RECOLECCION EMBRIONARIA

Las cabras con un ayuno de 24 hs fueron afeitadas en un área aproximada de 20 x 20 cm delante de la glándula mamaria, en seguida se indujo la anestesia mediante la administración intravenosa de Clorhidrato de Xilazina a razón de 0.1 mg por kilogramo de peso, una vez en la mesa de cirugía, la anestesia se reforzó con la administración intravenosa de Clorhidrato de Ketamina a razón de 5 mg por kg de peso.

El área afeitada se desinfectó con cloruro de Benzalconio y en seguida se realizó una laparoscopia con la finalidad de evaluar la respuesta al tratamiento superovulatorio antes de iniciar el procedimiento quirúrgico.

Para facilitar la laparoscopia, la mesa se inclinó hasta 45 grados aproximadamente.

Antes de la cirugía, se aplicaron 10 ml vía subcutánea de Xilocaína a lo largo de la línea media e inmediatamente delante de la glándula mamaria.

Se realizó una incisión de 8 a 10 cm sobre la línea blanca delante de la ubre y se exteriorizaron los cuernos uterinos y ovarios, en este acto se contaron y registraron los cuerpos lúteos presentes, en seguida en la base del cuerno uterino se instaló una sonda Foley de dos vías calibre 12. Cada cuerno uterino fue lavado con 50 ml de medio de recolección (Advantage-Biolife), introducido por una punción realizada cerca de la unión útero-tubárica, utilizando para ello una jeringa Air-tite conectada a un cateter semirígido de 2 mm de diámetro (IVF-Sherwood). El medio introducido a una presión constante fue recogido por la sonda Foley y recibido en un tubo de centrifuga de 50 ml. Una vez lavados ambos cuernos cada tubo se pasó al laboratorio para la búsqueda y evaluación embrionaria. Se depositó un millón de UI de penicilina en la cavidad antes de cerrar la incisión por planos y finalmente se realizó una aplicación tópica de cicatrizante (Topazone) y una inyección intramuscular de 75 mcg de Cloprostenol para lisar los cuerpos lúteos. El tratamiento antibiótico se continuó por 5 días.

6.6 CLASIFICACION EMBRIONARIA

La búsqueda de los embriones en el medio de recolección se llevo a cabo con microscopio estereoscópico a un aumento de 15x y la evaluación embrionaria a 60x.

Para la evaluación embrionaria se tomaron en cuenta las siguientes consideraciones:

La apropiada clasificación y evaluación de los embriones determina la valoración de su viabilidad y predicción del porcentaje de los embriones transferidos que podrían resultar en preñeces, es decir aporta el criterio de decisión para determinar que embriones deberán transferirse y a que receptoras. La transferencia de ovocitos o embriones degenerados podrían provocar una drástica disminución en los porcentajes de preñez y un aumento en los costos de la técnica. Estas consideraciones han sido tomadas en cuenta por varios especialistas (Lindner y Wright, 1983; Dorn y Kraemer, 1987 y Kuzan, 1990), llegando prácticamente a unificarse los criterios de evaluación destacando dos aspectos principales que son el estadio de desarrollo y la morfología del embrión. Ambas valoraciones son subjetivas pero basadas en características definidas.

Para facilitar el manejo de la información surgida de la evaluación, la International Embryo Transfer Society (IETS) ha propuesto una guía para la clasificación de los embriones (tablas 1 y 2)

Tabla 1

Evaluación del grado de desarrollo Embrionario

NUMERO	ESTADIO
1	No fertilizado
2	2 a 12 células
3	Mórula temprana
4	Mórula compacta
5	Blastocito temprano
6	Blastocito maduro
7	Blastocito expandido
8	Blastocito en eclosión
9	Blastocito eclucionado

Tabla 2

Evaluación de la calidad morfológica

NUMERO	CALIDAD
1	Excelentes
2	Buenos
3	Regulares
4	Malos y degenerados

6.7 VARIABLES DE RESPUESTA

El efecto de los tratamientos se evaluó a través de las siguientes variables de respuesta:

- Tasa ovulatoria: Efecto superovulador del tratamiento, cuantificado con base en el número de cuerpos lúteos observados.
- Grado de fertilización: Total de embriones recuperados a la recolección.
- Calidad embrionaria: Total de embriones transferibles.

Se tomaron muestras sanguíneas en tubos vacutainer con EDTA los días 1 para determinación de Gpx, día 10 para determinación de IGF1, 17 para determinación de Gpx e IGF1, 22, 24 y 26 para determinación de P4 y el día 28 para determinación de Gpx, IGF1 y P4, las muestras se mantuvieron refrigeradas hasta su centrifugación a 3800 rpm durante 15 minutos para la separación de plasma y una vez separado éste en tubos de 6 ml de policarbonato se mantienen en congelación para su análisis posterior.

La determinación de la actividad de Glutación Peroxidasa (GSH-Px), se realizó mediante un ensayo que mide de manera indirecta la actividad de la Glutación Peroxidasa (Paglia y Valentine 1967) a través de la velocidad de oxidación del glutati6n reducido (GSH) por el per6xido de hidr6geno, reacci6n catalizada por la GSH-Px presente en la muestra. El Glutati6n se mantiene a una concentraci6n constante mediante la adici6n del mismo y de NADPH, el cual inmediatamente convierte algo del glutati6n oxidado (GSSG) producido a su forma reducida por la enzima Glutati6n Reductasa (GSSG-R):



La oxidaci6n de NADPH a NADP^+ esta acompa~ada por una disminuci6n en la absorbancia de la mezcla de reacci6n a 340 nm proporcionando medidas espectrofotom6tricas para monitorear la velocidad de formaci6n de GSSG y , por ende, la actividad de la enzima GSH-Px. La velocidad de disminuci6n en la absorbancia es directamente proporcional a la actividad de la GSH-Px en la muestra.

Para la realizaci6n de esta prueba en plasma se utilizan:

1.- Un buffer de fosfatos a un pH de 7.0, elaborado con Fosfato de potasio monobásico, fosfato de potasio dibásico, EDTA 5.5 mM y Azida de sodio 4.7 mM.

2.- Peróxido de hidrógeno al 30% diluido en agua desionizada.

3.- Mezcla de reacción consistente en:

NADPH, Glutatión reducido, Glutatión reductasa y Buffer de fosfatos

La evaluación de IGF1 se llevó a cabo mediante el uso del kit en fase sólida ICN Pharmaceutical el cual trabaja mediante una prueba de radioinmunoensayo

Para la medición de la Progesterona se utilizó el kit en fase sólida ICN Pharmaceutical basado también en prueba de radioinmunoensayo.

En el desarrollo del presente experimento se procuró el bienestar de los animales y ninguno tuvo consecuencias contra su salud, todos fueron atendidos hasta la completa recuperación de las cirugías realizadas.

7. ANALISIS ESTADÍSTICO

La evaluación estadística se llevó a cabo con el programa STAT GRAPHICS mediante un análisis de Varianza de dos vías para evaluar las variables de resultados de las recolecciones y un análisis de varianza multifactorial para datos repetidos para evaluar los niveles hormonales, utilizando como covariables la edad y el peso de la cabra al inicio del trabajo, de acuerdo al siguiente modelo matemático:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + \beta_1(P_n - P_{\tilde{n}}) + \beta_2(E_n - E_{\tilde{n}}) + E_{ij}$$

Donde:

Y_{ijk} - Es la variable de respuesta.

μ Es la media poblacional constante.

T_i ($i = 1 - 4$) Es el efecto del tratamiento.

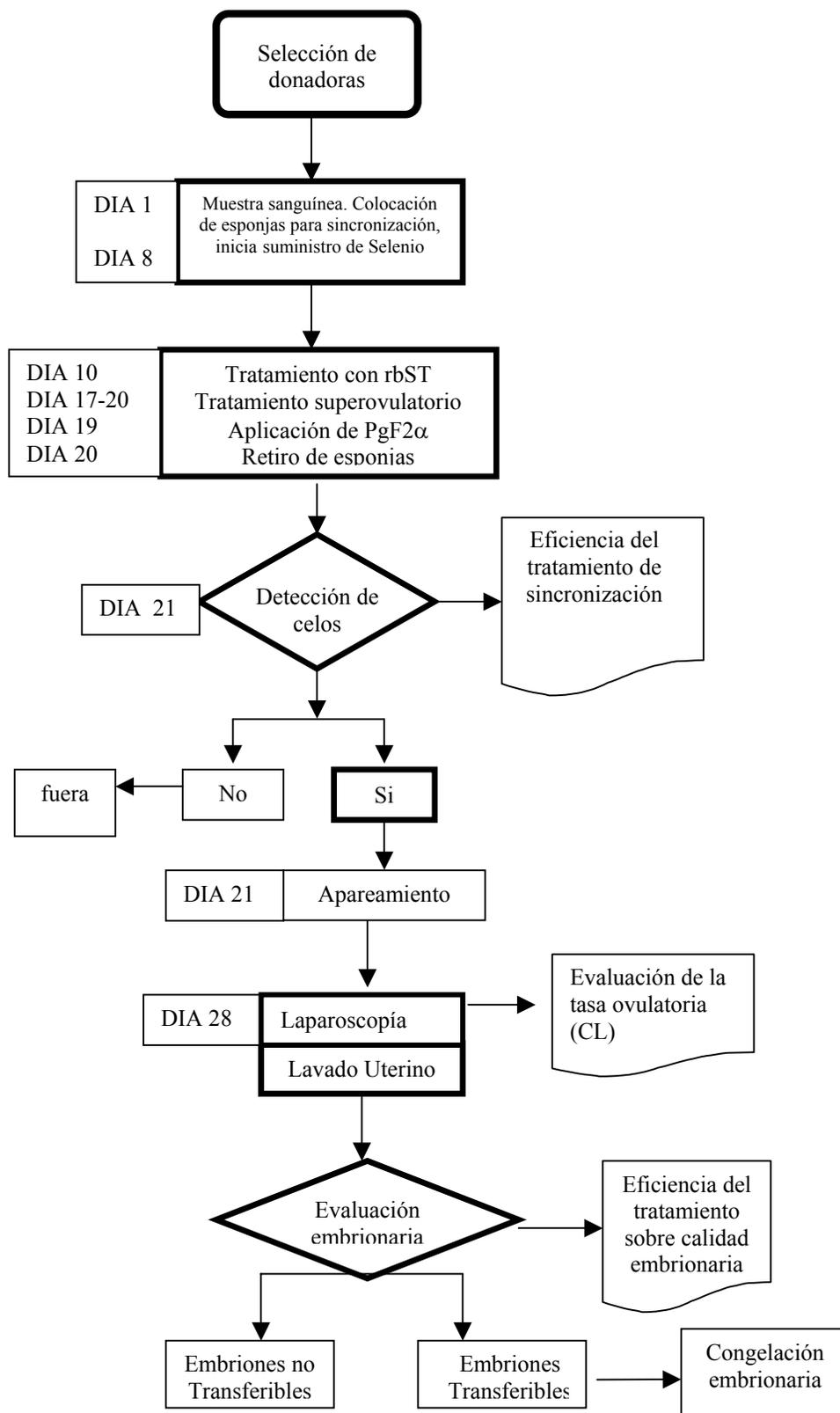
$\beta_1 (P_n - P_{\tilde{n}})$ Es el peso inicial utilizado como covariable.

$\beta_2 (E_n - E_{\tilde{n}})$ Es la edad utilizada como covariable.

E_{ij} Es el error aleatorio asociado a cada observación.

Para evaluar la obtención de los diferentes estadios embrionarios se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis para la comparación de medianas.

Figura 1. MAPA CONCEPTUAL DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN



8. RESULTADOS

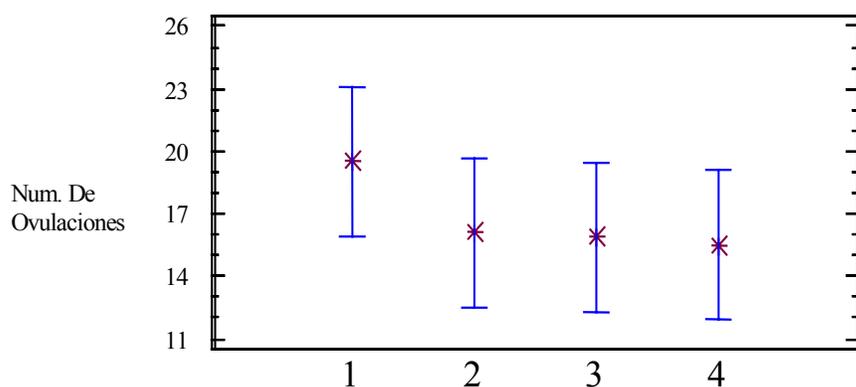
La composición de los grupos se vió modificada por el hecho de que dos cabras perdieron la esponja durante el tratamiento (grupo rbST y grupo rbST-Se), dos cabras padecieron una mastitis aguda (grupo rbST y testigo), a otra no se le retiró la esponja (grupo rbST-Se) y tres salieron del experimento por diferentes problemas de salud, por tal motivo los grupos quedaron integrados por 8 animales cada uno.

La presentación de celos fue muy uniforme pues solo dos cabras se atrasaron 12 horas con respecto al tiempo esperado.

8.1 NUMERO DE OVULACIONES

A pesar de que las medias tienden a ser mayores para los grupos de tratamientos (gráfica 1), la diferencia no resultó significativa en el análisis de varianza para el número de ovulaciones observadas por tratamiento.

Gráfica 1.- Medias de ovulaciones en cabras superovuladas con FSH y tratadas con rBST y/o Selenio.

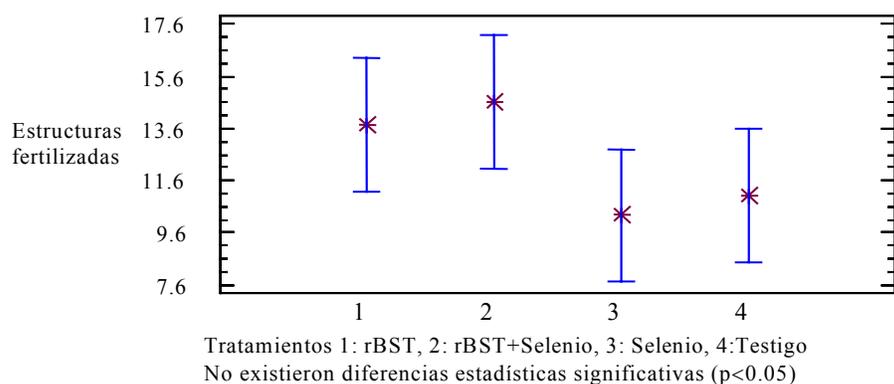


Tratamientos 1: rBST, 2: rBST+Selenio, 3: Selenio, 4: Testigo
No existieron diferencias significativas ($p < 0.05$)

8.2 EMBRIONES TOTALES

Las estructuras recuperadas fueron 114, 117, 88 y 89, mientras que los fertilizados fueron 110, 117, 82 y 88, por lo que el porcentaje de fertilización fue de 96.5, 100, 93.18 y 98.8 para los grupos rbST, rbST+Se, Se y Testigo respectivamente (Gráfica 2).

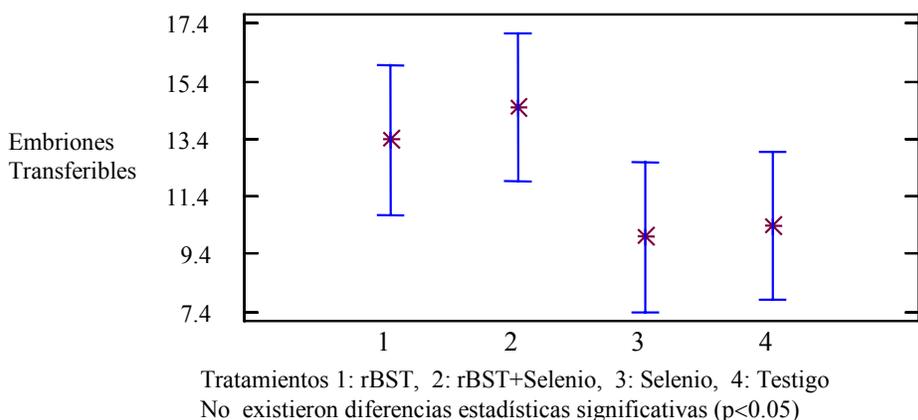
Gráfica 2.- Medias para Fertilización en cabras superovuladas con FSH y tratadas con rbST y/o Selenio



8.3 EMBRIONES TRANSFERIBLES

El número de embriones transferibles obtenidos fue de 107, 116, 80 y 83, datos que representan el 97.3, 99.1, 97.6 y 94.3 por ciento del total de fertilizados para los grupos rbST, rbST+Se, Se y testigo respectivamente, las medias pueden ser observadas en la gráfica 3, las diferencias no fueron significativas.

Gráfica 3.- Medias para el número de embriones transferibles obtenidos de cabras superovuladas con FSH y tratadas con rbST y/o Selenio



8.4 DESARROLLO EMBRIONARIO

El grado de desarrollo embrionario entre grupos se muestra en la tabla 3. Como se puede observar, las medias y porcentajes para blastocitos tienden a ser superiores en los grupos rbST, sin embargo no hay diferencia estadística.

Tabla 1. Grados de desarrollo embrionario obtenido en cabras superovuladas y tratadas con rbST y/o Selenio

GRUPO	BLASTOCITOS (%)	MORULAS (%)
rbST	9.4 ± 7.7 (65.7)	4.0 ± 4.4 (34.3)
rbST-Se	10.6 ± 7.3 (66.7)	3.9 ± 3.3 (33.3)
Se	5.6 ± 3.8 (59.4)	4.4 ± 3.8 (40.6)
Testigo	56.5 ± 5.6 (57.5)	3.9 ± 4.0 (42.5)

Medias ± Desviaciones estándar y porcentajes $p > 0.05$

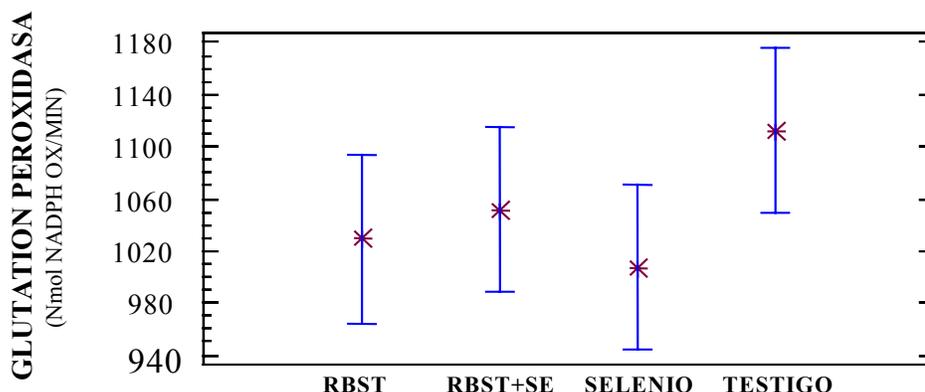
En vista de que las desviaciones estándar resultan demasiado grandes se corrió la prueba de Kruskal-Wallis en la que se evalúan las medianas, observándose que definitivamente no hay diferencia estadística para ninguno de los dos conceptos evaluados ($p < 0.05$).

No se presentan datos respecto a la calidad embrionaria porque se recolectaron blastocitos, blastocitos expandidos y blastocitos eclosionados, todos ellos clasificados como de calidad 1, solo las mórulas obtenidas fueron de calidad 1 y 2.

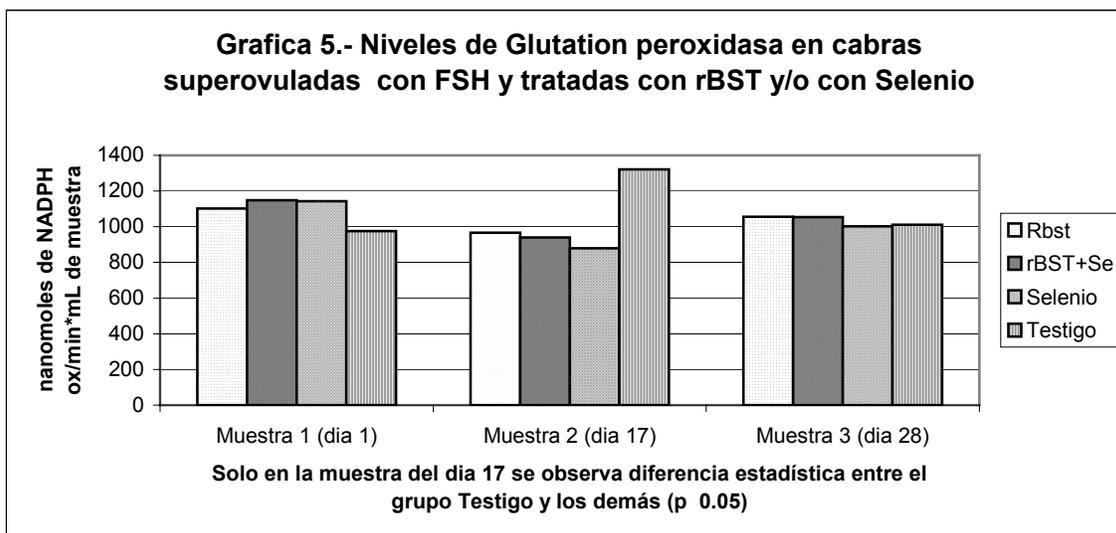
8.5 DETERMINACION DE GLUTATION PEROXIDASA

Con la finalidad de evaluar el efecto de la administración del selenio orgánico (Selplex) sobre la actividad antioxidante se determinó la actividad de Glutación peroxidasa por medio de una prueba indirecta e inversa, evaluando la velocidad de oxidación del glutatión reducido (GSH) por el peróxido, catalizada por la cGSH-Px presente en la muestra, interpretándose como nanomoles de NADPH oxidado por minuto por mililitro de las muestras sanguíneas tomadas los días: 1 para la determinación de niveles basales en todos los grupos, en el día 17 y en el día 28 (gráfica 4), observando que solo en el sangrado del día 17 los niveles de Glutación peroxidasa fueron estadísticamente diferentes para el grupo testigo respecto a los demás (gráfica 5), en los demás sangrados y entre todos los grupos no hubo diferencia estadística.

Grafica 4.- NIVELES DE GLUTATION PEROXIDASA EN CABRAS SUPEROVULADAS CON FSH Y TRATADAS CON RBST Y/O CON SELENIO



NO HAY DIFERENCIA ESTADÍSTICA SIGNIFICATIVA ENTRE TRATAMIENTOS ($P < 0.05$)

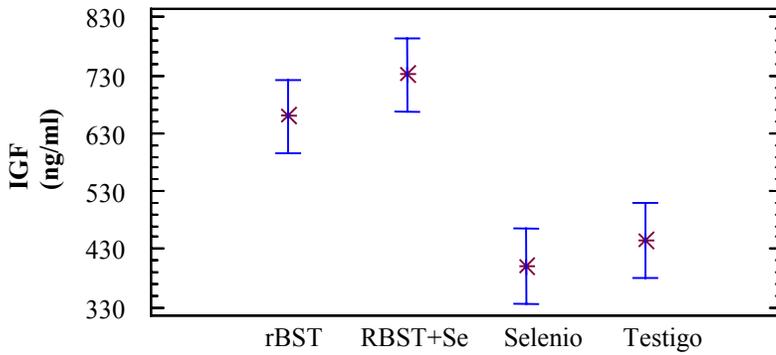


8.6 DETERMINACION DE IGF

Las medias para los diferentes tratamientos aparecen en la gráfica 6 en donde se aprecia una diferencia estadística de los grupos rBST y rBST+Se con respecto de los grupos Selenio y Testigo. En el análisis por muestra donde se reflejan los niveles de IGF medidos los días 10 (al momento de la administración de rBST), 17 y 28. Los valores para la muestra 1 correspondiente al día 10 no presentaron ninguna diferencia estadística

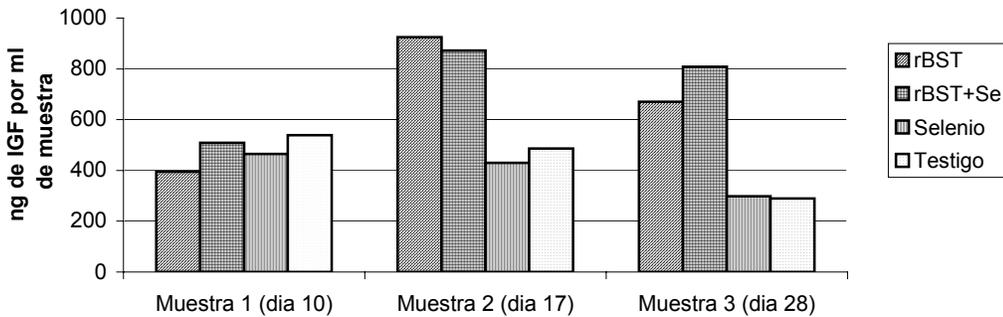
significativa entre grupos como era de esperarse. Mientras que cuando la muestra se tomó el día 17 ya se pudo observar un efecto significativo entre grupos como respuesta a la administración del rbST, mismo que se mantuvo reflejándose en la muestra del día 28 (Gráfica 7).

Gráfica 6.- Niveles de IGF en cabras superovuladas con FSH y tratadas con rBST y/o Selenio



Se observa diferencia estadística de los grupos rBST y RBST+Se respecto de los grupos Selenio y Testigo

Grafica 7.- Niveles de IGF en cabras superovuladas con FSH y tratadas con rBST y/o Selenio

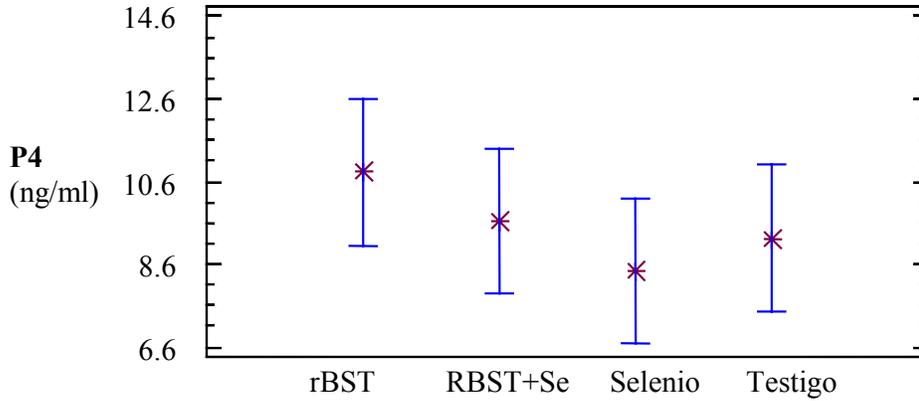


Diferencias estadísticas significativas entre grupos rBST y rBST+Se respecto de los grupos Se y Testigo solo para las muestras de los días 17 y 28 (p 0.05)

8.7 DETERMINACION DE PROGESTERONA

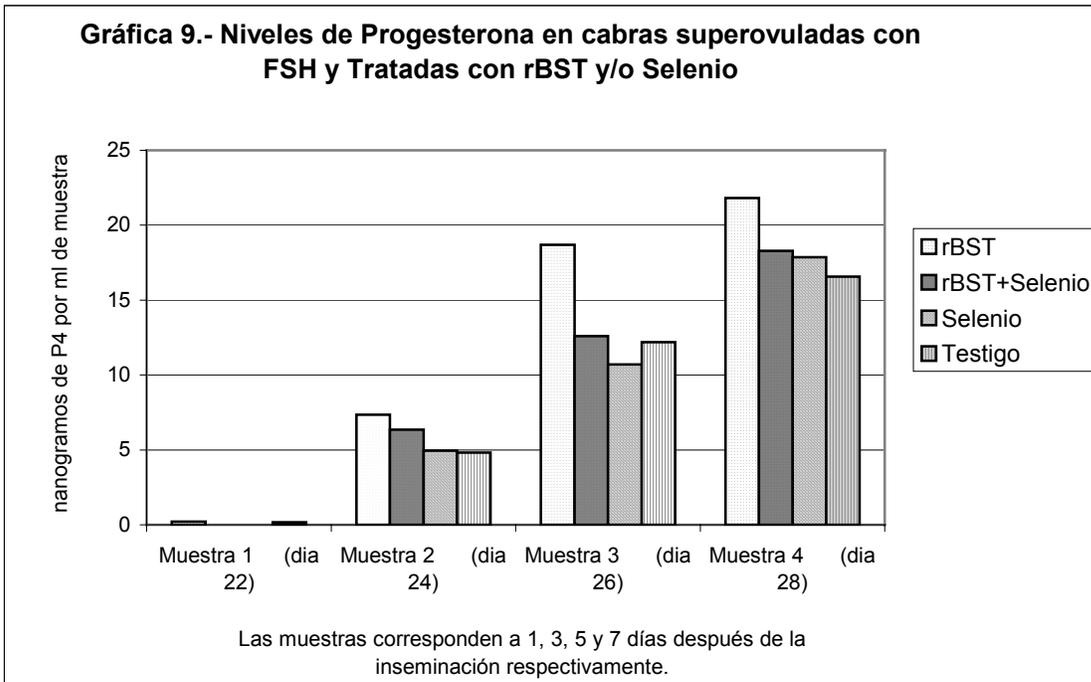
Al analizar los niveles de progesterona para los diferentes tratamientos no se observa diferencia estadística entre los mismos (gráfica 8) mientras que cuando se analizan los niveles de progesterona por número de muestra (gráfica 9) como era de esperarse se observa un incremento conforme el muestreo se aleja del día de la ovulación.

Gráfica 8.- Niveles de Progesterona en cabras superovuladas con FSH y tratadas con rBST y/o Selenio



No hubo diferencia estadística para los diferentes tratamientos ($p < 0.05$)

Gráfica 9.- Niveles de Progesterona en cabras superovuladas con FSH y Tratadas con rBST y/o Selenio



Las muestras corresponden a 1, 3, 5 y 7 días después de la inseminación respectivamente.

Se alcanza a apreciar una ligera diferencia (no significativa) entre grupos para los niveles de progesterona de las muestras de los días 26 y 28, lo que pudiera estar reflejando la misma diferencia que se observa al comparar los diferentes grupos en el número de ovulaciones (Gráfica 1) es decir una aparente relación entre número de cuerpos lúteos y nivel de progesterona.

9. DISCUSION.

La presentación de celos fue muy uniforme pues solo dos cabras se atrasaron 12 horas con respecto al tiempo esperado de 36 horas, de manera similar a lo observado por Gabryszuk y Klewiec (2002) en ovejas en un programa normal de empadre tratadas con selenito de sodio inyectado, de la misma manera Folch y cols. (2001), no observaron efecto sobre la presentación de celos cuando administraron rbST en ovejas superovuladas, lo que sugiere que si bien los tratamientos a base de selenio y/o rbST pueden afectar la ovulación y la calidad de ovocitos, no influyen sobre la secreción de las hormonas que determinan la conducta del estro.

9.1 NUMERO DE OVULACIONES

A pesar de que las medias tienden a ser mayores para los grupos con tratamientos de selenio o rbST la diferencia no resultó significativa para el número de ovulaciones observadas por tratamiento, resultado parecido al obtenido por Joyce y cols. (1998), Folch y cols. (2001), en ovejas superovuladas, tratadas con rbST. Sin embargo aunque la GH no es considerada como una hormona que regula en forma primaria la reproducción, alguna literatura indica que tiene acciones en diversas funciones reproductivas, entre otras cosas participa en la esteroidogénesis gonadal y la ovulación. Por sus efectos sobre la función gonadal particularmente estimulando la foliculogénesis se le ha llegado a considerar una cogonadotropina ([Hull y Harvey 2002](#)).

La eficiencia en la recolección, referida como la proporción de estructuras recuperadas contra el número de ovulaciones observadas, aunque es diferente entre algunos grupos no se considera como un efecto de tratamiento ya que es fuertemente influenciada por la técnica y el técnico que realiza la recolección embrionaria y en cierta medida por efecto mecánico, ya que se observó que en algunos casos en que el ovario presentaba una sobreestimulación evidenciada por un exagerado número de cuerpos lúteos, no se recolectó ninguna estructura del cuerno ipsilateral a ovarios con ese tipo de respuesta. Se infiere que posiblemente el tamaño del ovario superovulado alcanzó dimensiones superiores a las de la bolsa ovárica y por lo tanto se salió de la misma provocando con ello que los ovocitos liberados hayan sido vertidos directamente a la cavidad fuera de la bolsa ovárica.

9.2 EMBRIONES TOTALES

El porcentaje de fertilización fue superior al 93% en todos los grupos y aunque se pudo observar una ligera tendencia que favoreció a los grupos rbST y rbST+Se, no hubo diferencia significativa, esto se puede atribuir a que se utilizaron animales de un grupo seleccionado con base a eficiencia reproductiva, teniéndose cabras nacidas de partos gemelares y los sementales con antecedentes de fertilidad (Trejo y col, 2003).

9.3 EMBRIONES TRANSFERIBLES Y DESARROLLO EMBRIONARIO.

El número de embriones transferibles obtenidos fue alto con respecto a la literatura, siendo el valor superior al 94% en todos los grupos, el grado de desarrollo embrionario mostró que prevalecieron los blastocitos aunque no existieron diferencias entre grupos. Trabajando con ovejas, [Folch y Cols.](#) (2001), administraron 0.50 mg de Hormona del crecimiento porcina (pGH), en el tercero y último día del tratamiento superovulatorio con pFSH, y encontraron que la cantidad total de LH fue más baja en las ovejas tratadas que en las control y finalmente la proporción de ovocitos sin fertilizar y embriones degenerados fue menor en las tratadas lo que se tradujo en un mayor porcentaje de embriones transferibles y corderos nacidos por donadora. Ellos argumentan que este resultado podría ser debido a una acción directa en la maduración de los ovocitos o a una acción indirecta en el micro ambiente del oviducto, es de extrañar que en el presente trabajo, los porcentajes de fertilización y embriones transferibles fueron altos independientemente de los tratamientos, lo que sugiere que la preparación nutricional antes de iniciar los tratamientos actuó estimulando la actividad ovárica.

Aunque otros autores mencionan efectos favorables aplicando GH ([Ugalde y Cols.](#), 2003), en ovejas y([Thatcher y cols.](#) 2001; [Molina](#) 2000; Morales 2000; [Gong y cols.](#), 1996; [Kuehner y cols.](#) 1999) en bovinos, en este trabajo fue posible observar que ese efecto favorable puede eliminarse o enmascarse bajo otras circunstancias como lo refleja el trabajo de [Gutiérrez y cols.](#) (1997), con vaquillas en las que un incremento el plano nutricional fue determinante en actividad ovárica.

9.4 DETERMINACION DE IGF

Cuando las muestras se tomaron el día 7 después de la aplicación de rbST, como era de esperarse se observó un efecto significativo entre grupos como respuesta a la administración de la hormona, sin embargo, estos niveles de IGF no fueron capaces de marcar una diferencia en el porcentaje de fertilización o calidad de los cigotos, lo que

sugiere que existen otros mecanismos ováricos o hipofisiarios que mejoran estos parámetros.

9.5 DETERMINACION DE GLUTATION PEROXIDASA

Se observó solo en el sangrado del día 16 que los niveles de Glutación peroxidasa fueron superiores en el grupo tratado, con respecto a los grupos rbST+Se y Se, en los demás sangrados y entre los otros grupos no hubo diferencia, esto sugiere que podrían existir otros antioxidantes en la dieta suministrada. Recordando que entre los sistemas antioxidantes está el sistema glutación peroxidasa (GPx)/glutación reductasa (GRd). La GRd cataliza la reducción del glutación oxidado (GSSG) a glutación reducido (GSH) el cual será utilizado por la GPx para la reducción del peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y de lipoperóxidos (L-OOH), los cuales son elementos tóxicos. Este sistema antioxidante GPx/GRd está relacionado con otras vías metabólicas antioxidantes como el superóxido dismutasas/catalasa (SOD/CAT), y se ha observado que ambos sistemas no actúan a la par, la CAT actúa en presencia de altas concentraciones de H_2O_2 mientras que a bajas concentraciones actúa la GPx.

9.6 DETERMINACION DE PROGESTERONA

Para la progesterona no existieron diferencias entre los grupos, lo cual se encuentra acorde con la buena respuesta ovulatoria en todos los grupos.

Finalmente, se concluye que los tratamientos empleados no tuvieron un efecto significativo y que la leve tendencia favorable a los mismos no permite afirmar que con ellos pudiera mejorar la respuesta en los parámetros evaluados en las dosis y esquema de tratamiento aplicados en el presente trabajo, las buenas respuestas observadas de manera general en los diferentes grupos parece mas bien deberse a un efecto del flushing suministrado de manera similar en todos los grupos.

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

- Anonymous, (1990). Recommendations for the sanitary handling of embryos. In: Stringfellow, D.A., Seidel, S.M. (Eds), *Manual of the Internatrional Embryo Transfer Society* (Second Edition), pp. 41-45, IETS, Champaign, IL. ([regresar al texto](#)) (ok)
- Armstrong D.T. y Evans G., (1983). Factors influencing success of embryo transfer in sheep and goats. *Theriogenology*, 19: 31-42. ([regresar al texto](#)) ([resumen](#)).
- Armstrong J. D., Harvey R. W., Poore M. A., Simpson R. B., Miller D. C., Gregory G. M., y Hartnell G. F. (1995). Recombinant Bovine Somatotropin Increases Milk Yield and Calf Gain in Diverse Breeds of Beef Cattle: Associated Changes in Hormones and Indices of Metabolism. *J. Anim. Sci.* 73:3051–3061. ([artículo](#)) ([regresar al texto](#))
- Armstrong D.T., Pfizner A.P. Warnes G.M. y Seamark R.F., (1983). Superovulation treatment and embryo transfer in Angora goats. *J. Reprod. Fert.*, 67: 403-410. ([regresar al texto](#))
- Arthur J.R., Nicol F. y Beckett G.J.(1999). Selenium deficiency, thyroid hormone metabolism, and thyroid hormone deiodinases. *Am.J. of Clin. Nutr.*, 57:236-239. ([regresar al texto](#))
- Arthur J.R.(1993). Las funciones bioquímicas del selenio: Relaciones con el metabolismo de la tiroides y los sistemas antioxidantes. Biotecnología de la industria de la alimentación Animal, *Altech México*. Vol VII:159-176. ([regresar al texto](#)) (ok)
- Awadeh F.T., Kincaid R.L. y Johnson K.A. (1998). Effect of level and source of dietary selenium on concentrations of thyroid hormones and immunoglobulins in beef cows an calves. *J. Anim. Sci.* 76:1204-1215. ([resumen](#)) ([regresar al texto](#))
- Azawi O.I., Al-Dahash S.Y.A. y Juma F.T., (1993). Effect of diferent diluents on Shami goat semen. *Small Rumin. Res.* 9:347-352. ([Regresar al texto](#)) ([resumen](#))
- Bachelot A., Monget P., Imbert-Bolloré P., Coshigano K., Kopchick J.J., Kelly P.A. y Binart N. (2002). Growth Hormone Is Required for Ovarian Follicular Growth. *Endocrinology* Vol. 143, No. 10:4104-4112 ([resumen](#)) ([regresar al texto](#))

- Baril G., Brebion P. y Chesné P. (1993). Manual de formación para la transferencia embrionaria en la cabra y la oveja. FAO . [\(regresar al texto\)](#)
- Baril G., Chouvet C., Dufour R., Rémy B., Vallet. J.C., Chupin, D., Saumande, J. y Beckers J.F., (1990). Are decreased superovulatory responses in goats related to porcine follicle stimulating hormone antibodies? *6th Scientific Meeting of European Embryo Transfer Association*, Lyon, France, 1:118 [\(regresar al texto\)](#)
- Baril G., Remy B., Leboeuf B., Vallet J:C. Beckers J.F. y Saumande J., (1992). Comparison of porcine FSH, Caprine FSH and ovine FSH to induce repeated superovulation in goats. *8th Scientific Meeting of European Embryo Transfer Association*, Lyon, France, 1:126 (Abstract).C. N. [\(regresar al texto\)](#)
- Bols P.E.J., Ysebaert M.T., Lein A., Coryn M., Van Soom A y deKruif A. (1998). Effects of long-term treatment with bovine somatotropin on follicular dynamics and subsequent oocyte and blastocyst yield in an OPU-IVF program. *Theriogenology* 49, 5:983-995. [\(resumen\)](#) [\(regresar al texto\)](#).
- Byrne G.P., Lonergan P., Wadem., Duffy P., Donovan A., Hanrahan J.P. y Boland M.P. (2000). Effect of freezing rate of ram spermatozoa on subsequent fertility in vivo and in vitro. *Animal Reproduction Science*, 62:265-275. [\(artículo\)](#) [\(regresar al texto\)](#)
- Basini G. and Tamanini C.(2000). Selenium stimulates estradiol production in bovine granulosa cells: possible involvement of nitric oxide. *Dom. Anim. Endocr.*, 18, 1:1-17. [\(resumen\)](#) [\(regresar al texto\)](#)
- Brozos C.N., Ph. Saratsis, Boscós C., Kyriakis S. C. y Alexopoulos C. (1999). The effect of bovine somatotropin (bST) administration on reproduction, progesterone concentration during lactation and LH secretion during estrus, in dairy ewes. *Anim. Rep. Sci.*, 56, 3-4:177-187. [\(resumen\)](#) [\(regresar al texto\)](#)
- Caballero G.V. (1995) Fertilidad de embriones frescos y congelados transferidos por laparoscopia en cabras Tesis de Maestría, UNAM. [\(regresar al texto\)](#)

- Chadio S.D., Zervas G., Kiriakov K., Goulas C. Y Menegaotos J., (2000). Effects of recombinant bovine somatotropin administration to lactating goats. *Small Rum. Research. Vol. 35, Issue 3:263-269* ([Resumen](#)) ([regresar al texto](#))
- Chemineau P., Cagnié Y., Guérin Y., Orgeur P. y Vallet J.C. (1991). Training manual on artificial insemination in sheep and goats. Reproduction Physiology Station, *INRA*; Nouzilly 3780, Monnaie, Grance. ([Regresar al texto](#))
- Chemineau P., Procureur R., Cagnié Y., Lefébre P.C., Locatelli A. And Chupin D., (1986). Production, freezing and transfer of embryos from a bluetongue-infected goat herd without bluetongue transmission. *Theriogenology*, 26: 279-290. ([resumen](#)) ([regresar al texto](#))
- Chiofoloa V., Baldib A., Saboinia G., Polidoric F., Dell'Ortob V. y Politisd I., (1999). Response of dairy ewes in late lactation to recombinant bovine somatotropin. *Small Rum. Res. 34, 2:119-125*. ([resumen](#)) ([regresar al texto](#))
- Cohick W.S. Plaut K., Sechen S.J. y Bauman D.E. (1989) Temporal pattern of insulin-like growth factor-I response to exogenous bovine somatotropin in lactating cows. *Domest Anim Endocrinol.* 6, 3:263-73. ([regresar al texto](#)) ([resumen](#))
- Cohick W.S. (1998). Role of the Insulin-like Growth Factors and their binding proteins in lactation. *J.l of Dairy Sci.* 81:1769-1779. ([regresar al texto](#)) ([artículo](#))
- Cohick W.S., McGuire M.A., Clemmons D.R. y Bauman D.E. (1992). Regulation of insulin-like growth factor-binding proteins in serum and lymph of lactating cows by somatotropin. *Endocrinology*, 130: 1508-1514. ([regresar al texto](#)) ([resumen](#)).
- Corteel J.M., (1981). Collection, processing and artificial insemination of goat semen. *Goat Production*. Edit. Gall, ed. Academic Press. London. ([regresar al texto](#))
- Cuesta P.A., McDowel L. R., Kunkle W.E., Wilkinson N.S. y Martin F.G. (1995). Effects of high-dose prepartum injections of Se and vitamin E on milk and serum concentrations in ewes. *Small Rum. Res*, 2:99-103. ([resumen](#)) ([regresar al texto](#)).

- Dalton J.C. y Marcinkowski D.P. (1994). Effect of somatotropine administration on LH concentration in dairy cattle. *Theriogenology*, 2:437-445 ([resumen](#)) ([regresar al texto](#)).
- Dargatz D.A. y Ross P.F., (1996). Blood Selenium concentrations in cows and heifers on 253 cow-calf operation in 18 states. *J. Anim.Sci.*, 74:2891-2895. ([resumen](#)) ([regresar al texto](#))
- Davis J.J., Sahlu T., Puchala R., Herselman M.J., Fernández J.M., McCann J.P. y Coleman S.W., (1999). The effect of bovine somatotropin treatment on production of lactating Angora does with Kids. *Journal Anim. Sci.* 77:17-24. ([artículo](#)) ([regresar al texto](#))
- Deka B.C. y Rao A.R., (1985). Effect of extenders on sperm motility and acrosomal integrity of frozen buck semen. *Indian. Vet. J.* 62:414-417. ([Regresar al texto](#))
- Deka B.C. y Rao A.R., (1987). Effect of storage at -196°C on quality of frozen goat semen with and without seminal plasma in Tris-based extenders. *Cheiron*. 16:65-69. ([regresar al texto](#))
- Dhami J.J. y Sahni K.L., (1993). Evaluation of different cooling rates, equilibration periods and diluents for effects on deep-freezing, enzyme Leakage and fertility of Taurine bull spermatozoa. *Theriogenology*. 40:1269-1280. ([regresar al texto](#)) ([resumen](#))
- Dorn C.G. y Kraemer D.C. (1987). Bovine Embryo Grading. Texas A&M University, college of Veterinary Medicine, College station, Texas. ([regresar al texto](#))
- Durán del Campo, (1980). *Anatomía y fisiología de la reproducción e inseminación artificial de los ovinos*. Editorial Hemisferio Sur, Uruguay. ([regresar al texto](#))
- El-Newehy T.K., Abdel-Rahman H.A y Al-Qarawi A.A. (2001). Some studies on nutritional muscular dystrophy in Qassim region in Saudi Arabia Effect of administration of Vitamin E-selenium preparation to pregnant ewes on serum muscle-specific enzymes in their lambs. *Small Rum. Res.*, 1:87-89. ([resumen](#)) ([regresar al texto](#))
- Enjalbert F., Lebreton P., Salat O. y Schelcher F. (1999). Effect of pre- or postpartum Selenium supplementation on Selenium status in beef cows and their calves. *J. Anim. Sci.* 77:223-229. ([resumen](#)) ([regresar al texto](#))

- Ennen B.D., Berndtson W.E., Mortimer R.G. y Pickett B.W., (1976). Effect of processing procedures on motility of bovine spermatozoa freezing in 0.25 ml straws. *J. Anim. Sci.* 43:651. ([regresar al texto](#))
- Evans G. y Maxwell W.M.C., (1987), Salamon's Artificial Insemination of Sheep and Goats, Ed. Butterworths, Sydney, Australia. ([regresar al texto](#))
- FAO (1991). Manual de Transferencia de Embriones en ovejas y cabras. Food and Agricultural Organization of the United Nations, Roma, Italia. ([regresar al texto](#)) (ok)
- Faulkner L.C. Y Pineda M.H., (1977). Inseminación Artificial. McDonald. *Reproducción y Endocrinología Veterinarias, 2ª. Ed.*, Editorial Interamericana, México: 288-325. ([Regresar al texto](#))
- Feldman M., Ruan W., Tappin I., Wieckorek R. y Keinberg K:L., (1999). The effect of GH on estrogen receptor expression in the rat mammary gland. *J. of endocrinology* 163:515-522. ([artículo](#)) ([regresar al texto](#))
- Ferguson J.D. (1996) Diet, production and reproduction in dairy cows. *Anim. Feed Sci. And Technology.* 1-3:173-184. ([regresar al texto](#))
- Finch J.M. y Turner R.J. (1996). Effects of Selenium and Vitamin E on the immune response of domestic animals. *Res. in Vet. Sci.* 2:97-106. ([resumen](#)) ([regresar al texto](#))
- Folch J. Ramon J.P., Cocero M.J., Alabart J.L. y Beckers J.F.,(2001). Exogenous growth hormone improves the number of transferable embryos in superovulated ewes. *Theriogenology*, 55 (9):1772-1785. ([resumen](#)) ([regresar al texto](#))
- Gabryszuk M. y Klewicz J. (2002). Effect of injecting 2 and 3 years-old ewes with selenium and selenium-Vitamin E on reproduction and rearing of lambs. *Small rum. Res.*, 43 (2):127-132. ([regresar al texto](#)) ([resumen](#))

- García Bojalil C.M. (1997). Importancia de los minerales en los procesos reproductivos en la hembra bovina. Séptimo curso internacional de reproducción bovina. *AIBIR. Memorias* p:155-165 ([regresar al texto](#))
- García E. (1973). Modificaciones al sistema de clasificación de Koppen. 2ª. Edición . Instituto de Geografía. UNAM. 246 ([regresar al texto](#))
- Gong J. G. (2002). Influence of metabolic hormones and nutrition on ovarian follicle development in cattle: practical implications. *Dom. Anim.Endocr.*, 23:229-241. ([artículo](#)) ([regresar al texto](#)).
- Gong J.G., Campbell B.K., Bramley T.A. y Webb R., (1996). Treatment with recombinant bovine somatotrophin enhances ovarian follicle development and increases the secretion of insulin-like Growth Factor-I By ovarian follicles in ewes. *Anim. Rep. Sci.*. 1:13-26. ([resumen](#)) ([regresar al texto](#)).
- Gong J.G., Wilmut I., Bramley T.A. y Webb R. (1996). Pretreatment with recombinant bovine somatotropin enhances the superovulatory response to FSH in heifers. *Theriogenology* 45 (3):611-622. ([resumen](#)) ([regresar al texto](#)).
- Guilbert G.R. y Almquist J.O., (1978). Effects of processing procedures on post-thaw acrosomal retention and motility of ovine spermatozoa packaged in 0.3 ml straws at room temperature. *J. Anim.Sci.* 46:225-231.([regresar al texto](#)).
- Gutiérrez C.G., Oldham J., Bramley T.A., Gong J.G., Campbell B.K. y Webb R. (1997). The Recruitment of Ovarian Follicles Is Enhanced by Increased Dietary Intake in Heifers. *J. of Anim. Sci.*, 1997:1876-1884. ([regresar al texto](#)) ([artículo](#)).
- Hall J.B., Schillo K.K., Fitzgerald B.P. y Bradley N.W. (1994). Effects of Recombinant Bovine Somatotropin and Dietary Energy Intake on Growth, Secretion of Luteinizing Hormone, Follicular Development, and Onset of Puberty in Beef Heifers. *J. of Anim. Sci.*, 72:709-718 ([artículo](#)) ([regresar al texto](#)).

- Hare W.C.D., Luedke, A.J., Thomas, F.G., Bowen R.A., Singh E.L., Eaglesome M.D., Randall G.C.B. y Bielanski A., (1988). Non-transmission of bluetongue virus by embryo transfer from bluetongue virus-infected sheep. *Am. J. of Vet. Res.* 49:468-472. ([regresar al texto](#))
- Harrison J.H., Hancock K.K. y Conrad H.R. (1984). Vitamin E and Selenium for reproduction of the dairy cow. *J. of Dairy Sci.*, 67:123-132 ([resumen](#)) ([regresar al texto](#))
- Harvey S., Johnson D.D.M. y Sanders E.J., (2000). Extrapituitary Growth hormone in peripheral tissues of early chick embryos. *J.l of endocr.*, 166, (3):489-502. ([resumen](#)) ([regresar al texto](#))
- Healey P., (1969). Effect of freezing on the ultrastructure of spermatozoa of some domestical animals. *J. Reprod. Fert.* 18: 21-27. ([regresar al texto](#)).
- Holt W.V. (2000). Basic aspects of frozen storage of semen. *Anim. Rep. Sci.*, 62:3-22 ([artículo](#)) ([regresar al texto](#))
- Houseknecht K.L., Portocarrero C.P., Ji C. y Lemejager R., (2000). Growth hormon regulates leptin gene expression in bovine adipose tissue; correlación with adipose IGF-I expression. *J. of Endocr.*, 164:51-57. ([artículo](#)) ([regresar a texto](#))
- Hull K.L. y Harvey S. (1999). Growth hormone resistance: Clinical states and animal models. *J. of endocr.*, 163:165-172. ([regresar al texto](#)) ([artículo](#))
- Hull K.L. y Harvey S. (2000). Growth hormone: a reproductive endocrine–paracrine regulator? *Reviews of Reproduction* (2000) **5**:175-182. . ([artículo](#)) ([regresar al texto](#))
- Hull K.L. y Harvey S. (2002). GH as a co-gonadotropin: the relevance of correlative changes in Gh secretion and reproductive state. *J. of Endocr*, 172:1-19. ([artículo](#)) ([regresar al texto](#)).
- Izadyar F., Colenbrander B. y Bevers M.M., (1996). Growth hormone stimulates in vitro bovine oocyte maturation and subsecuent embryonic development. *Theriogenology.* 45:279. ([resumen](#)) ([regresar a texto](#)).

- Izadyar F., Colenbrander B. y Bevers M.M., (1997). Growth hormone enhances fertilizability of in vitro matured bovine oocytes. *Theriogenology*. 47:191. ([resumen](#)) ([regresar a texto](#))
- Jabbour H.N., Ryan J.P., Evans G. y Maxwell, W.M.C., (1991). Effects of season, GnRH administration and Lupin supplementation on the ovarian and endocrine responses of Merino Ewes treated with PMSG and FSH-P to induce superovulation. *Reprod. Fertil. Dev.*, 3:699-707. ([regresar al texto](#)) ([resumen](#))
- Joyce I.M., Khalid M. y Haresing W.,(1998). Growth Hormone priming as an adjunct treatment in superovulatory protocols in the ewe alters follicle development, but has no effect en ovulation rate. *Theriogenology*, 50:873-884. ([resumen](#)) ([regresar al texto](#))
- Kamada H. e Ikumo H, (1997). Effect of selenium on cultured bovine luteal cells. *Anim. Rep. Sci.*, 46:203-211. ([regresar al texto](#)) ([pdf](#))
- Kanagawa H. (1993). Bovine Embryo Transfer. Japan International Cooperation Agency, Tohoku Branch. Ed. Hiroshi Kanagawa. ([Regresar al texto](#))
- Kato H., Sugino N., Takiguchi S., Kashida S. y Nakamura Y. (1999). Roles of reactive oxygen species in the regulation of luteal function *Reviews of Reproduction* 2: 81–83. ([regresar al texto](#)) ([artículo](#))
- Kendall N.R., McMullen S., Green A. y Rodway R.G. (2000). The effect of a Zinc, Cobalt and Selenium soluble glass bolus on trace elements status and semen quality of ram lambs. *Anim. Rep. Sci.*, 62:277-283. ([artículo](#)) ([regresar al texto](#))
- Koenig K.M., Rode L.M., Cohen R.D.H. y Cuckley W.T., (1996). Effects of diet and chemical form of Selenium on Selenium metabolism in sheep. *J. Anim. Sci.*, 75:817-827. ([resumen](#)) ([regresar al texto](#))
- Kuehner L. F., Rieger D., Walton J. S., Zhao X. y Johnson W. H. (1993). The effect of a depot injection of recombinant bovine somatotropin on follicular development and embryo yield in superovulated Holstein heifers. *Theriogenology* vol. 40 Issue 5:1..3-1013. ([regresar el texto](#))

[\(resumen\)](#)

- Kuzan F.B. (1990). Classification of embryos prior to freezing. Techniques for freezing mammalian embryos. Animal Reproduction and biotechnology Laboratory. Colorado State University. Fort Collins, Colorado. [\(regresar al texto\)](#)
- Leboeuf B., Restall B. y Salamon S. (2000). Production and storage of goat semen for artificial insemination. *Anim.Rep. Sci.*, 62:113-141. [\(artículo\)](#) [\(regresar al texto\)](#).
- Lima-Verde J.B., Lopez Junior E.S., Teixeira D.I.A., Paula N.R.O., Madeiros A.S., Rondina D. y V.J.F. (2003). Transcervical embryo recovery in saanen goats. *South African J. of Anim. Sci.* 33 (2): [\(regresar al texto\)](#) [\(resumen\)](#)
- Lindner G.M. y Wright Jr. R.W.(1983). Bovine Embryo Morphology and Evaluation. *Theriogenology*, Vol. 20, Issue 4:407-416. [\(resumen\)](#) [\(regresar a texto\)](#).
- Mahan D.C. y Parret N.A., (1996). Evaluating the efficacy of selenium enriched yeast and sodium Selenite, on tissue Selenium retention and serum *Glutathione Peroxidase* activity in grower and finisher swine. *J. Anim. Sci.* 74:2967-2974. [\(resumen\)](#) [\(regresar al texto\)](#).
- Marin-Guzman J., Mahan D.C., Chung Y.K., Pate J.L. y Pope W.T. (1997). Effect of dietary Selenium and Vitamin E on boar performance and tissue responses, semen quality, and subsequent fertilization rates in mature gilts. *J. Anim. Sci.*75:2994-3003. [\(resumen\)](#) [\(regresar al texto\)](#)
- Marin-Guzman J., Mahan D.C. y Pate J. L. (2000). Effect of dietary selenium and vitamin E on spermatogenic development in boars. *J. Anim. Sci.* . 78:1537-1543. [\(regresar al texto\)](#) [\(resumen\)](#)
- Maxwell W.M.C., Butler L.G. y Wilson H.R., (1984). Intra-uterine insemination of ewes with frozen semen. *J. Agric. Sci. (Camb)* 102:233-235 [\(regresar al texto\)](#).
- McDowell L.R., Williams S.N., Hidioglouc N., Njeru C.A., Hill G.M., Ochoa L. y Wilkinson N.S. (1996). Vitamin E supplementation for the ruminant. *Anim. Feed Sci. And Tech.* 6(3-4):273-276. [\(regresar al texto\)](#).

- McKelvey W.A.C., Robinson J.J., Aitken R.P. y Robertson I.S., (1986). Repeated recoveries of embryos from ewes by laparoscopy. *Theriogenology*, 25:855-865. ([regresar al texto](#)) ([resumen](#))
- McVicar J.W., Singh E.L., Mebus C.A. y Hare W.C.D., (1986). Embryo transfer as a means of controlling the transmission of viral infections. VII. Failure to detect foot-and-mouth disease viral infectivity associated with embryos collected from infected donor cattle. *Theriogenology* 26:595-603. ([regresar al texto](#))
- Medrano H.J.A., Trejo G.A. y Soto G.R., (1994). Efecto del diluyente y del filtrado en borosilicato sobre las características del semen congelado de carnero. *Memorias del XIV Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias*. Acapulco, México.:59. ([regresar al texto](#)).
- Mendoza M.G. (2000). Efecto de una dosis de 500 mg de somatotropina bovina recombinante (rbST) en la fertilidad de vacas holstein al primer servicio y repetidoras. *Tesis de Maestría*. UNAM. ([regresar al texto](#)).
- Meschy F. (2000). Recent progress in the assesment of mineral requeriments of goats. *Livestock Prod. Sci.*, 64:9-14. ([artículo](#)) ([regresar al texto](#))
- Minami S., Suzuki N., Sugihara H., Tmura H., Emoto N. y Nakabayashi I., (1997). Microinyection of rat growt Hormone but not human insulin-like growth factor-I in to a defined area of the hipotalamus inhibits endogenous growth hormone secretion in rats. *J. of Endocr.* 153 part. 2. ([regresar al texto](#)) ([resumen](#)).
- Molina E.J.J. (2000). Efecto de la adición de somatotropina bovina al tratamiento de folltropin-V sobre la respuesta superovulatoria y cantidad de embriones transferibles en vacas cebuinas superovuladas en dos épocas del año en el trópico húmedo Mexicano. *Tesis de Maestría*. UNAM. ([regresar al texto](#)).
- Monniaux D., Chupin D., y Saumande J. (1983). Superovulatory responses of cattle. *Theriogenology* 19:55-82. ([regresar al texto](#)) (resumen).

- Monniaux D., Monget P., Besnard C., Huet C. y Pisselet C. (1997). Growth factors and antral follicular development in domestic ruminants. *Theriogenology* 47: 3-12. ([regresar al texto](#)) ([artículo](#)).
- Moore N.W. y Rowson L.E.A., (1960). Egg transfer in sheep factors affecting the survival and development of transferred eggs. *J. Reprod. Fert.*, 1:332 (Abstract). ([regresar al texto](#))
- Moore R.M., Osborn J.C. y Crosby I.M., (1985). Gonadotrophin induced abnormalities in sheep oocytes after superovulation. *J. Reprod. Fert.*, 74:167-172. ([regresar al texto](#))
- Morales R.J.S., (2000). Efecto de un tratamiento corto de somatotropina Bovina sobre niveles hormonales, actividad ovárica y desarrollo embrionario en hembras holstein. *Tesis de doctorado. UNAM.* ([regresar al texto](#))
- Nibart M., (1991). Le transfert embryonnaire et les biotechnologies appliquées: Bissection et sexage. *Recueil de Médecine Vétérinaire, Spécial Reproduction des Ruminants*, 261-290. ([regresar al texto](#))
- Ortman K. y Pehrson B. (1999). Effect of Selenate as a feed supplement to dairy cows in comparison of Selenite and Selenium Yeast. *J. Anim. Sci.* 77:3365-3370. ([resumen](#))([regresar al texto](#))
- Paglia D.E. y Valentine W.N., (1967). Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab and Clin Med*; 70:158-169.
- Pavlok A., Koutcká L., Krejčí P., Slavík T., Cerman J., Slaba J. y Dorn D., (1996). Effect of recombinant bovine somatotropin on follicular growth and quality of oocytes in cattle. *Animal Reproduction Science*, 41(3-4):183-192. ([resumen](#)) ([regresar al texto](#))
- Pehrson B., Ortman K., Madjid N. y Trafikouska3, (1999). The influence of dietary Selenium as Selenium yeast or Sodium Selenite on the concentration of Selenium in the milk of suckler

cows and on the Selenium status of their calves. *J. Anim. Sci.*, 77:3371-3376. ([resumen](#)) ([regresar al texto](#))

Pintado B., Gutiérrez-Adán A. y Perez Llano B. (1998) Superovulatory response of murciana goats to treatments based on PMSG/anti-PMSG or combined FSH/PMSG administration. *Theriogenology.*, 50 (3): 357-364 ([regresar al texto](#)) ([artículo](#))

Pinzón H.S. y Trejo G.A., (1994). Comparación de tres tiempos de enfriamiento para congelar semen de bovino. *Memorias del XIV Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias*. Acapulco, México.:294 ([regresar al texto](#)).

Radcliff R.P., Vandehaar M.J., Chapin L.T., Pilbeam T.E., Beede D. K. y Stanisiewski D. K. (2000). Effects of Diet and Injection of Bovine Somatotropin on Prepubertal Growth and First-Lactation Milk Yields of Holstein Cows. *J. Dairy Sci.* 83:23-29. ([artículo](#)) ([regresar al texto](#))

Ramírez-Bribiesca J.E., Tórtora J.L., Huerta M., Aguirre A. y Hernández L.M., (2001). Diagnosis of selenium status in grazing dairy goats on the Mexican plateau. *Small Rum. Research*, 41(1):81-85. ([Resumen](#)) ([regresar al texto](#))

Ramírez-Bribiesca J.E., Tórtora J.L., Hernández L.M y Huerta M., (2001b). Main causes of mortality in dairy goats kids from the Mexican plateau. *Small Rum. Research*, 41, Issue 1:77-80. ([resumen](#)) ([regresar al texto](#))

Rao B.R. y Pandey J.N., (1977). Preservation of semen of Corriedale and Mali Rams in different diluents. *Indian J. of Anim. Sci.* 47(4): 193-196. ([regresar al texto](#))

Remy B., Baril G., Vallet J.C. Dufour R., Chouvet C., Saumande J., Chupin y Beckers, J.F., (1991). Are antibodies responsible for a decreased superovulatory response in goats which have been treated repeatedly with porcine follicle-stimulating-hormone? *Theriogenology*, 36:389-399. ([resumen](#)) ([regresar al texto](#))

Ritar A.J. y Salamon S., (1991). Effects of month of collection, method of processing, concentration of egg yolk and duration of frozen storage on viability of Angora goat spermatozoa. *Small Rumin.Res.* 4:29-37.

([regresar al texto](#)) ([resumen](#))

Rodríguez T.J.R. (1999). Efecto de la administración de somatotropina bovina recombinante (rbST) los días 3 y 17 postinseminación sobre la fertilidad y la función del cuerpo lúteo en vacas Holstein de primer servicio y repetidoras. *Tesis de Maestría. UNAM.* ([regresar al texto](#))

Salamon S. y Maxwell E.M.C. (2000). Storage of ram semen. *Anim. Rep. Sci.*, 62:77-112.

([artículo](#)) ([regresar al texto](#)).

Sawada M. y Carlson J.C. (1991). Rapid plasma membrane changes in superoxide radical formation, fluidity, and phospholipase A2 activity in the corpus luteum of the rat during induction of luteolysis *Endocrinology*, 128: 2992-2998. ([regresar al texto](#)) ([resumen](#))

Sawada M. y Carlson J.C. (1996). Intracellular regulation of progesterone secretion by the Superóxido Radical in the rat Corpus Luteum. *Endocrinology* 137(5):1580-1584. ([regresar al texto](#)) ([artículo](#))

Singh E.L., Eaglesome M.D., Thomas F.C., Papp-Vid G. y Hare W.C.D., (1982a). Embryo transfer as a means of controlling the transmission of viral infections. I. The in vitro exposure of preimplantation bovine embryos of akabane, bluetongue and bovine viral diarrhoea viruses. *Theriogenology* 17:437-444. ([Resumen](#)) ([regresar al texto](#))

Singh E.L., Thomas F.C., Eaglesome M.D., Papp-Vid G. y Hare W.C.D., (1982b). Embryo transfer as a means of controlling the transmission of viral infections. II. The in vitro exposure of preimplantation bovine embryos to infectious bovine rhinotracheitis virus. *Theriogenology* 18:133-140. ([resumen](#)) ([regresar el texto](#))

Singh E.L., McVicar J.W., Hare W.C.D. y Mebus C.A., (1986). Embryo transfer as a means of controlling the transmission of viral infections. VII. The in vitro exposure of bovine and porcine embryos to foot-and-mouth disease virus. *Theriogenology* 26:587-593. ([resumen](#)) ([regresar al texto](#))

- Sinowats F., Schams D., Kollé S., Plath A., Lincoln D. y Waters M.J., (2000). Cellular localization of growth Hormone receptor in the bovine mammary gland during mammatogenesis, lactation and involution. *J. of Endocr.* 166(3):503-510. ([artículo](#)) ([regresar al texto](#))
- Smith K.L., Hogan J.S. y Wells W.P. (1997). Dietary Vitamin E and Selenium affect mastitis and milk quality. *J. Anim. Sci.*, 75:1659-1665. ([Resumen](#)) ([regresar al texto](#)).
- Steel W. y Torrie S., (1985) *Statistical Methods a Biometrical Approach*. Lea and Febiger, U.S.A. ([regresar al texto](#))
- Spicer L.J. y Enright W.J. (1991). Concentrations of Insulin-like Growth Factor-I and steroids in follicular fluid of preovulatory bovine ovarian follicles: effect of daily injections of a growth hormone-releasing factor analog and(or) thyrotropin-releasing hormone. *J. Anim. Sci.* 69:1133-1139. ([regresar al texto](#)) ([artículo](#))
- Sirotkin A.V. (2004) Control of reproductive processes by growth hormone: extra- and intracellular mechanisms. *The Veterinary Journal*. Article in Press. ([regresar al texto](#)) ([artículo](#))
- Stenbak T.K., Grazul-Bilska A.T., Berginski H.R., Bilski J.J., Erickson A.S. Kirsch J.D., Kraft K.C., Navanukraw C., Toutges M.J., Reynolds L. P. y Redmer D.A. Ovulation rate in ewes synchronized with Syncro-Mate-B(SMB) and follicle stimulating hormone. *Small Rumin. Research* 48: 1–8. ([artículo](#)) ([regresar al texto](#))
- Stringfellow D.A., Howell V.L. y Schurrenberger P.R., (1982). Investigations into the potential for embryo transfer from *Brucella abortus* infected cows without transmission of infection. *Theriogenology* 18:733-743. ([regresar al texto](#)) ([resumen](#))
- Stringfellow D.A., Lauerma L.H., Nasti K.B. y Galik P.K., (1990). Trypsin treatment of bovine ova after in vitro exposure to infectious bovine rhinotracheitis virus or bovine herpesvirus-4. *Theriogenology* 34- 427-434. ([regresar al texto](#)) ([resumen](#))
- Suyadi, B., Sohnrey y Holtz W. (2000). Transcervical embryo collection on Boer Goats. *Small Ruminant Research* Vol. 36, Iss. 2:195-200 ([volver al texto](#)) ([resumen](#))

- Swenson M.J. y Reece W.O. (1999). Fisiología de los animales domésticos de Dukes. Segunda Edición, tomo 2. Ed. UTEHA. ([regresar al texto](#)) (resumen)
- Tervit H.R. y Goold P.G., (1984). Deep Freezing sheep embryos. *Theriogenology*, 21:268 (resumen) ([regresar al texto](#))
- Thasseron F., Amir D. y Schindler H., (1977). Acrosome damage of ram spermatozoa during dilution, cooling and freezing. *J. Reprod. Fert.* 51:461-462. ([regresar al texto](#))
- Thatcher W.W.; Moreira F., Santos J.E.P., Mattos R.C., Lopes F.L., Pancarci S.M. y Risco C.A. (2001). Effects of hormonal treatments on reproductive performance and embryo production. *Theriogenology*, 55:75-89 ([artículo](#)) ([regresar al texto](#))
- Trejo, G.A., Pérez, R.Y. y Dueñas, S.C., (2003). Informe Anual de la Cátedra de Reproducción y genética en Ovinos y Caprinos. FES-C. U.N.A.M.
- Tresguerres J.A.F. Ariznavarreta C., Granados B., Costoya J.A., Pérez-Romero A., Salamé F. y Hermanussen M. (1999). Salivary gland is capable of GH synthesis under GHRH stimulation. *Journal of Endocrinology*. Vol. 160, part. 2: ([artículo](#)) ([regresar al texto](#))
- Tsunoda Y. y Sugie T., (1989). Superovulation in non-seasonal Japanese native goats, with special reference to the developmental progression of embryos. *Theriogenology*, 31: 991-996. ([resumen](#)) ([regresar al texto](#))
- Ugalde J.P.R., Folch P.J., Cocero M.J., Fernández-Arias A., Alabart J.L. y Garbayo J.M., (2003). Transferencia de Embriones en ovejas tratadas con Hormona del Crecimiento, efecto sobre la viabilidad de los Embriones. ([Resumen](#)) ([regresar al texto](#))
- Valencia M.J., González G.G., González G.M. y Trejo G.A., (1994). Motilidad y daño acrosomal del semen caprino congelado en pajillas de 0.25ml y descongelado a dos diferentes ritmos de temperatura. *Vet. Mex.* 25:127-131. ([regresar al texto](#))

- Vallet J.C., Baril G., Leboeuf B. y Perrin J., (1992). Insémination artificielle intra-utérine sous contrôle laparoscopique chez les petits ruminants domestiques. *Ann Zootech.* 41:305-309. ([Regresar al texto](#))
- Vallet J.C, Baril G., Rougier F., Chupin D., Procureur R. y Corteel, J.M., 1987. Feasability and repeatability of embryo recoveries from dairy goats under laparoscopy. *3rd Scientific Meeting of European Embryo Transfer Association, Lyon, France*, 1:60 (abstract) ([regresar al texto](#))
- Vazquez F. S. (1994). Efecto de la administración de Selenio y Vitamina E sobre el comportamiento reproductivo de vacas lecheras posparto. *Tesis de Licenciatura. UNAM.* ([regresar al texto](#))
- Voelkel S.A., Stuckey K.W., Looney C.R., Enright F.M., Humes P.E. y Godke R.A. (1983). An attempt to isolate *Brucella abortus* from uterine flushings of brucellosis-reactor donor cattle. *Theriogenology* 19: 355-366. ([resumen](#)) ([regresar al texto](#))
- Warwick B.L., Berry R.O. y Horlacher, W.R., (1934). Results of mating rams to Angora females goats. *Proc. Am. Soc. Anim. Prod.*, 225. (Abstract). ([regresar al texto](#))
- Wilson M.E. (1997). Administration of IGF-I affects the GH Axis and adolescent growth in normal monkeys. *J. of Endocr.*, 153 part 2. ([resumen](#)) ([regresar al texto](#))
- Wood D.C., Salsgiver W.J., Kasser T.R. Lange G.W., Rowold E., Violand B.N., Johnson A., Leibgruber R.M., Parr G.R. y Sieguer N.R. (1989). Purification and characterization of pituitary bovine somatotropin. *J. Biol. Chem.* 264:14741. ([regresar al texto](#)) ([artículo](#))
- Yoshimura Y., Iwashita M., Karube M., Oda T., Akiba M., Shiokawa S., Ando M., Yoshinaga A. y Nakamura Y. (1994). Growth hormone stimulates follicular development by stimulating ovarian production of insulin-like growth factor-1. *Endocrinology*, 135:887-894. ([resumen](#)) ([regresar al texto](#))