

01669  
lej.  
2



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**EFEECTO DEL GnRH (FACTORES LIBERADORES DE  
GONADOTROPINAS) EN VACAS CEBUINAS SUPEROVULADAS**

**T E S I S**

Que para obtener el grado de  
**MAESTRO EN PRODUCCION ANIMAL: REPRODUCCION ANIMAL**  
p r e s e n t a

**M.V.Z. EDUARDO POSADAS MANZANO**



Asesor: M.V.Z. Msc. Javier Valencia M.  
M.V.Z. Jorge Avila G.  
M.V.Z. Ricardo Navarro-Fierro

México, D. F.

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN** 986



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

## LISTA DE CONTENIDO

	PAGINA
I RESUMEN -----	1
II INTRODUCCION -----	3
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA -----	3
2. HIPOTESIS A PROBAR -----	14
3. OBJETIVO -----	14
III MATERIAL Y METODOS -----	15
IV RESULTADOS -----	25
V DISCUSION -----	28
VI CONCLUSIONES -----	33
VII LITERATURA CITADA -----	34

## INDICE DE CUADROS

CUADRO	PAGINA
1. EDAD Y PESO A LA PUBERTAD EN VAQUILLAS EN TROPICO Y SUBTROPICO	11
2. CARACTERISTICAS DEL CICLO ESTRAL DE BOVINOS EN EL TROPICO	12
3. INTERVALO ENTRE PARTOS, EDAD A PRIMER PARTO EN GANADO CEBU EN CONDICIONES TROPICALES	13
4. NUMERO PROMEDIO Y RANGO DE CUERPOS LUTEOS PALPABLES EN EL OVARIO IZQUIERDO Y DERECHO EN VACAS SUPEROVULADAS CON FSH. TRATADAS O SIN TRATAR CON GnRH	26
5. NUMERO DE EMBRIONES COLECTADOS Y TRANSFERIBLES EN CADA GRUPO Y SU CLASIFICACION DE ACUERDO AL GRADO DE DESARROLLO EMBRIONARIO	27

## INDICE DE FIGURAS

FIGURA		PAGINA
1.	MORULA NORMAL -----	20
2.	BLASTOCISTO TEMPRANO -----	21
3.	BLASTOCISTO EXPANDIDO -----	22
4.	MORULA DEGENERADA -----	23
5.	BLASTOCISTO DEGENERADO -----	24

## RESUMEN

Con el objeto de conocer los efectos de la aplicación del GnRH (factor de liberación de gonadotropinas) en un programa de superovulación en ganado cebú sobre la respuesta ovulatoria evaluada por la palpación de los cuerpos lúteos y la calidad de los embriones, se utilizaron 40 vacas cebuínas de diferentes razas como donadoras de embriones, las cuales recibieron 40 mg de FSH en dosis constantes del día 10 al 13 del ciclo estral, más la aplicación de 750 mcg de PGF<sub>2α</sub> en el 3er día de iniciado el programa, 20 de los animales en experimentación recibieron la aplicación de 210 mcg de factores liberadores de gonadotropinas a las 3 horas después de iniciado el estro. Las 20 vacas restantes se utilizaron como grupo testigo. Las variables medidas fueron la duración del calor o celo, número de cuerpos lúteos detectados por palpación, embriones colectados y embriones transferibles. El celo o calor tuvo una duración promedio de  $11.5 \pm 3.62$  hs. en el grupo tratado y de  $10.1 \pm 4.10$  hs. en el grupo testigo, la diferencia no fue significativa -- ( $P > 0.05$ ). En el número de cuerpos lúteos palpados no hubo una diferencia significativa ( $P > 0.05$ ) entre grupo tratado con respecto al testigo ( $8.66 \pm 2.58$  vs  $7.20 \pm 4.39$ ). No existió diferencia significativa ( $P > 0.05$ ) en el número de embriones colectados en el grupo tratado  $5.45 \pm 4.16$  con respecto al testigo  $5.40 \pm 4.12$  así como en el número de embriones transferibles ( $5.05 \pm 3.89$  vs  $4.78 \pm 4.06$ ). Con los resultados obtenidos se concluye que la respuesta del ganado cebú en un programa de superovulación constante de 40 mg de FSH aplicados en dosis constante es adecuada si se compara con informes de dicha respuesta en el ganado Bos taurus. No hubo un efecto significativo sobre la duración del calor o celo, número de ovulaciones, número

ro de embriones colectados y número de embriones transferibles del grupo -  
tratado en relación al testigo, lo que sugiere que el tratamiento con GnRH  
no mejora la sincronización entre las ovulaciones.

## INTRODUCCION

En 1960 México contaba con una población bovina cerca de los 18 millones de cabezas; en 1972 ascendió a más de 27 millones y para 1982 llegó a 37.1 millones de cabezas de ganado, lo cual demuestra un crecimiento del hato bovino a nivel nacional. Sin embargo México aún está lejos de utilizar al máximo su potencial de producción de carne, leche y derivados (32). El consumo per capita de carne en canal en 1972-1982 fué de 10.58-15.97 kg -- anual la cual es muy baja en relación a la de países desarrollados en donde es de 50 kg (31).

En forma tradicional el ganado bovino productor de carne ha sido explotado de manera extensiva y poco tecnificada. La región tropical de México -- representa el 23% del territorio nacional, con una superficie de 45 millones de hectáreas, de las cuales más de 1: millones están cubiertas por pastos. La ganadería tropical está dirigida preferentemente a la producción de carne en potreros, con la finalidad de surtir los mercados del centro del país. La zona ocupa tal magnitud que dicha ganadería tropical contaba ya -- con una población de 23,563,825 cabezas de ganado en el año de 1975 (25).

Los numerosos análisis que se han hecho demuestran que la eficiencia -- reproductiva del ganado bovino en la América tropical es baja, y se considera esta como una de las causas fundamentales de la baja productividad de -- las explotaciones (cuadro 1,2 y 3). Se estima que el porcentaje anual de na talidad, con base en el total de hembras en edad reproductiva, oscila entre 35 y 60% (9,10). Por otro lado las hembras empiezan su vida reproductiva a una edad tardía. Estos 2 hechos, combinados con una elevada mortalidad de -- becerros, que en ocasiones pueden llegar de 5 a un 25%, repercuten seriamente



te sobre la producción de los hatos bovinos. Las consecuencias inmediatas de la baja eficiencia reproductiva son i) menor producción de leche y carne ii) disminución de la disponibilidad de selección debido a un menor número de reemplazos disponibles y al alargamiento de los intervalos entre generaciones (9).

El bajo índice de concepción y largo intervalo entre generaciones ha limitado el aumento del número de animales y ha provocado una baja en la producción de carne lo que limita la satisfacción de las necesidades alimenticias del ser humano. La problemática antes menciona con respecto a la población bovina, tasa de extracción y disponibilidad per capita, aunada al incremento de la población humana en México, la que se estima que es de 71,219,427 (1982) y que para el año 2000 será de 100 millones de personas aproximadamente, es necesario tomar medidas pertinentes para el aporte de nuevas técnicas que incrementen la producción de alimentos básicos como la carne y la leche (6,30).

La transferencia de embriones es una de las técnicas mas recientes y de mayor auge en la reproducción animal; el uso adecuado de esta técnica probablemente será de ayuda para el productor en sus esfuerzos por mejorar la calidad, cantidad y eficiencia reproductiva del pié de cría (30,34).

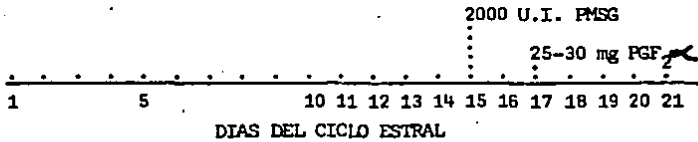
Entre las ventajas de la transferencia de embriones está la de incrementar la capacidad reproductiva de una vaca o becerro genéticamente valiosa, así como la obtención de crías de vacas excelentes que por su infertilidad secundaria tendrán que ser desechadas (30,34).

Debido a los problemas asociados con la fertilización in vitro en animales domésticos, la superovulación es la única técnica disponible para el

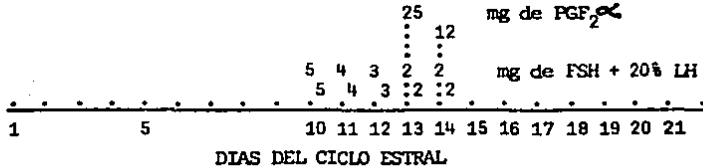
suministro regular de un elevado número de embriones. En ganado lechero la superovulación se ha realizado tradicionalmente mediante el uso de gonadotropina sérica de yegua preñada (MSG), extracto pituitario anterior de caballo (HAP) y recientemente se ha utilizado la hormona folículo estimulante como nueva alternativa (5,13,30).

Existen diversos programas de superovulación en el ganado bovino, de los cuales se muestran a continuación. Los cuatro están basados en la aplicación de FSH, FSH y LH y prostaglandinas.

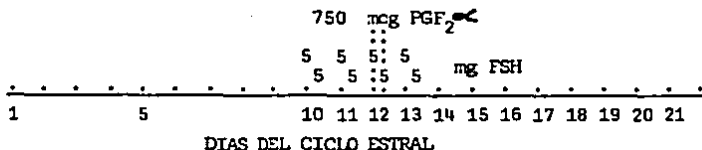
A. Aplicación de una dosis de 2000 U.I. de MSG seguida por la administración de  $PGF_2$  (34).



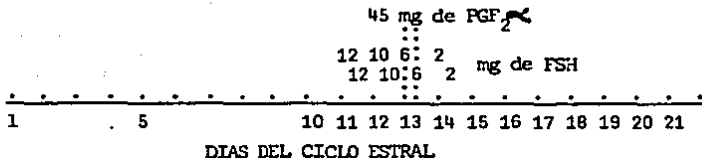
B. Aplicación 2 veces diarias en dosis decrecientes de FSH durante 5 días combinadas con 2 inyecciones de  $PGF_2$  (34)



C. Aplicación de dosis constante de FSH dos veces al día durante 4 días combinada con PGF<sub>2</sub> (19,28).



D. Similar a B., pero usando dosis mayores combinadas con PGF<sub>2</sub> (7)



En ganado bovino productor de carne con cría al pie, existe otro tipo de programa en la superovulación, por ejemplo:

- Día 20 postparto ----- Aplicación del implante Norgestomet
- " 27 Mañana ----- Aplicación de FSH 5 mg I.M.
- " 27 Tarde ----- Aplicación de FSH 5 mg I.M.
- " 28 Mañana ----- Aplicación de FSH 5 mg I.M.
- " 28 Tarde ----- Aplicación de FSH 5 mg I.M.
- " 29 Mañana ----- Aplicación de FSH 5 mg I.M.
- " 29 Tarde ----- Aplicación de FSH 5 mg I.M.
- " 29 ----- Remoción del implante
- " 30 ----- Presencia de estro o calor
- " 31 ----- Servicio
- " 32 ----- Servicio (17)

Sin embargo no existe un consenso sobre cual combinación de tratamien-  
tos y dosis es la más efectiva para producir superovulación.

Boland et al. (5), no encontraron una diferencia significativa en cuan-  
to al número de embriones normales obtenidos al utilizar FMSG en compara --  
ción con el uso de HAP. Cabe hacer notar que en este estudio se utilizó una  
sola dosis tanto de FMSG como de HAP (2500 U.I. y 300 mg respectivamente) -  
por vía intramuscular durante la fase lútea del ciclo estral (9-12 días); -  
seguida por 500 mcg de cloprostenol por vía intramuscular 48 horas después  
de haber aplicado la FMSG o el HAP.

Los resultados mas recientes parecen indicar que se obtienen mejores -  
resultados cuando se utiliza FSH que cuando se usa FMSG (14).

Greve et al. (14), en un informe hecho en 1984, compararon los niveles  
de LH en vacas lecheras superovuladas por medio de FMSG o FSH seguido por -  
la aplicación de prostaglandinas (Cloprostenol) encontrando que el pico pre-  
ovulatorio de LH ocurrió a las  $40 \pm 8.4$  hs. después de la aplicación de --  
prostaglandinas en los animales tratados con FMSG y a las  $44.9 \pm 12$  hs. en  
los tratados con FSH. Se observó también que 12 de 37 animales desarrolla -  
ron perfiles anormales de LH (sin pico de LH, con pico moderado y ocurren -  
cía prenatura o retardada); observandose que dichas anomalías fueron -  
más comunes en aquellos animales tratados con FMSG que en los tratados con  
FSH, por lo que se concluye que el tratamiento superovulatorio con FMSG in-  
terfiere frecuentemente con la liberación normal de LH, por lo que es nece-  
sario tener un patrón normal de LH para obtener una alta proporción de em-  
briones transferibles. En otro estudio Greve (15), determinó que los nive-  
les de progesterona fueron irregulares cuando se utilizó FMSG en la supero

ovulación, a diferencia de lo ocurrido cuando se utilizó FSH, lo que posiblemente explica la existencia de un menor número de embriones viables en el grupo tratado con PMSG. En conclusión, PMSG tuvo un efecto detrimental sobre el balance endócrino normal, repercutiendo en el desarrollo anormal de embriones.

Existe todavía desacuerdo entre los investigadores sobre la dosis óptima de FSH así como el calendario a seguir. No se observó diferencia significativa en el número de embriones transferibles obtenidos cuando la FSH se utilizó en dosis total de 28 ó 60 mg, aplicada en los días 11 al 14 del ciclo estrol de manera decreciente, es decir (6/6, 4/4, 2/2, 2/2) mg mañana/tarde o (12/12, 10/10, 6/6, 2/2) mg mañana/tarde, seguida por la aplicación de prostraglandinas en dosis de 45 mg por vía intramuscular en el 3er día de iniciado dicho programa (7,12).

Una posible causa de fertilidad poco satisfactoria después de un programa de superovulación, es la presencia de fallas en la ovulación u ovulación retardada. Existen diversos informes sobre la frecuencia de ovulación retardada, la que se presenta en un 5.5 a 20% de los ciclos naturales, dando lugar a fertilidad reducida (16).

Existe la evidencia de que el uso de factores de liberación de gonadotropinas (GnRH) al momento de la inseminación artificial permite mejorar la sincronía entre la inseminación y ovulación con lo que se obtiene mejor fertilidad. Grunert et al. (16), estudiaron el uso de GnRH en ganado "overo negro" alemán con seis semanas de reposo postparto. En el primer grupo de animales aplicaron el GnRH al momento de la inseminación en una dosis de 1 mg por vía intramuscular y en el segundo grupo no se aplicó GnRH. El porcentaje de preñez en el primer grupo (81%) fué mayor que en el segundo (68%). -

Estos resultados fueron estadísticamente significativos. Asimismo Nakao et al. (23) y Nash et al. (24) demostraron en ganado lechero que el GnRH en dosis de 100 mcg por vía intramuscular al momento de la inseminación en el primer servicio postparto resultó en una elevación estadísticamente significativa en la tasa de concepción (57.2% vs 49.7% en el grupo testigo). Mencionan además que el GnRH puede tener un efecto profiláctico sobre las fallas ovulatorias que pueden ser de 2 al 18% de las vacas inseminadas.

Existen evidencias que el uso de GnRH también mejora la sincronización de la ovulación y por lo tanto la fertilidad cuando se usa como parte de un programa de superovulación; por ejemplo Savage y Mapletoff (33) en un estudio de superovulación en animales criollos europeos mediante el uso de 28 mg de FSH en el grupo testigo, 28 mg de FSH y 400 mcg de E<sub>2</sub> en un segundo grupo y de 28 mg de FSH y 250 mcg de GnRH al momento de la inseminación en un tercer grupo, no encontraron diferencias significativas en cuanto al número de cuerpos lúteos obtenidos ( $10.6 \pm 1.7$ ,  $11.4 \pm 1.4$  y  $14.2 \pm 1.9$ ) en los grupos I, II y III respectivamente, sin embargo la media del número de embriones totales en el grupo III ( $13.0 \pm 1.8$ ) fué significativamente mayor que el grupo I ( $8.4 \pm 1.3$ ) y II ( $7.7 \pm 1.2$ ). En contraste Prado et al. (28), informaron que utilizando vacas y becerras como donadoras y aplicando FSH o FSH más GnRH no encontraron diferencia significativa en lo que respecta al número de cuerpos lúteos palpados y al número de embriones recuperados. El programa de superovulación en este estudio, consistió en la aplicación de 5 mg de FSH 2 veces al día durante 4 días, iniciando cualquier día del noveno al treceavo día postestro, mas aplicación de prostaglandinas en dosis dividida en el treceavo día. Asimismo cada vaca y becerro fué inyecta

da con 200 mcg de GnRH por vía intramuscular, después de haber sido observada en calor o celo.

Un porcentaje elevado del ganado en las zonas tropicales mexicanas es de tipo cebú (Bos indicus) mientras que la mayor parte de información que existe sobre la fisiología reproductiva del ganado bovino se ha desarrollado en Bos taurus (6). Algunos trabajos sobre la fertilidad del ganado cebú muestran porcentajes de concepción reducidos en comparación al ganado Bos taurus (22). Estas diferencias se cree que se deban en parte a factores ambientales (temperatura, humedad, etc.), nutricionales, fotoperiodicidad y a algunas características fisiológicas reproductivas que lo hacen ser diferente al Bos taurus y cruza Bos taurus X Bos indicus tales como: Estro o calor más corto y de menor intensidad, el peso y tamaño del cuerpo lúteo es menor, elevación preovulatoria mas pequeña de la hormona luteinizante (LH), lo que ocurre relativamente antes del inicio del estro por lo tanto la ovulación ocurre más tempranamente (1,2,29). Estos factores dificultan el momento ideal para la inseminación, particularmente en aquellos programas como la superovulación.

Con base a la exposición anterior puede predecirse que en las razas cebuínas al ser sometidas a programas de superovulación exista una sincronía a la ovulación; por lo que se sugiere la utilización de factores liberadores de gonadotropinas, con el fin de estandarizar el momento de la misma y poder así obtener una mejor fertilización y un mayor número de embriones viables. Sin embargo esta hipótesis debería probarse experimentalmente.

CUADRO 1. Edad y peso a la pubertad en vaquillas en el trópico y subtropical

Raza	Criterio	Edad (días)	Peso (kg)	Autor, año y país
* Europeas puras	Primer celo	980	---	Vaccaro, 1974 Perú
F <sub>1</sub> (europeas X cebú)	" "	672	---	" " "
Criollo puro	Primer C.L.	737	230.0	Ordoñez <u>et al.</u> , 1974 Venezuela
Brahman X criollo	" "	649	272.0	" " " "
Pardo suizo X brahman	" "	621	264.7	Linares <u>et al.</u> , 1974 Venezuela
Brahman X brahman	" "	717	261.0	Ordoñez <u>et al.</u> , 1974 Venezuela
Brahman	" "	600	---	Plasse <u>et al.</u> , 1968 E.U.A.
Cruzados	" "	510	---	" " " "
Guzerat	Primer celo	726	332.0	Sepúlveda, 1984 México
Indobrasil	" "	465	295.0	Rosete <u>et al.</u> , 1984 México

\* Holstein, Rojo danés y Pardo suizo.

Adaptado (9).



CUADRO 1. Edad y peso a la pubertad en vaquillas en el trópico y subtropical

Raza	Criterio	Edad (días)	Peso (kg)	Autor, año y país
* Europeas puras	Primer celo	980	-----	Vaccaro, 1974 Perú
F <sub>1</sub> (europeas X cebú)	" "	672	-----	" " "
Criollo puro	Primer C.L.	737	230.0	Ordóñez <u>et al.</u> , 1974 Venezuela
Brahman X criollo	" "	649	272.0	" " " "
Pardo suizo X brahman	" "	621	264.7	Linares <u>et al.</u> , 1974 Venezuela
Brahman X brahman	" "	717	261.0	Ordóñez <u>et al.</u> , 1974 Venezuela
Brahman	" "	600	-----	Plasse <u>et al.</u> , 1968 E.U.A.
Cruzados	" "	510	-----	" " " "
Guzerat	Primer celo	726	312.0	Sepúlveda, 1984 México
Indobrasil	" "	465	296.0	Rosete <u>et al.</u> , 1984 México

\* Holstein, Rojo danés y Pardo suizo.

Adaptado (9).

CUADRO 2. Características del ciclo estrol de bovinos en el trópico.

Raza	Ciclo estrol (días)	Estro (hs.)	estro a ovulación (hs.)	Autor, año y país
Cebú lechero	20.8	17.5	13.6	González, 1972 Brasil
Indobrasil	20.8	14.8	13.7	" " "
Neillore	20.8	12.9	13.8	" " "
Cebú	17-22	22.0	---	Rysanek <u>et al.</u> , 1974 Cuba

Adaptado (9)

CUADRO 3. Intervalo entre partos, edad a primer parto en ganado cebú en condiciones tropicales.

Raza	Intervalo entre partos (días)	Edad a 1er parto (días)	Autor, año y país
Indobrasil	530.9 $\pm$ 147	-----	Escobar <u>et al.</u> , 1982 México
Brahman	505.3 $\pm$ 164	-----	" " " "
Cruzas	483.2 $\pm$ 152	-----	" " " "
Brahman	451.9	1376.57	Everbusch, 1978 México
Gyr	522	-----	Galina <u>et al.</u> , 1982 México
Indobrasil	393	-----	" " " "
Cebú	390-480	750-900	Jochle, 1972 México
Indobrasil	488.3	-----	Sánchez, 1978 México
Indobrasil	544	-----	Velasco, 1983 México
Gyr	546	-----	" " "
Pardo suizo X cebú	565	-----	" " "
Brahman	-----	47.0 $\pm$ 13.0 meses	Bazán <u>et al.</u> , 1976 Costa Rica
Gyr y Nellore	-----	44.7 meses	Aroeira <u>et al.</u> , 1977 Brasil

Adaptado (9,10).

10

#### HIPOTESIS

La hipótesis de éste trabajo es que la aplicación de GnRH, influye sobre la obtención de un número mayor de embriones viables en vacas cebúinas superovuladas, al hacer coincidir más correctamente la ovulación de los folículos existentes y el momento del servicio (inseminación artificial).

#### OBJETIVO

El objetivo del presente estudio fué, evaluar los efectos de la aplicación del GnRH, en un programa de superovulación en ganado cebú sobre la respuesta ovulatoria, evaluada por la palpación de cuerpos lúteos y la calidad de los embriones obtenidos.

#### MATERIAL Y METODOS:

El presente estudio se realizó en los municipios de Tuxpan, Tempoal y Martínez de la Torre, Veracruz; zonas que se localizan en la vertiente del Golfo de México a los 26° 20' latitud norte y a 97° 3' longotud oeste. El clima de estos municipios es tropical húmedo con una precipitación pluvial anual de 1350 a 1840 mm y una temperatura promedio anual de 22 a 26°C (11).

#### ANIMALES

Se utilizaron 40 vacas cebuínas de diferentes razas como donadoras de embriones.

Las vacas utilizadas como donadoras fueron seleccionadas en base a -- los criterios recomendados por Seidel et al. (34).

- 1) Hembras con características sobresalientes en su raza.
- 2) Con aparato reproductor normal, es decir sin alteraciones congénitas ni adquiridas.
- 3) Que los animales presenten ciclos estrales regulares.
- 4) Libres de enfermedades infectocontagiosas.

De la misma manera se seleccionó un lote de vacas receptoras (10 por cada donadora) de acuerdo a lo mencionado por Seidel et al. (34).

- 1) Animales juvenes entre 16 y 24 meses de edad.
- 2) Libres de enfermedades infectocontagiosas.
- 3) Aparato reproductor sano.
- 4) Con ciclos estrales regulares
- 5) Con peso aproximado de 350 kg.

Tanto las donadoras como las receptoras recibieron una alimentación -- a base de concentrado comercial, pastoreo en praderas, melaza, sales mine-

rales y vitaminas desde los 45 días antes de iniciarse el experimento hasta 30 días después de la recolección de embriones.

### SUPEROVULACION

El programa de superovulación se realizó en todas las donadoras y consistió en la aplicación de 8 dosis de 5 mg de hormona folículo estimulante (FSH-P)\* administrada a intervalos de 12 horas comenzando el día 10 del ciclo estral según Hill et al.(21), Prado et al.(28) y Halley et al.(19).

El día 10 del ciclo estral -----	5 mg
Día 10 1/2 del ciclo estral -----	5 mg
Día 11 del ciclo estral -----	5 mg
Día 11 1/2 del ciclo estral -----	5 mg
Día 12 del ciclo estral -----	5 mg
Día 12 del ciclo estral -----	15 mg luprostiol **
Día 12 1/2 del ciclo estral -----	5 mg
Día 13 del ciclo estral -----	5 mg
Día 13 1/2 del ciclo estral -----	5 mg

La administración de prostaglandinas se realizó al tercer día de iniciado el programa de superovulación (día 12 del ciclo) con el propósito de inducir la lisis o destrucción del cuerpo lúteo y provocar la presencia del estro, que se espera suceda aproximadamente entre 36 ó 45 horas después. -- Una vez superovuladas, las vacas se dividieron en dos grupos. El primer grupo se formó por 20 vacas que fueron tratadas con 210 mcg de GnRH (Busere -- lina)\*\*\* por vía I.M. tres horas después del inicio del estro. El segundo

\* FSH-P Lab. Burns-Biotec.

\*\* Prosolvin Lab. Serva, S.A. de C.V.

\*\*\* Conceptal Lab. Hoech, S.A.

grupo se formó de 20 vacas las que fueron consideradas como testigo y no -- recibieron GnRH.

#### INSEMINACION ARTIFICIAL

Cuando la vaca donadora entró en calor o celo, fué observada para conocer su duración e intensidad. Se inseminó 12 horas después de haberse iniciado el calor, se reinseminó 12 y 24 horas después de la primera inseminación con dos dosis por cada inseminación.

#### RECOLECCION DE EMBRIONES

La recolección de embriones fué en base a la técnica descrita por Seidel (1980). La recolección se realizó a los 7 días después de la última inseminación, la vaca donadora se colocó en una rampa que permitiera dar una inclinación anteroposterior la que facilitó la recuperación por gravedad -- del fluido del lavado. La recolección se llevo a cabo bajo previa tranquilización y analgesia epidural de la vaca.

Después de la antisepsia de la región perineal se inició la recolección de los embriones por medio de un catéter de Foley, el que consta de -- dos vías, así como una vejiga inflable que se localiza en la punta del catéter. Después de introducir el catéter se fijó insuflando la vejiga con una jeringa desechable con el propósito de sellar y evitar la fuga del medio -- introducido para la obtención de los embriones. La cantidad del medio utilizado fué aproximadamente de 250 ml por cuerno uterino, el cual se colectó -- posteriormente en cajas de Petri estériles. El medio utilizado fué Dulbecco PBS (solución salina fosfatada buferada) que contiene:(34).

Agua bidestilada ----- 1.0 Lts

NaCl	8.0 g
NahPO <sub>4</sub>	1.15 g
KCl	0.20 g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.20 g
CaCl <sub>2</sub>	0.10 g
MgCl <sub>2</sub>	0.10 g
Piruvato de sodio	0.036 g
Glucosa	1.0 g
Albumina de suero fetal bovino	4.0 g
Penicilina potásica G	100 U.I. / ml
Sulfato de dihidroestreptomina	50 mg / ml

Con un pH de 7.2 a 7.5.

Una vez finalizada la recolección de embriones se observó el fluido con un microscopio estereoscópico para localizar a los embriones los que se depositaron individualmente en cajas de Petri, para posteriormente realizar el examen morfológico y poder observar las etapas del desarrollo embrionario de acuerdo al método descrito por Shea (35).

La palpación en los cuerpos lúteos en las vacas donadoras, se llevó a cabo 7 días después de la última inseminación. Asimismo cabe aclarar que en 2 vacas del grupo tratado y 10 del grupo testigo no se realizó la palpación de los cuerpos lúteos debido a que se omitió este manejo en dichos animales.

Los embriones obtenidos fueron transferidos a las vacas receptoras de manera quirúrgica (4,34).

#### ANALISIS ESTADISTICO

La duración promedio del estro se analizó por medio de la prueba



de "t" (37).

El número de cuerpos lúteos palpados y su distribución en los ovarios derecho e izquierdo se analizó por medio de la prueba de "Ji cuadrada" -- (37).

Los embriones obtenidos fueron contados y evaluados para determinar el número de embriones transferibles obtenidos por donadora. También fué contado el número de óvulos no fecundados obtenidos. Estos tres parámetros fueron analizados por medio de la prueba "t de Student". Los embriones fueron clasificados con base en la etapa de desarrollo en que se encontraban al hacer la colección de acuerdo a los criterios establecidos por Shea (35).

- a) mórula (fig. 1)
- b) blastocisto temprano (fig. 2)
- c) blastocisto expandido (fig. 3)
- d) mórula degenerada (fig. 4)
- e) blastocisto degenerado (fig. 5)

La proporción de embriones en cada estudio fué comparado entre los grupos por medio de la prueba de "Ji cuadrada" (37).

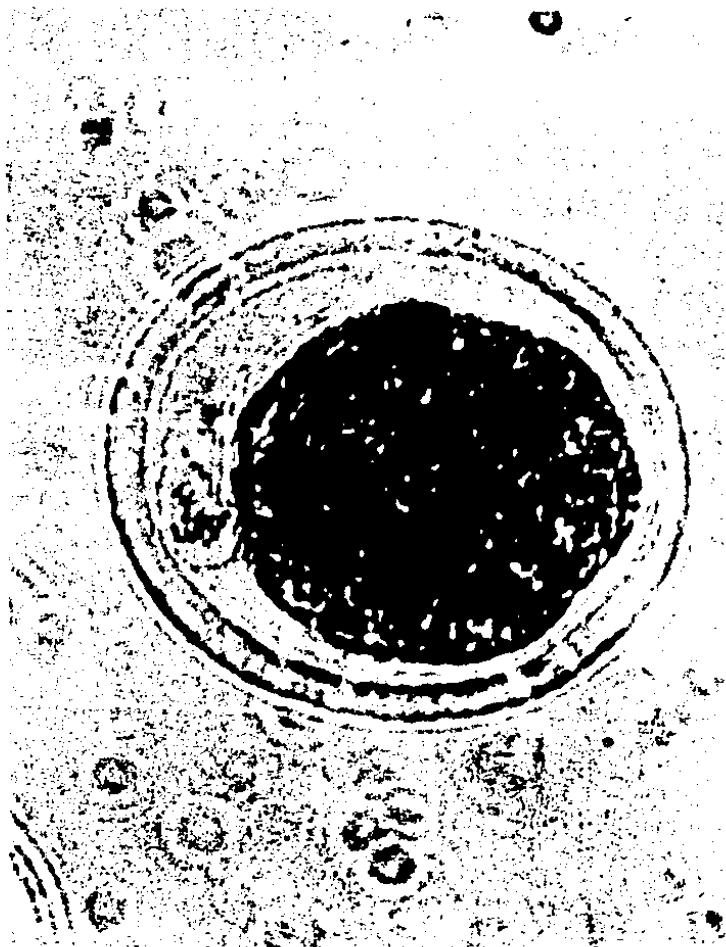


Fig. 1. Mórula con diferenciación y uniformidad de los blastómeros (5-6 días de edad).

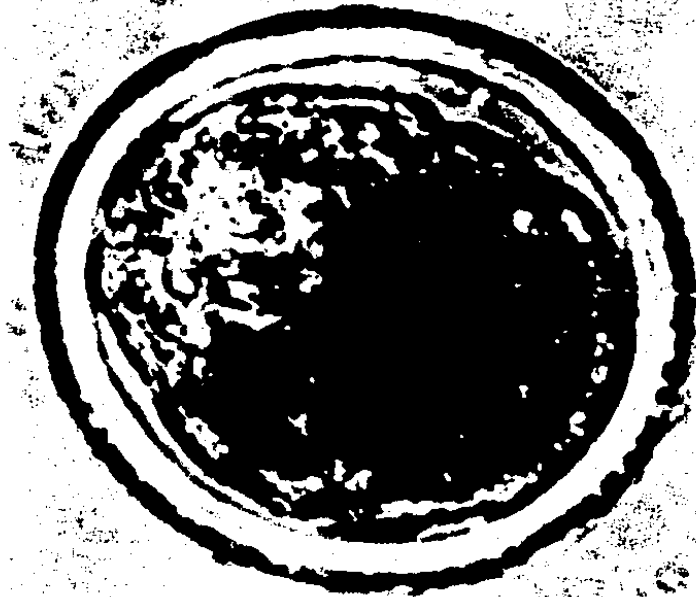


Fig. 2. Blastocisto temprano con diferenciación de las células trofoblásticas y con blastocele (7 días de edad).



Fig. 3. Blastocisto expandido. Embrión con una apropiada agrupación celular (8 días de edad).



Fig. 4. Mórula degenerada con blastómeros de diferentes tamaños.

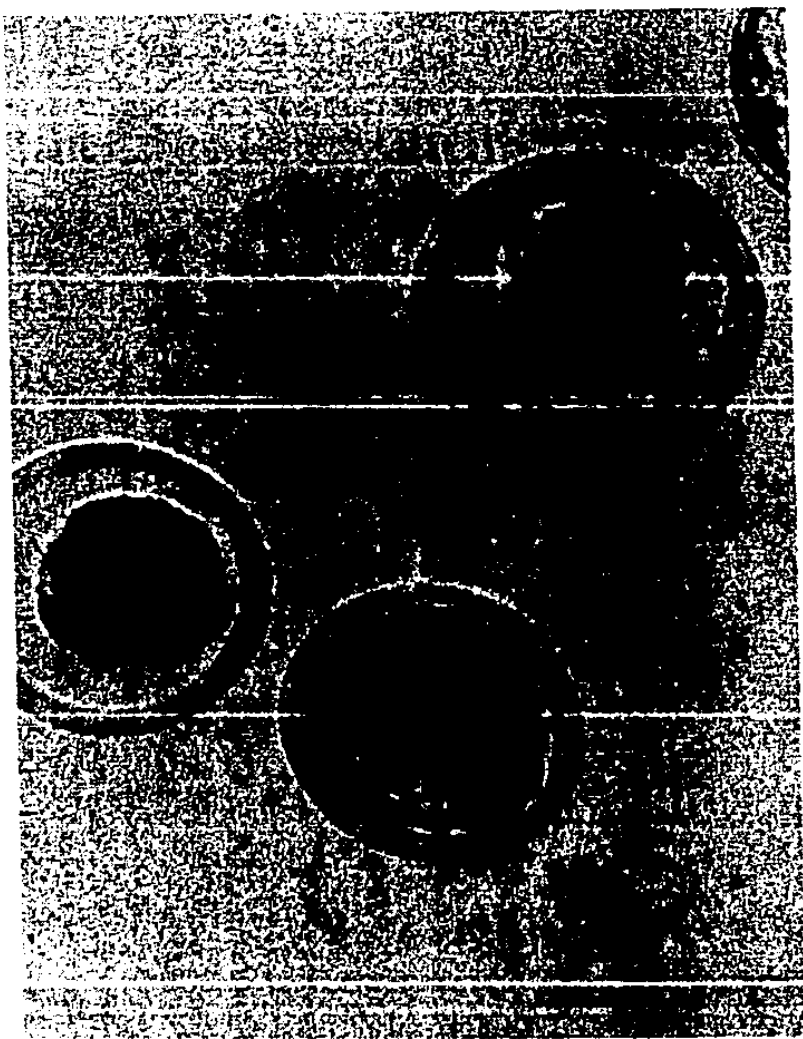


Fig. 5. Blastocisto degenerado con blastómeros que no presentan una clara diferenciación.

## RESULTADOS

El celo o calor tuvo una duración promedio de  $11.5 \pm 3.62$  hs. en el grupo tratado y  $10.6 \pm 4.1$  en el grupo testigo; la diferencia no es estadísticamente significativa ( $P > 0.05$ ).

No existió diferencia significativa ( $P > 0.05$ ) en el número de cuerpos lúteos palpados por vía rectal entre el grupo tratado y el testigo; tampoco se encontró diferencias entre el número de cuerpos lúteos detectados en el ovario derecho en comparación con el ovario izquierdo en ninguno de los grupos (cuadro 4)

El número total de embriones colectados fue similar en ambos grupos ( $P > 0.05$ ) (cuadro 5), asimismo, la distribución de los embriones entre las diferentes fases (mórula, blastocisto, mórula degenerada y óvulo no fecundado) fue igual en los dos grupos ( $P > 0.05$ ). No se encontró diferencia significativa en el número de embriones transferibles (mórula no degenerada y blastocisto) colectados en el grupo tratado en comparación con el grupo testigo ( $P > 0.05$ ) (cuadro 5).

CUADRO 4. Número promedio y rango de cuerpos lúteos palpados en el ovario izquierdo y derecho en vacas superovuladas con FSH, tratadas o sin tratar con GnRH. \*

	Ovario izquierdo		Ovario derecho		Izquierdo + derecho	
	$\bar{X} \pm$ d.e.	rango	$\bar{X} \pm$ d.e.	rango	$\bar{X} \pm$ d.e.	rango
Grupo tratado						
con GnRH n=18	4.20 $\pm$ 1.70	3-8	4.40 $\pm$ 1.20	2-7	8.66 $\pm$ 2.58	2-8
Grupo testigo						
sin GnRH n=10	3.30 $\pm$ 2.30	1-8	3.80 $\pm$ 2.40	2-10	7.20 $\pm$ 4.39	1-10
Promedio de los dos grupos	3.90 $\pm$ 1.90	1-8	4.50 $\pm$ 2.30	2-10	8.14 $\pm$ 3.34	1-10

\*No hubo diferencia significativa ( $P > 0.05$ ) entre el grupo tratado y el testigo, tampoco se observo diferencia entre el ovario derecho y el izquierdo.



CUADRO 5. Número de embriones colectados y transferibles en cada grupo y su clasificación de acuerdo al grado de desarrollo embrionario.

Desarrollo embrionario	Grupo tratado *	Grupo testigo	Total
Mórula	20 (14.5%)	16 (12.9%)	36 (13.9%)
Mórula degenerada	7 ( 5.1%)	13 (10.5%)	20 ( 7.6%)
Blastocisto	82 (59.4%)	79 (63.7%)	161 (61.4%)
Ovulo no fecundado	29 (21.0%)	16 (12.9%)	45 (17.1%)
Total	138 (100 %)	124 (100 %)	262 (100 %)
$\bar{X} \pm$ d.e. óvulos y embriones	6.90 $\pm$ 4.95	6.20 $\pm$ 4.70	
$\bar{X} \pm$ d.e. solo embriones	5.45 $\pm$ 4.16	5.40 $\pm$ 4.12	
** $\bar{X} \pm$ d.e. solo embriones transferibles	5.05 $\pm$ 3.89	4.78 $\pm$ 4.06	

\* No hubo diferencia significativa ( $P > 0.05$ ) entre los grupos para ninguno de los parámetros estudiados.

\*\* Embriones transferibles son aquellos clasificados como mórulas no degeneradas y blastocistos.

## DISCUSION

La duración del estro se determinó con el objeto de establecer si el tratamiento con GnRH causa un acortamiento del estro, lo cual podría esperarse si el GnRH resulta en una mejor sincronía entre las ovulaciones, ya que en este caso todos los folículos que se desarrollaran como resultado del programa superovulatorio dejarían de producir estrógenos simultáneamente, en contraste de lo que se esperaría en el grupo no tratado con GnRH, en el cual los folículos ovularían en diferente momento, resultado en un período más largo de exposición a estrógenos (18). Sin embargo la duración del estro fué similar ( $11.5 \pm 3.90$  y  $10.6 \pm 4.11$ ) en los grupos tratados y sin tratar con GnRH respectivamente, lo que sugiere que el GnRH no resultó en una mayor sincronía entre las ovulaciones.

Comparando la duración del celo encontrada en el presente trabajo, con lo informado por Orihuela et al. (26) usando ganado indobrasil bajo un programa de estro sincronizado que fué de 15 horas promedio; así como lo informado por González (8) en ganado indobrasil con un celo natural que fué de 11.8 hs.; pueden observarse que el programa de superovulación con FSH con o sin GnRH no resulta en un alargamiento o acortamiento de la duración del estro con respecto al estro natural o inducido con PGF<sub>2</sub>.

La palpación de los cuerpos lúteos se utilizó como un instrumento para determinar el número de ovulaciones obtenidas como resultado de cada tratamiento. En algunos casos fué difícil precisar con exactitud el número de cuerpos lúteos presentes en los ovarios, sin embargo se consideró que el error a la palpación fué similar para los 2 grupos. El número de cuerpos lúteos en los ovarios indicó únicamente el número de ovulaciones, sin tener

una relación con el grado de sincronía de dichas ovulaciones; la similitud entre el número de cuerpos lúteos en el grupo tratado con GnRH y el grupo - sin tratamiento con GnRH encontrados en este trabajo, indican que el tratamiento no afectó el índice de ovulación (cuadro 4).

Sin embargo, Savage et al. (33) utilizando 28 mg de FSH aplicada en forma decreciente en ganado criollo, encontraron un aumento aunque no significativo en el número de cuerpos lúteos obtenidos en el grupo al que se le aplicó GnRH (14.2) en comparación con el grupo sin GnRH (10.6). La razón de diferencia de nuestros resultados y los de Savage et al. (33) es posible - que en el ganado cebú tenga una producción endógena de GnRH suficiente para causar la ovulación de todos los folículos que se desarrollen en el ovario, mientras que el ganado criollo podría tener una deficiencia relativa en la producción de GnRH, de tal forma que no todos los folículos resultantes de la superovulación llegan a ovular a menos que se aplique GnRH.

El número promedio de cuerpos lúteos por vaca (cuadro 4) es similar al informado por Padilla et al. (27) en ganado brahman, quienes encontraron - 9.4 cuerpos lúteos por vaca, después de un programa de superovulación con 28 mg de FSH aplicados en forma decreciente.

Es aparente que la respuesta superovulatoria del ganado cebú es eficiente e incluso mejor que la del ganado Bos taurus, ya que el número promedio de cuerpos lúteos encontrados en este estudio es superior al promedio de 5 y 4.7 cuerpos lúteos informado por Prado et al. (28) después de utilizar en ganado holstein un programa de superovulación igual al usado en este estudio. García et al. (12) usando ganado holstein superovulado con 28 mg de FSH, también encontró un promedio menor de cuerpos lúteos (5.4) que los encontra

dos en este estudio.

A pesar de que en promedio la respuesta superovulatoria del ganado cebú es adecuada, es necesario hacer notar que existe una gran variación individual, como se puede observar en el amplio rango de cuerpos lúteos encontrados por vaca en ambos grupos (cuadro 4). Esta variación es una de las razones que ha impedido definir con precisión cual es el mejor tratamiento superovulatorio (droga a utilizar, dosis, vía de administración, etc.). La variación individual no es exclusiva del ganado cebú, ya que se ha informado con frecuencia en Bos taurus (7).

El tratamiento de GnRH no tuvo un efecto sobre el promedio de embriones obtenidos por vaca, tampoco sobre el número promedio de embriones transferibles (cuadro 5).

Si se consideran todos los embriones y óvulos recuperados, se observará que en el grupo tratado con GnRH se obtuvieron 13 recuperaciones más que en el grupo sin GnRH. Es interesante notar que este aumento es totalmente a un mayor número de óvulos no fecundados en el grupo tratado con GnRH en relación al grupo sin tratar (cuadro 5), sin embargo estas diferencias no son estadísticamente significativas ( $P > 0.05$ ).

Del total de recuperaciones, un 21% y 12.9% correspondieron a óvulos no fecundados (fallas de fertilización) en los grupos tratados y sin tratar con GnRH respectivamente. Los porcentajes de fallas en la fertilización son similares a los encontrados por Hernández et al. (20) y por Smith et al. (36) los cuales fueron de un 33 y 20 % respectivamente en ganado cebú sin superovulación, así como lo encontrado por Elsdon et al. (8) en ganado Bos taurus superovulado el cual fué de un 25% y de un 17% en ganado Bos taurus sin superovulación (3) lo que sugiere que el tratamiento superovulatorio no in -

terfierié necesariamente con el proceso de fertilización

El promedio de embriones obtenidos en el grupo tratado con GnRH fué de  $5.45 \pm 4.16$  de los cuales  $5.05 \pm 3.89$  (92.6%) fueron considerados como embriones transferibles (al eliminar las mórulas degeneradas). Para el grupo no tratado, el número de embriones obtenidos fué de  $5.40 \pm 4.12$  de los cuales  $4.78 \pm 4.06$  (88.5%) se consideraron como transferibles (cuadro 5).

El porcentaje de embriones no transferibles es bajo en ambos grupos, lo que indica que los embriones que resultan de tratamiento superovulatorio en ganado cebú no sufren una reducción en su viabilidad durante las etapas tempranas de desarrollo. Estos resultados son muy similares a los obtenidos por Halley et al. (19) el cual fué de  $9.40 \pm 1.40$  de embriones obtenidos de los cuales  $6.90 \pm 1.20$  fueron transferibles en ganado cebú brahman y con un programa de superovulación similar al presente trabajo. Savage et al. (33) en ganado criollo europeo y con un programa de superovulación de 28 mg de FSH aplicada en forma decreciente más la aplicación de GnRH en un grupo, in formaron una obtención promedio de 13.0 y 8.4 de los cuales 7.7 y 5.2 fueron transferibles en el grupo tratado con GnRH con respecto al testigo. No obstante Padilla et al. (27) trabajando con ganado cebú brahman informaron que con un programa de superovulación de 28 mg de FSH aplicada en forma decreciente obtuvieron un promedio de 8.7 de los cuales solo 4.3 embriones fueron transferibles.

En ganado lechero, en donde se ha trabajado más rutinariamente en la transferencia de embriones observamos que Donaldson et al. (7) informaron un promedio de 7.7 embriones colectados de los cuales el 3.7 fueron transferibles, con igual programa de superovulación con respecto al grupo testigo de este estudio. Prado et al. (28) con igual programa de superovulación a

este estudio encontraron un promedio de 4.4 y 3.9 embriones colectados de los cuales 3.0 y 2.6 fueron transferibles en los grupos tratados con GnRH y testigo respectivamente. Asimismo García et al. (12) obtuvieron también en ganado lechero un promedio de 7.4 embriones colectados de los cuales 3.8 -- fueron transferibles, bajo un programa de superovulación de 28 mg de FSH ad ministrada en forma decreciente.

Con lo antes expuesto puede decirse que el ganado cebuino responde en forma mejor o igual al programa de superovulación en cuanto al número de -- embriones transferibles con respecto a ganado lechero, pero no así en relación al ganado criollo europeo. Sin embargo es menester hacer notar que a -- pesar de los inconvenientes que se tienen en el manejo del ganado cebuino, es posible realizar en forma eficiente la transferencia de embriones en con diciones tropicales.

## CONCLUSIONES

I. La respuesta del ganado cebú a un programa de superovulación consistente en 40 mg de FSH aplicados en dosis constante más la aplicación de -- prostaglandinas en el 3er día de iniciado dicho programa, es adecuada si se compara con informes sobre dicha respuesta en ganado Bos taurus.

II. El tratamiento con GnRH después de un programa de superovulación, no tuvo un efecto significativo sobre la duración del estro, número de ovulaciones, número de embriones colectados y número de embriones transferibles, con respecto al testigo. Lo que sugiere que el tratamiento con GnRH no causa una mejor sincronía entre las ovulaciones.

BIBLIOGRAFIA

1. Aguilar, A. y Galina, C.S. : Estudio morfológico comparativo de los ovarios de la vaca cebú y la vaca holstein. Memorias del VIII Congreso Nacional de Buiatría. Veracruz, Ver. 1982, 211-212. Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos y Pequeños Rumiantes. Veracruz, México, 1982.
2. Aspron, M.A. y Zapien A.S. : Momento de la ovulación en vacas Guzerat y su relación con la fertilidad. Memorias del VIII Congreso Nacional de Buiatría. Veracruz, Ver. 1982, 237-239. Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos y Pequeños Rumiantes. Veracruz, México, 1982.
3. Aylon, N. : Comparative studies of repeat breeders and normal cows and heifers. Kimron Vet. Inst. Beit, Dagan, Israel. 1-99 1969.
4. Betteridge, K.J. : Embryo transfer in farm animals. Agriculture Canada. Animal Diseases Research Institute. Ottawa, Canada, 1977.
5. Boland, M.P., Kennedy, L.G. and Gordon, I. : Superovulation in cattle using a single injection of FMSG or HAP. Ir. Vet. J., 74:307-309 (1984).
6. Debiyllmah, M.F., Irey, Y. : Evaluación de la respuesta a la aplicación de  $PC_2$  basada en niveles séricos de progesterona en vacas cebú. Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1984.
7. Donaldson, L.E. : Dose of FSH-P as a source of variation in embryo production from superovulated cows. Theriogenology, 22:205-212 (1984).
8. Elsdon, R.P., Hasler, J.F. and Seidel, G.E. : Nonsurgical recovery of bovine eggs. Theriogenology, 6:523-532 (1976).



9. Fernández-Vaca, S. : Aspectos de la fisiología de la reproducción del bovino en el trópico. Memorias producción de leche en el trópico, Martínez de la Torre, Veracruz, Ver. 1981, 1-18. Fac.de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México,D.F., 1981.
10. Galina, C.S., Duchateau, A., Navarro-Fierro, R.: Assessment of the reproductive efficiency of Bos indicus cattle in Mexico. International symposium on the use of nuclear techniques in studies of animal production - and health in different environments. Vienna, Austria. 1986 FAO IAEA. in press.
11. García, E. : Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. Instituto de Geografía. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1973.
12. García, G.J., Seidel, G.E. and Elsdén, P.: Efficacy of shortened FSH for superovulating cattle. Theriogenology, 17:90 (1982).
13. Gurlach, A.R., Hahn, R. and Hahn, J.: Studies on superovulatory response in bovine embryo transfer by the use of different gonadotropic hormones combined with anti-gonadotropins. The blue book, Hannover, Germany, 1984.
14. Greve, T., Callesen, H. and Hyttel, P.: Characterization of plasma LH- Profiles in superovulated dairy cows. Theriogenology, 21:237 (1984).
15. Greve, T., Callesen, H. and Hyttel, P.: Plasma progesterone profiles and embryo quality in superovulated dairy cows. Theriogenology, 21:238 (1984).
16. Grunert, E., Tholen, I. y Goldbeck, U. : Influencia de la hormona sintética liberadora de gonadotropinas sobre el resultado de la inseminación en vacas. El libro azul, Hannover, Alemania, 1978.

17. Guy, S. Jr., Kraemer, D.C., Harms, P.G. and Sehake, L.M. : Superovulation nonsurgical embryo collection and rebreeding of postpartum brangus cows. Theriogenology, 21:265 (1984).
18. Guay, P. and Bedoya, M.: Effects of GnRH on blood serum hormone concentration. Ovulation rates and embryo production in lactating cows treated with PMSG. Can. J. Comp. Med., 45:352-356 (1981).
19. Halley, S.M., Rhodes, R.C., Mc Kellar, L.D. and Rahdel, R.D.: Successful superovulation nonsurgical collection and transfer of embryos from Brahman cows. Theriogenology, 12: 97-108 (1979).
20. Hernández, C., Galina, C.S., Valencia, J., Navarro-Fierro, R., Hunter, R. F. H.: Estudio morfológico sobre la fertilización en la vaca cebú después de la inseminación artificial. Memorias de la Reunión de Investigación - Pecuaria en México, México, D.F. 1985, 190, Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos y Universidad Nacional Autónoma de México., México, D.F., 1985.
21. Hill, K.G., Looney, C.R., Schieve, M.C. and Godke, R.A.: Effect of different lot numbers of follicle stimulating hormone (FSH-P) on superovulation response of donor cattle. Theriogenology, 21:241 (1984)
22. Landerdale, J.W. : Effects of PGF<sub>2</sub> in pregnancy and estrus cycles in cattle. J. Anim. Sci. 35: 246(1972).
23. Nakao, T., Narita, S., Tanaka, K., Hara, H., Shirakawa, J., Noshiro, H., Saga, N., Tsunoda, N. and Kawata, K.: Improvement of first-service pregnancy rate in cows with Gonadotropin-releasing Hormone analog. Theriogenology 20:111-119 (1983).
24. Nash, J.G., Ball, L. Jr. and Olson, J.D. : Effects on reproductive performance of administration of GnRH to early post partum dairy cows. J. Anim. Sci. , 50:1017-1021 (1980).

25. Orihuela, T.S.A. : Conducta estral del ganado cebú. Tesis de maestría. Fac de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F., 1982.
26. Orihuela T.S.A. : La conducta estral de la vaca indobrasil. Tesis de doctorado. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México; México, D.F., 1985.
27. Padilla, G.T., Aspron, M.A. y Arriola, B.J. : Superovulación y transferencia de embriones en ganado Cebú - Brahman. Resultados preliminares. Memorias de la Reunión de Investigación Pecuaria en México 1984. México D.F. 1984, 311. Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos y Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., (1984).
28. Prado, D.A.R., Elsdon, R.P. and Seidel, G.E.Jr. : Effects of GnRH on response to superovulation in cattle. Theriogenology, 21:254 (1984).
29. Randel, R.D. : Seasonal effects on female reproductive functions in the bovine (indian breeds). Theriogenology, 21: 170-185 (1984).
30. Romo, B.B.D. : Clasificación y evaluación de embriones bovinos en la técnica de transplante de embriones. Tesis de licenciatura. Fac. de Med Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1982.
31. S.A.R.H. : Estadísticas pecuarias. Dirección General de Economía Agrícola, México D.F., 1983.
32. S.A.R.H. : La producción agropecuaria y forestal en el mundo y la participación de México. Dirección General de Economía Agrícola, México, D.F., 1982.
33. Savage, N.C. and Mapletoft, R.J. : Superovulation in the cow utilizing - estradiol 17 or gonadotrophin releasing hormone in FSHP regimen. Theriogenology, 21 : 259 (1984).

34. Seidel, G.E., Seidel, S.M. Jr. and Bowen, R.A. : Bovine embryo transfer procedures. Colorado State University, Forth Collins, Colorado, 1980.
35. Shea, B.F. : Evaluating the bovine embryo. Theriogenology, 15 : 31-42 (1981)
36. Smith, M.F., Nix, K.J., Kraemer, D.C., Amoss, M.S., Herron, M.A. and Wiltbank, J.N. : Fertilization rate and early embryonic loss in Brahman cross breed heifers. J. Anim. Sci., 54 : 1005-1011 (1982).
37. Snedecor, G.W. and Cochran, W.G. : Statistical methods, 6th ed. Iowa State University Press , Iowa, 1976.