

11663
2e.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán

RESPUESTA OVARICA A LA SUPEROVULACION
CON HORMONA FOLICULO ESTIMULANTE
(FSH) EN GANADO CEBU

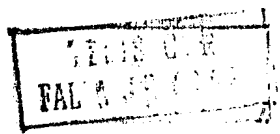
T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS
area REPRODUCCION ANIMAL

P R E S E N T A :
LUIS ARMANDO CORDOVA SANTAMARIA

Asesores:

M. V. Z., M. S., Ph. D. EVERARDO GONZALEZ PADILLA
M. V. Z., M. S., Ph. D. JAVIER ARRIOLA BUENO



Cuautitlán Izcalli, Edo. de México

1986



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

INDICE

I.- RESUMEN	1
II.- INTRODUCCION	3
III.- REVISION BIBLIOGRAFICA	5
1.- EFECTO DE LAS GONADOTROPINAS EXOGENAS SOBRE LA POBLACION FOLICULAR	5
1.1 HORMONAS GONADOTROPICAS Y VIABILIDAD DE LOS EMBRIONES	9
2.- EL ESTADO OVARICO Y SU IMPORTANCIA EN LA RES- PUESTA A LA SUPEROVULACION	11
2.1 PAPEL DE LA INHIBINA Y EL FACTOR INHIBI- DOR DEL CRECIMIENTO FOLICULAR (FGI)	13
2.1.1 INMUNIZACION CONTRA INHIBINA	13
2.1.2 INHIBICION DEL CRECIMIENTO FOLI - CULAR	14
3.- DETERMINACION Y ESTIMACION DE LA RESPUESTA OVA RICA A LA SUPEROVULACION	15
3.1 ESTIMACION DE LA RESPUESTA OVARICA POR CONTEO DE ESTRUCTURAS LUTEALES Y FOLICU- LARES	16
3.2 ESTIMACION DE LA RESPUESTA OVARICA ME -- DIANTE NIVELES HORMONALES	17
3.3 ESTIMACION DE LA RESPUESTA OVARICA UTILI ZANDO ECOGRAFIA Y ULTRASONOGRAFIA	18
4.- PERFILES HORMONALES DURANTE LA SUPEROVULACION .	19
4.1 PROGESTERONA	19
4.1.1 NIVELES PLASMATICOS EN VAQUILLAS PREPUBERES	19
4.1.2 CONCENTRACIONES DE PROGESTERONA PLASMATICA EN VACAS SUPEROVULADAS .	20
4.1.3 EFECTO SOBRE LA DURACION DEL CICLO ESTRAL	21

4.1.4	CONCENTRACIONES DE PROGESTERONA EN LA LECHE	21
4.2	ESTRADIOL	23
4.2.1	NIVELES PLASMATICOS EN ANIMALES PREPUBERES	23
4.2.2	CONCENTRACIONES PLASMATICAS DE ESTRADIOL EN HEMBRAS PUBERES	23
4.3	HORMONA LUTEINIZANTE (LH)	24
4.3.1	NIVELES PLASMATICOS EN HEMBRAS PREPUBERES	24
4.3.2	NIVELES PLASMATICOS EN ANIMALES CICLANDO Y CALIDAD EMBRIONARIA ...	25
4.3.3	OVULACION EN ANIMALES ESTIMULADOS CON GONADOTROPINAS	26
4.4	HORMONA FOLICULO ESTIMULANTE (FSH)	27
4.5	NIVELES PLASMATICOS DEL FACTOR DE CRECI MIENTO - I/SOMATOMEDINA C EN VACAS SUPERO VULADAS	28
5.-	UTILIZACION DE PMSG EN LA SUPEROVULACION	29
5.1	NATURALEZA DE LA PMSG	29
5.2	MODIFICACION DE LA VIDA MEDIA DE LA PMSG	30
5.3	ESQUEMAS DE TRATAMIENTOS PARA SUPEROVU LACION EN BOVINOS	33
5.3.1	UTILIZACION DE PROSTAGLANDINAS O PROGESTAGENOS DESPUES DEL TRATA MIENTO SUPEROVULATORIO CON PMSG ..	34
6.-	UTILIZACION DE LA FSH PARA INDUCIR SUPEROVU LACION	36
6.1	PROPIEDADES FISICAS Y ESTRUCTURA MOLE CULAR DE LA FSH	36
6.2	DIFERENCIAS EN LA RESPUESTA OVARICA A LOS TRATAMIENTOS CON PMSG Y FSH	38
6.3	ESQUEMAS DE TRATAMIENTOS CON FSH	39

6.3.1	EFFECTO DEL NUMERO DE INYECCIONES AL DIA	39
6.3.2	EFFECTO DE DOSIS POR INYECCION	40
6.3.3	EFFECTO DE LA DOSIS TOTAL DE FSH ...	41
6.3.4	EFFECTO DE ADITIVOS QUE RETARDAN LA ABSORCION DE FSH	42
6.3.5	INCORPORACION DE GnRH EN REGIMENES DE SUPEROVULACION	43
6.3.6	EFFECTO DE LA CONTAMINACION DE LH EN LAS PREPARACIONES DE FSH PARA TRATAMIENTOS SUPEROVULATORIOS	44
6.3.7	UTILIZACION DE PROSTAGLANDINAS O PROGESTAGENOS DURANTE LA SUPERO - VULACION CON FSH	45
7.-	EMPLEO DE OTRAS HORMONAS PARA TRATAMIENTOS <u>SU</u> PEROVULATORIOS	47
7.1	GONADOTROPINA MENOPAUSICA HUMANA (HMG) ...	47
7.2	EXTRACTO PITUITARIO EQUINO (EPE)	48
8.-	INSEMINACION ARTIFICIAL (IA) EN VACAS SUPERO- VULADAS	48
9.-	ALGUNOS FACTORES QUE AFECTAN LA RESPUESTA A LA SUPEROVULACION EN BOVINOS	50
9.1	EFFECTO DE LA FASE DEL CICLO ESTRAL EN QUE SE INICIA EL TRATAMIENTO	50
9.2	EFFECTO DE LA SUPEROVULACION REPETIDA	51
9.3	EFFECTO DE LA LACTACION	53
9.4	EFFECTO DE FACTORES GENETICOS	54
9.5	EFFECTO DE LA NUTRICION	54
9.6	EFFECTO DE LA EDAD	55
9.7	EFFECTO DEL STRESS	56
9.8	EFFECTO DE DIFERENTES LOTES DE FSH O PMSG .	57
10.-	OTRAS APLICACIONES DE LA SUPEROVULACION EN <u>BO</u> VINOS	58

10.1	SUPEROVULACION EN VACAS INFERTILES	58
10.2	SUPEROVULACION EN TERNERAS PREPUBERES ...	59
11.-	SUPEROVULACION EN GANADO <u>Bos indicus</u>	61
IV.-	MATERIAL Y METODOS	64
V.-	RESULTADOS Y DISCUSION	70
VI.-	CONCLUSIONES	105
VII.-	LITERATURA CITADA	107

I. RESUMEN

El objetivo de este estudio fue determinar el efecto de tres dosis de FSH-P y el día del ciclo estral en que se inició el tratamiento, sobre la respuesta ovárica de vacas Cebú horras y con cría. El trabajo se realizó en el C.E.P. El Macho, Tecuala, Nay., bajo condiciones de trópico seco -- AWO. Se utilizaron 60 vacas Cebú, las cuales se distribuyeron con base en un diseño factorial 3x2x2, donde los factores fueron: dosis de FSH-P (F:18,24 y 30 mg), día del ciclo en que se inició el tratamiento (D:7 y 11) y estado reproductivo (P:horra y con cría). Las dosis totales de FSH-P se administraron en ocho fracciones decrecientes a intervalos de 12 h. A las 48,54 y 60 h de la primera inyección de FSH-P se aplicaron IM: 25,12.5 y 12.5 mg de prostaglandina F₂ alfa (PG) -- respectivamente. La detección de celos se hizo cada 12 h, -- excepto los cuatro primeros días postratamiento, en los que se realizó cada seis horas. Las hembras que a las 48 h de la PG no manifestaron calor se palparon por vía rectal cada 12 h, hasta determinar el estro. La inseminación artificial (IA) se efectuó a las 0,12 y 24 h de detectado el celo, empleando dos dosis de semen en cada ocasión. La colección de embriones se hizo a los 6.5 o 7.5 días posteriores al estro (día cero), por el método no quirúrgico; la clasificación de los mismos se realizó en base a su apariencia morfológica. Los datos se sometieron al análisis de varianza. Después de la PG, el

73.3% de las hembras manifestaron calor y el 26.6% se detectó en celo por la palpación rectal de los genitales. El intervalo entre la PG y el estro fue de 50.1 h. No hubo efecto de F, D y P sobre la respuesta ovulatoria. Las medias del número de CL fueron: 3.0, 3.5 y 3.7 en ovario derecho para 18, 24 y 30 mg de FSH-P respectivamente ($P > 0.05$) y 3.2, 2.9 y 3.4 en ovario izquierdo para las tres dosis respectivamente ($P > 0.05$). Los porcentajes de recuperación de óvulos y embriones (O+E) fueron: 66.9, 44.8 y 34.2% para las tres dosis de FSH-P respectivamente, siendo superior el primero ($P < 0.05$). Las medias de O+E para 18, 24 y 30 mg fueron: 4.1, 2.8 y 2.4 respectivamente, siendo diferentes ($P < 0.10$) el primero y último. Para embriones totales (TOE) y embriones transferibles (ET): 3.7 y 2.9, 2.5 y 2.1, 2.2 y 1.5, para las tres dosis respectivamente, conservándose la diferencia ($P < 0.10$) entre la dosis menor y la mayor. Con las dosis utilizadas, en el 100%, 70% y 80% de los animales tratados respectivamente, se recuperaron óvulos y/o embriones, resultando superior ($P < 0.05$) el primero a los restantes. El largo del ciclo estral posterior al tratamiento con FSH-P y PG fue mayor en vacas horras (23.4 días) que en animales con crfa (20.3 días). Se concluye que hubo una mejor respuesta en cuanto a: O + E, TOE y ET con 18 mg de FSH-P; no hubo efecto de D y P sobre la respuesta ovárica.

II. INTRODUCCION

La técnica de transferencia de embriones (TE) es relativamente nueva en nuestro país. De acuerdo con Garza et al. (1980), en marzo de 1980 se obtuvo la primera becerro a partir de un trasplante embrionario.

Recientemente, esta técnica ha tomado auge entre los productores de pie de cría de las razas cebuinas. Ello puede deberse a que en los últimos años la explotación de este ganado, tan ampliamente distribuido en las zonas costeras de México, se va extendiendo cada vez más. Como ejemplo de lo anterior, podemos citar la introducción de animales Brahman de registro en la región de Cananea, Son., donde tradicionalmente solo se utilizaba ganado de tipo europeo.

La superovulación con hormonas gonadotrópicas (FSH principalmente), es uno de los pasos más importantes de la técnica de T.E., sin embargo la variabilidad observada en la respuesta ovárica es un factor limitante. Dicha variación es menor cuando se administra la hormona folículo estimulante (FSH), en una dosis óptima. Para las razas bovinas de tipo europeo esa dosis ya ha sido establecida; con respecto a ganado Cebú, tal información se desconoce. Ello se debe a que los estudios sobre superovulación que han involucrado a este ganado son escasos:

Cuando se han querido adaptar los tratamientos superovulatorios utilizados en Bos taurus a animales Bos indicus, la variación

en respuesta ha sido muy amplia. Cabe mencionar, que también se han encontrado diferencias en eventos fisiológicos reproductivos normales (estros cortos, mayor frecuencia de ciclos estrales anovulatorios, niveles más bajos de LH en el pico preovulatorio, niveles menores de progesterona, cuerpo lúteo más pequeño del Bos indicus con respecto al Bos taurus (Plasse et al., 1968; Randel, 1976; Randel y Moseley, 1977; Irvin y Randel, 1977; Griffen y Randel, 1978a). Ello sugiere la necesidad de investigar los regímenes de superovulación más apropiados para el ganado Cebú.

Por lo anterior los objetivos del presente trabajo fueron:

- a) Determinar la respuesta ovárica en ganado Cebú a la superovulación con FSH, empleando tres dosis totales diferentes, en base al número de embriones y óvulos colectados.
- b) Determinar el efecto de la aplicación de FSH en diferentes días del ciclo estral. Para ello, se utilizaron los estimadores anteriores (número de embriones y óvulos recuperados).
- c) Comparar la respuesta ovárica a la superovulación con FSH en vacas con distinto estado productivo (seca o lactante).

III. REVISION BIBLIOGRAFICA

1.- EFECTO DE LAS GONADOTROPINAS EXOGENAS SOBRE LA POBLACION FOLICULAR:

La administración de gonadotropinas exógenas, tanto de origen coriónico como de origen pituitario es el recurso más ampliamente utilizado para la superovulación ovárica.

En bovinos, el número de ovulaciones resultantes de un tratamiento estimulador varía considerablemente entre individuos - - (Monniaux et al., 1984). La acción de la gonadotropina sérica de yegua preñada (PMSG) o de la FSH sobre la población folicular ha sido estudiada en el ratón (Ryle, 1972; Peters et al., 1975), rata (Brow y Tsafiriri, 1980), hamster (Greenwald, 1973), oveja (Dott et al., - 1979) y vaca (Monniaux et al., 1984).

Para comprender el mecanismo de superovulación en bovinos, es importante conocer los efectos de las hormonas administradas sobre la población de folículos en crecimiento durante el intervalo entre la (s) inyección (es) y la ovulación.

La PMSG es ampliamente utilizada para incrementar la tasa de ovulación, aunque su mecanismo de acción no es del todo conocido. Inicialmente, se propuso que el tratamiento hormonal provocaba que un mayor número de folículos preantrales formaran antro (Evans, -- et al., 1939, citados por Moor et al., 1980). Asimismo Mariana y - - Machado (1976), observaron que la PMSG reduce el tamaño folicular al cual ocurre la formación de antro. Se mencionó que por el tratamien

to, hubo regeneración o rescate de la atresia temprana folicular, así como un incremento en la proporción de folículos grandes no atrésicos (Byokov, 1979, citado por Moor et al., 1980). Moor et al. (1980), -- mencionan que la PMSG impide que los folículos sufran atresia a partir del día de la inyección hasta la ovulación e incrementa la tasa de crecimiento folicular de acuerdo a la dosis. Así, el crecimiento folicular que normalmente ocurre en siete a nueve días ocurre en los cinco días siguientes al tratamiento con una dosis moderada o alta (3000 o 5000 U I).

Examinando ovarios de ovejas a las 24 h después del tratamiento con PMSG, Dott et al. (1979), sugieren que la hormona puede - actuar previniendo la atresia, pero desechan la posibilidad de que ocurra un rescate de folículos que han iniciado este proceso.

McNatty et al. (1982), trabajando con ovarios de oveja a intervalos más cortos (0, 1, 3, 6, 10, 24 y 48 h) después del tratamiento, observaron que la PMSG: a) evita la atresia en la población de folículos grandes durante las primeras 10 h posteriores a la luteólisis inducida; b) eleva la secreción de estrógenos de los folículos antrales grandes (> 4 mm) en comparación con los animales testigo; c) temporalmente rescata y/o previene de la atresia a folículos antrales pequeños (1 a 4 mm).

Sin embargo, debido a la gran variabilidad individual en la población folicular en un día determinado del ciclo estral (Rajakosky, 1960; Erickson, 1966; Mariana y Huy, 1973), no es posible - - examinar los efectos de un estímulo entre dos grupos formados con -

ese criterio. En bovinos, las poblaciones foliculares de ambos ovarios son cualitativa y cuantitativamente similares en un momento determinado, por lo tanto la variación dentro de cada animal es mucho menor que la variación entre animales (Rajakosky, 1960; Mariana y Huy, 1973). Esto ha sido observado también en hamsters (Greenwald, 1961), ovejas (Cahill et al., 1979) y yeguas (Driancourt et al., - - 1982). En la vaca, el número de folículos grandes después de la aplicación de PMSG y el número de ovulaciones (Saumande y Chupin, 1982) son similares en los dos ovarios de cualquier individuo. Así, Monniaux et al. (1984), utilizaron a cada animal como su propio testigo en un estudio más detallado acerca de la acción de las gonadotropinas sobre la población folicular. Dicho trabajo se realizó con -- vaquillas ciclando; un ovario (testigo) fue extirpado inmediatamente antes de que el restante se estimulara con PMSG. Después de la ovulación, el ovario estimulado se extirpó para analizar el efecto del tratamiento, comparándolo con el testigo, mediante técnicas histológicas. En las vacas tratadas, el número de folículos preantrales normales ($< 180 \mu$) se incrementó significativamente después de la inyección (342 ± 79 vs 277 ± 70), mientras que la cantidad de folículos preantrales atrésicos no se alteró. El número de folículos antrales normales no cambió, pero la suma de folículos (> 1.7 mm) con atresia temprana (en su fase inicial) disminuyó significativamente (8.6 ± 2.1 vs 11.5 ± 2.4). La PMSG no tuvo efecto detectable sobre la cantidad de folículos con atresia tardía (en estado avanzado). En este trabajo se descarta la hipótesis que la PMSG prevenga la atresia de foli-

culos preantrales, debido a que fue menor al 1% y no se afectó por el tratamiento.

Los autores, para explicar el efecto de la PMSG sobre los folículos antrales mencionan que la gonadotropina previene que algunos folículos normales entren al estado de atresia o bien, que rescate al algunos folículos con atresia temprana y estos retornen al estado normal. Dichas hipótesis han sido propuestas con base en estudios con ratonas (Peters et al., 1971) ratas (Brow y Tsafri, 1980) y ovejas (Hay et al., 1979). Asimismo se menciona que tales folículos pueden ovular o luteinizarse después del pico preovulatorio de LH, aunque - no siempre sean normales, como lo indica la presencia de abundante - picnosis en cuerpos lúteos (CL) recientes o folículos luteinizados - (Monniaux et al., 1984).

De dicho trabajo, se deducen diferencias a la estimulación del crecimiento folicular por PMSG o FSH en roedores y vaquillas. En éstas últimas, la respuesta es detectada solamente en folículos preantrales, ya que el número de folículos antrales, así como el índice mitótico de estos, no se afecta (Monniaux et al., 1984). En los roedores, tanto los folículos preantrales como los antrales son estimulados (Ryle, 1972; de Reviers y Mauleón, 1973; Chiras y Greenwald, 1978).

Podría inferirse que el efecto inmediato de la PMSG, sobre la población folicular de bovinos radica en estimular el crecimiento de folículos normales preantrales y rescatar algunos folículos antrales con atresia temprana. Así, al reducirse la atresia en folículos mayores a 1.7 mm de diámetro, se incrementa directamente el número -

de folículos disponibles para responder a la gonadotropina.

1.1 Hormonas Gonadotrópicas y viabilidad de los Embriones:

Además de los problemas de variación individual en la respuesta ovárica, están aquellos asociados con la calidad de los embriones producidos por la superovulación. Se menciona que el 55% de los embriones recobrados sobre el día ocho del ciclo, de donadoras superovuladas, presentan anomalías (Newcomb, 1982, citado por Moor et al., 1984). Se ha sugerido que la causa de esas anomalías es el medio ambiente uterino desfavorable que se provoca por niveles irregulares de esteroides circulantes en los animales tratados (Booth et al., 1975). Moor y Trouson (1977), encontraron que ovocitos ovinos madurados en presencia de niveles inadecuados de estrógenos lograban la fertilización y desarrollo; sin embargo, presentaban alteraciones en etapa de blástula. Moor et al. (1984), utilizando folículos de ovinos no tratados o previamente tratados con PMSG (36 h) o una preparación de pituitaria equina (FSH-E), observaron que los ovocitos de los animales testigo presentaron invariablemente el estado de dictiotene. Los folículos de los animales tratados con FSH-E o PMSG no solo crecieron sino que se observó el estado de maduración de metafase II en el 33% de los ovocitos. Al utilizar ovocitos bovinos, los mismos autores, observaron que a las 48 h posteriores al tratamiento con FSH-E hubo expansión del cumulus y activación de la meiosis en el 18.4% de los folículos grandes no atrésicos, pero no en folículos atrésicos. Cuando los ovocitos se recuperaron a las 24 h del tratamiento, se observó que el 77.5% de los que pertenecían a -

folículos grandes no atrésicos (> 6 mm) fueron prematuramente activados por la FSH-E. En los folículos de tamaño medio (3 a 6 mm) el 9 y 19% de los ovocitos presentaron signos de activación y degeneración respectivamente.

Es evidente que la activación prematura durante la superovulación es una fuente importante de pérdida embrionaria. Algunos de los ovocitos activados serán retenidos en los folículos luteinizados, mientras que otros serán ovulados en forma tardía y contribuirán a la formación de embriones anormales (Moor et al., 1984).

Por otro lado, se ha mencionado que al incrementar la dosis de PMSG utilizada para superovular ratas inmaduras, hay una reducción en la fertilización in vitro de los ovocitos cuando estos son recobrados en el período normal de ovulación (Evans y Armstrong, 1984)

Recientemente Callesen et al. (1986), informaron que una elevada proporción de vacas y vaquillas superovuladas con PMSG o FSH, tuvieron un balance hormonal periovulatorio anormal y por consiguiente la maduración folicular y del ovocito fue deficiente, resultando en embriones de baja calidad. Dichos autores definen dos grupos de animales donadores de ovocitos: Grupo I, caracterizado -- por un patrón periovulatorio normal de LH y progesterona plasmáticos y una sincronía en la maduración nuclear del ovocito y la este-reidogénesis, en la mayoría de los folículos. El grupo II se caracteriza por un desbalance endócrino de LH y progesterona, así como asincronía en la maduración nuclear del ovocito (activación prematu

ra o interrupción melotica).

Así, la estimulación ovárica con gonadotropinas provoca que una proporción de los óvulos que logran la fertilización, resulten en embriones anormales, debido a el efecto detrimental de altos niveles de esteroides o a que fueron activados prematuramente por el tratamiento.

2.- EL ESTADO OVARICO Y SU IMPORTANCIA EN LA RESUESTA A LA SUPEROVULACION:

Kruip (citado por Moor et al., 1984) menciona que durante el ciclo estral cada ovario de la vaca contiene de ocho a diez folículos de más de 2 mm de diámetro en cada día y de estos el 85% sufren atresia. Los folículos no atrésicos de tamaño medio son más abundantes entre los día cero a cinco y 9 a 13 del ciclo estral; mientras que los folículos grandes no atrésicos (> 10 mm) se encuentran en los días cuatro a nueve y 13 a 18 del ciclo.

Saumande et al. (1978), establecieron que la variabilidad individual de la respuesta ovárica a la administración de gonadotropinas podría estar relacionada a la variabilidad del estado ovárico de cada animal al momento del tratamiento.

Monniaux et al. (1983), mencionan que factores numéricos y endocrinos intervienen sobre la respuesta ovulatoria a las gonadotropinas. Al referirse a los primeros, dichos autores mencionan que hay una estrecha relación entre el número total de folículos en crecimiento en el ovario antes del tratamiento y el total de CL y folículos -

luteinizados ($r = .88$). Dicha correlación fue observada con diferentes clases de folículos (normales o atrésicos, preantrales o antrales). Sin embargo, la cantidad de CL exclusivamente no se correlaciona con ningún tipo de variable folicular medida antes del tratamiento. Por otro lado, el número de folículos luteinizados se correlacionó significativamente con la suma de folículos atrésicos mayores a .5 mm antes de la administración de la hormona, pero no con los demás tipos de folículos o con la suma de ellos.

Por otro lado Kruip et al. (1979), señalan que el 17- β estradiol folicular se incrementa a medida que los folículos bovinos alcanzan un diámetro de 8 mm. Dicho esteroide promueve la vascularización folicular e incrementa los receptores a gonadotropinas. De esta manera, los folículos más activos tienen mayor facilidad para captar moléculas de FSH.

La concentración del pico preovulatorio de 17- β estradiol está correlacionada con el número de estructuras lúteas que se establecen en los ovarios estimulados con gonadotropinas (Lemon y Saumande, 1972; Testart et al., 1977; Saumande, 1980). Como se ha señalado anteriormente, los folículos más involucrados en la respuesta ovulatoria y luteal a la PMSG son aquellos mayores a 1.7 mm de diámetro en estado normal y con atresia temprana. Los primeros pueden crecer más rápido y secretar 17- β estradiol antes que los folículos con atresia temprana. Así, para estos últimos el pico preovulatorio de LH ocurre antes de que adquieran un estado de maduración que les permita ovular, por lo que únicamente se luteinizan (Monniaux et al.,

1983).

2.1. Papel de la Inhibina y el Factor Inhibidor del crecimiento folicular (FGI):

Miller et al. (1979), observaron que el fluido folicular - bovino contiene una substancia que cuando se administra sistémicamente a ovinos y bovinos retarda la aparición del estro. Dicho efecto fue debido a la inhibición de crecimiento folicular. También, sugirieron un papel fisiológico de una substancia folicular no esteroidal en la regulación de la dinámica folicular.

2.1.1. Inmunización contra inhibina. La inhibina es una hormona proteica producida por células de la granulosa, la cual inhibe específicamente la síntesis y liberación de FSH de la glándula -- pituitaria (Bindon, 1984). Se menciona que en ovinos altamente prolificos, la proporción del contenido de inhibina en los ovarios es de solo un tercio con respecto al contenido en ovinos con una ovulación (Cummins et al., 1983).

La inmunización de ovinos contra preparaciones enriquecidas de inhibina incrementa la tasa de ovulación (Henderson et al., 1984). Borregas inmunizadas y ovariectomizadas contienen anticuerpos que neutralizan los efectos depresivos del fluido folicular sobre la FSH (Al-Obaide et al., 1984, citados por Bindon et al., 1986). Aquellas hembras que incrementaron su número de ovulaciones, tuvieron elevadas concentraciones plasmáticas de FSH durante la fase folicular del ciclo estral (O'Shea et al., 1984, citados por Bindon et al., 1986).

Cummins et al. (citados por Bindon et al., 1986), mencionan que vaquillas Hereford que comenzaron a inmunizarse desde los cuatro meses de edad contra inhibina, parcialmente purificada de fluido foli- cular ovino, una vez alcanzada la pubertad presentaron ciclos estra- les más regulares y un aumento en el número de ovulaciones en cada - ciclo (más de cinco).

Lo anterior, hace considerar el uso de inmunización pasiva contra la inhibina, junto con los tratamientos de gonadotropinas exó- genas para la superovulación de donadoras de embriones (Bindon et al., 1986).

2.1.2. Inhibición del crecimiento folicular.- La inhibina no es la única hormona proteica producida por las células granulosas. El fluido folicular ovino, libre de esteroides, inhibe la respuesta ovárica a la PMSG en borregas hipofisectomizadas. Esto puede expli- carse por la acción local en el ovario de alguna sustancia de los - folículos ováricos. Tal sustancia es conocida como inhibidor del - crecimiento folicular (FGI) y actúa inhibiendo la mitosis de las célu- las granulosas en folículos en crecimiento (Bindon et al., 1986).

Lo anterior podría explicar por qué el folículo "dominante" en especies de una ovulación, inhibe el desarrollo de otros folículos que de otra manera ovularían. Sin embargo, se desconoce como los -- tratamientos de gonadotropinas exógenas (PMSG o FSH), contrarrestan la influencia del FGI en animales intactos (Bindon et al., 1986). Este autor menciona que sería de gran interés tratar de eliminar los efec- tos del FGI mediante inmunización activa o pasiva, para obtener res-

puestas más favorables a la superovulación.

Podemos concluir que además de existir una clase folicular que responde al estímulo de las gonadotropinas exógenas (folículos preantrales normales y antrales mayores a 1.7 mm de diámetro), la -- cual varía entre los animales en un momento determinado, existen -- otros factores intraováricos que influirán en la respuesta ovárica -- definitiva.

3.- DETERMINACION Y ESTIMACION DE LA RESPUESTA OVARICA A LA SUPEROVULACION:

A pesar de que cada vez se hacen más eficientes los pasos de la metodología de producción y transferencia de embriones, aún es imposible asegurar que una donadora suministrará un número uniforme de embriones transferibles en un momento determinado. La causa principal de este problema es la gran variación individual de la respuesta ovulatoria a los tratamientos (Hammond y Bhattacharya, 1944, citados por Moor et al., 1980; Monniaux et al., 1984).

Dicha variación se debe en gran parte al tratamiento seleccionado y a la diferente respuesta de los animales a un tratamiento dado (Gordon et al., 1962; Rowson, 1976). Por otro lado Guay y Bedolla (1981), mencionan que otra parte de la variabilidad es debida al método de estimación de la respuesta ovárica. Por ello, es necesario conocer la precisión y los límites de las técnicas utilizadas para estimar la respuesta ovárica. Los estimadores que pueden utilizarse para medir dicha respuesta son el número de estructuras lutea

les o foliculares en los ovarios estimulados, determinadas a través de palpación rectal, endoscopia u observación directa (Monniaux et al., 1983). Otro estimador es el nivel de progesterona en la leche (Shilling et al., 1981, citados por Monniaux et al., 1983), o en el plasma (Saumande, 1980), después de la ovulación. O bien, la medición de $17-\beta$ estradiol plasmático durante el pico preovulatorio (Lemon y Saumande, 1972; Testart et al., 1977; Saumande, 1980).

3.1. Estimación de la respuesta ovárica por conteo de estructuras luteales y foliculares:

Para estimar la respuesta ovárica a la superovulación, generalmente se utiliza la palpación rectal para contar los CL y los folículos grandes presentes en los días siete u ocho del ciclo estral. La endoscopia o la observación directa de los ovarios son menos utilizadas. Al comparar estas tres técnicas se observa una discrepancia en los resultados, especialmente en aquellos obtenidos por el examen tocológico (Guay y Bedolla, 1981; Heyman y Chesne, 1983, citados por Monniaux et al., 1983). La precisión de la estimación por palpación rectal disminuye al incrementarse el número de ovulaciones y resulta totalmente inadecuada cuando hay más de 10 CL en un ovario. Asimismo no es posible distinguir entre un CL verdadero y un folículo luteinizado, ello solamente se logra con técnicas histológicas a las 48 h después del pico preovulatorio de LH. La relación entre la observación directa de los CL y la histología de dicha estructura es alta ($r = .94$), pero si se considera el número total de estructuras lúteas (CL y folículos luteinizados) la re-

lación entre este número y el de ovulaciones disminuye ($r = .77$). La relación entre el número de embriones recuperados y el número de ovulaciones, es mayor que con el número de estructuras lúteas. Por -- ello, el número de embriones recobrados puede ser mejor estimador de la respuesta ovulatoria al tratamiento que el número de estructuras lúteas observadas (Monniaux et al., 1983).

Los folículos que son encontrados al momento de la colección embrionaria, crecen después de la ovulación y son estimulados por el remanente de PMSG presente en la sangre de los animales tratados (Saumande, 1980). Por ello, no deben considerarse como folículos que tuvieron desarrollo simultáneo con aquellos que ovularon (Monniaux et al., 1983).

3.2. Estimación de la respuesta ovárica mediante niveles hormonales:

Se ha tratado de correlacionar la tasa de ovulación con - los niveles plasmáticos de progesterona posteriores a la ovulación. Al día ocho después de la ovulación hubo una buena relación entre la concentración de progesterona y el número de CL (Lemon y Saumande, 1972; Lamond y Gaddy, 1972). Sin embargo la tasa de ovulación fue estimada contando las estructuras lúteas, incluyendo posiblemente folículos luteinizados los cuales secretan progesterona (Cran, 1983).

Los niveles de 17- β estradiol en el plasma, después del tratamiento con PMSG, estuvieron bien correlacionados con las estruc^uturas luteales (CL y folículos luteinizados), con un valor de:

$r = .90$ entre el número de ovulaciones y la magnitud del pico preovulatorio de $17\text{-}\beta$ estradiol (Lemon y Saumande, 1972; Testart et al., 1977; Saumande, 1980).

3.3. Estimación de la respuesta ovárica utilizando Ecografía y Ultrasonografía:

Chupin y Procureur (1983a), proponen la ecografía de folículos grandes al inicio del estro, para predecir el número de ovulaciones después de la aplicación de PMSG. Los autores determinaron el número y tamaño de los folículos grandes mediante una sonda rectal conectada a una ecocámara ALOKA202 (A.H.S. France). Solamente los folículos mayores a 10 mm fueron contados. El número de CL se determinó al sacrificio (cuatro a nueve días posteriores al estro). Se observó que el número de folículos visibles por ecografía durante las primeras horas del estro se relacionó con el número de ovulaciones. Los autores proponen no inseminar a animales con uno o dos folículos y solamente utilizar semen valioso para hembras con más de seis folículos.

Por otro lado Zalesky et al. (1986), evaluaron el uso de la ultrasonografía ovárica para determinar la respuesta a la superovulación. Durante el período de tratamiento con FSH, el examen de las estructuras ováricas se hizo con un sistema de ultrasonido (Technicare 210 DX) equipado con un transductor intrarectal de 5 MHz, haciendo las lecturas a intervalos de 12 h. Durante las 48 h posteriores a la finalización del tratamiento, las lecturas se hicieron cada seis horas. Las ovulaciones fueron determinadas por la desaparición

de los folículos individuales entre exámenes sucesivos. Para la validación de la técnica, se utilizó laparoscopia al momento de la colección embrionaria. El número de ovulaciones determinadas por ultrasonografía se correlacionó con el número de ovulaciones determinadas por laparoscopia (ovario derecho: $r = .96$; ovario izquierdo: $r = .89$). Del mismo modo, el número de ovulaciones determinadas por laparoscopia o ultrasonografía se correlacionó con el total de embriones colectados ($r = .88$ y $r = .89$ respectivamente).

Es decir, la ultrasonografía puede ser utilizada para determinar el tiempo de ovulación y el número de embriones a recuperar en vacas superovuladas.

4.- PERFILES HORMONALES DURANTE LA SUPEROVULACION.

A pesar de que los estudios sobre superovulación en ganado bovino se iniciaron hace 46 años (Zavadowsky y Eskin, 1939, citados por Saumande, 1980), la gran variación de la respuesta en cantidad y calidad embrionaria continúa siendo el factor limitante en programas de transferencia de embriones. Por ello, se han llevado a cabo diversos trabajos sobre mediciones hormonales después del tratamiento, a fin de comprender mejor dicha variación.

4.1. Progesterona:

4.1.1. Niveles plasmáticos en vaquillas prepúberes.-

Testart et al. (1977), mencionan que después de administrar PMSG y colocar una esponja vaginal con acetato de fluorogestona por cuatro días a terneras de 3 meses de edad, en aquellas con respuesta ovula

toria alta los valores de progesterona iniciaron su incremento a las 46 h posteriores al pico de LH, alcanzando valores máximos - - (87.9 \pm 13.5 ng/ml) a los seis días después de tal evento. En las terneras de baja respuesta ovulatoria, el incremento de progesterona plasmática se inició a las 62.7 h después del pico de LH y alcanzó su máximo también al sexto día, aunque los valores fueron menores (30.8 \pm 16.6 ng/ml).

4.1.2. Concentraciones de progesterona plasmática en vacas superovuladas.- Booth et al. (1975), encontraron que el patrón de progesterona plasmática en vaquillas superovuladas con PMSG, fue similar al de las testigo, aunque los niveles de las primeras fueron mucho más altos, principalmente entre los días 12 y 16 (60 y 100 ng/ml respectivamente).

En el intervalo entre la administración de la PMSG y la aplicación de algún agente luteolítico, los valores de progesterona se incrementaron ligeramente (6.4 \pm 2.7 a 8.3 \pm 4.8 ng/ml) (Solti et al., 1978). Esto pudiera deberse a la formación de tejido luteal en folículos y a un aumento en la secreción adrenal de progesterona; ello ocurre en ratas en un lapso de 8 a 14 h después de aplicar la PMSG (Sashida y Johnson, 1976). A las 25.4 \pm 1 h después de la administración de prostaglandinas, los niveles de progesterona decaen a 1.2 ng/ml (Jensen et al., 1982).

Los niveles plasmáticos de progesterona durante el estro son mayores en los animales tratados con PMSG con respecto a los - testigos (1.02 ng/ml vs 0.86 ng/ml) (Jensen et al., 1982). Esto pue

de deberse al efecto luteotrópico de la PMSG, la cual puede hacer - menos susceptible al tejido lúteo a la acción de la prostaglandina (Bolt, 1979); o bien, a la luteinización de folículos.

Dentro de las 48 h posteriores al pico de LH se inicia un rápido incremento en los niveles de progesterona (Solti et al., 1978). En el período de colección de embriones (días seis a ocho del ciclo) los niveles de progesterona alcanzan valores de 20.5 ng/ml (Jensen et al., 1982). El pico más alto se ha encontrado en el día 14 del ciclo, siendo el valor entre 60 y 120 ng/ml (Booth, 1975; Solti et al., 1978).

4.1.3. Efecto sobre la duración del ciclo estral.- Los altos niveles de progesterona después del tratamiento con gonadotropinas afectan la duración del ciclo estral. Booth et al. (1975), - citan que en animales cuya secreción máxima de progesterona alcanzó 50 ng/ml, el ciclo estral duró de 22 a 26 días; mientras que en las hembras con niveles de 100 ng/ml, la duración fue de 28 a 34 días. Jensen et al. (1982), mencionan un promedio de 26.0 ± 4.8 días para el ciclo donde se colectaron embriones. Dichos autores mencionan que en el 50% de las vacas colectadas, el siguiente estro fue silencioso y que después de ese celo la mayoría tuvieron valores de progesterona menores a 1 ng/ml durante un período de 8 a 16 días y sin que existieran estructuras ováricas palpables.

4.1.4. Concentraciones de progesterona en la leche.- En la vaca, la medición de progesterona en la leche se utiliza con más frecuencia que en el plasma, para monitorear el ciclo estral y la

preñez. Este esteroide tiene el mismo patrón en los dos fluidos en animales ciclando, gestantes (Pope y Swinburne, 1980) y superovulados (Saumande et al., 1985). Sin embargo, mientras que en algunos estudios (Lemon y Saumande, 1972; Lamond y Gaddy, 1972) se encontraba relación entre el número de CL y la concentración plasmática de progesterona en vacas superovuladas, tal relación no había sido demostrada al utilizar la concentración en la leche (Foote et al. - 1972; Greve, 1980). Recientemente Saumande et al. (1985), observaron una correlación significativa entre el contenido de progesterona en la leche y la tasa de ovulación desde el segundo día del ciclo de superovulación ($r = .33$), la cual se incrementó después -- del día cuatro ($r = .81$).

Sin embargo, cuando la progesterona es medida en la leche, las variaciones en el porcentaje de grasa entre días y entre animales puede interferir en la demostración de una relación entre concentración hormonal y número de CL (Pope y Swinburne, 1980).

Por otro lado, no se han encontrado correlaciones significativas entre los niveles plasmáticos de progesterona en las distintas etapas (folicular y luteal) del ciclo estral antes del tratamiento superovulatorio y el número de ovulaciones posteriores al mismo. Sreenan y Gosling (1977), mencionan que al incrementar los niveles de progesterona en los días 3 y 10 del ciclo, mediante la administración exógena de esa hormona, no se afectó el número de ovulaciones; sin embargo, el día en que fue administrada la PMSG sí fue importante. Como se mencionó anteriormente, el tipo de pobla-

ción folicular al momento del tratamiento es un factor muy importante en la respuesta ovárica.

4.2. Estradiol.

4.2.1. Niveles plasmáticos en animales prepúberes.- En terneras tratadas con una inyección IM de PMSG y simultáneamente con acetato de fluoregestona (en esponja vaginal por cuatro días), el pico de estradiol ocurrió en el día cinco después de la administración de la PMSG y entre 10 y 18 h después de retirar la esponja vaginal. La concentración máxima de estradiol fue de 56 ± 13 pg/ml para los animales de respuesta ovulatoria baja y 274 ± 185 pg/ml para terneras con respuesta ovulatoria alta (Testart et al., 1977). Los niveles de dicho esteroide disminuyeron rápidamente dentro de 24 h y en el período de ovulación fueron relativamente bajos. El nivel preovulatorio de estradiol está altamente correlacionado con el número de estructuras lúteas encontradas en el día 11 ($r = .92$) del ciclo postratamiento (Testart et al., 1977).

4.2.2. Concentraciones plasmáticas de estradiol en hembras púberes.- Saumande (1980), menciona que el incremento en la concentración de $17\text{-}\beta$ estradiol en el plasma de vaquillas superovuladas ocurre a las 24 h posteriores a la aplicación de PMSG, alcanzando el pico preovulatorio máximo entre las 34 y 50 h posteriores a la administración de un agente luteolítico (el cual se aplica a las 48 h del tratamiento con gonadotropina). Dicho valor (87.7 ± 47.9 pg/ml), tuvo una alta correlación con el número de ovulaciones ($r = .90$), lo cual concuerda con lo observado por otros autores -

(Lemon y Saumande, 1972; Renard et al., 1978). Después del pico preovulatorio, los niveles de estrógenos disminuyen llegando a concentraciones de pretratamiento en las siguientes 24 a 26 h. En el 14% de los animales tratados, se observó un segundo pico de 17-B estradiol (150.6 pg/ml) a los tres días después del estro (Saumande, 1980). Inicialmente se pensaba que el aumento en la secreción de estradiol en la etapa posovulatoria de hembras tratadas con PMSG, se debía a la síntesis de estrógenos en los folículos grandes presentes en esa etapa, que se creía no habían ovulado (Booth et al., 1975). Posteriormente se observó que dichos folículos aparecían después de la ovulación en respuesta al estímulo de la PMSG residual en la sangre de los animales tratados (Saumande, 1980). Schams et al. (1978), informan que al tiempo de la descarga preovulatoria de gonadotropinas, aún se encuentra en circulación entre el 40 y 60% de la concentración original de PMSG. Ello es suficiente para afectar el crecimiento folicular (Saumande, 1980).

Cabe citar que los estrógenos pueden acelerar el transporte de los embriones en el oviducto (Harper y Chang, 1971), por lo tanto, es probable que los altos niveles de este esteroide encontrados después de la ovulación, modifiquen la motilidad del oviducto y el útero causando un transporte más rápido de los embriones.

4.3. Hormona luteinizante (LH):

4.3.1. Niveles plasmáticos en hembras prepúberes.- Iestart et al. (1977), mencionan que después de retirar las esponjas con acetato de fluorogestona de terneras, la concentración plasmáti-

ca de LH tuvo una variación de 1 ng/ml, entre los distintos animales tratados con PMSG. Al retirar el progestágeno se inició la liberación de LH, alcanzando la máxima concentración (11 a 72 ng/ml) entre las 12 y 22 h. Los autores no encontraron correlación entre la duración del pico o valores máximos alcanzados de LH y la respuesta ovárica.

4.3.2. Niveles plasmáticos en animales ciclando y calidad embrionaria.- Se ha demostrado que los niveles basales de LH (0.4 a 1 ng/ml) en el diestro de vacas donadoras de embriones no son alterados por la superovulación con PMSG (Saumande, 1980), aunque sí hay diferencia en la duración y altura de pico preovulatorio entre los animales tratados y testigos (Philippo y Rowson, 1975).

Después de la aplicación de algún agente luteolítico en animales estimulados con gonadotropinas, el pico de LH ocurre a las 42 h (Saumande, 1980; Jensen et al., 1982; Donaldson, 1985), mientras que en hembras no tratadas, el pico ocurre a las 60 h (Jensen et al., 1982). La duración del pico preovulatorio es mayor en animales estimulados con gonadotropinas (16 h) que en los testigos (12 h) (Jensen et al., 1982). También mencionan que el lapso entre la manifestación del celo y la liberación de LH fue de: -3.5 h y 2.6 h para los grupos experimental y testigo respectivamente. Por otro lado Donaldson (1985), encontró que en vacas superovuladas con FSH el pico de LH se presentó en un período normal (dentro de las cuatro horas después de la aparición del estro), precoz (antes del

estro) o tardío (más de cuatro horas después del estro), así como ausencia del mismo en el 14.3% de los animales. Esta variación se ha asociado con la calidad y cantidad de embriones recuperados - - (Greve et al., 1984). De hecho Donaldson (1985), encontró que vacas con descarga de LH en un período normal, temprano o tardío tuvieron 64, 40 y 16% de embriones transferibles respectivamente.

Respecto a los niveles de LH durante la descarga preovulatoria, se menciona que en animales no estimulados con PMSG la concentración es mayor (31.8 ± 8.8 ng/ml) que en los tratados. En estos últimos, aquellos con una respuesta ovulatoria alta tuvieron niveles más elevados de LH (24.2 ± 2.2 ng/ml) en comparación con los de respuesta ovulatoria baja (16.3 ± 3.7 ng/ml) (Jensen et al., 1982). Dichos autores, mencionan que las diferencias anteriores se relacionan con las concentraciones de progesterona al momento del estro, - ya que altos niveles de progesterona pueden bloquear e inhibir la liberación de LH. Una producción deficiente de LH puede afectar -- adversamente la maduración del ovocito y la ovulación (Linder et al., 1977) y con ello la fertilización (Jensen et al., 1982) y el porcentaje de embriones transferibles (Donaldson, 1985).

La correlación entre el porcentaje de embriones transferibles y los niveles de LH durante el pico preovulatorio es de: $r = .68$ (Donaldson, 1985). Es decir a un pico más elevado de LH el porcentaje de embriones transferibles será mayor.

4.3.3. Ovulación en animales estimulados con gonadotropinas.- Yadav et al. (1985), sacrificaron a los animales tratados con

FSH en distintos períodos después de la aplicación del luteolítico a fin de determinar las ovulaciones y el número de folículos. Los períodos fueron: 1) 48 a 60 h; 2) 60.5 a 65 h; 3) 65.5 a 73 h; 4) 74 a 86 h y 5) 87 a 100 h. Los intervalos entre la administración del luteolítico y la manifestación de celo y el pico de LH fueron: 41.3 ± 1.2 h y 43.3 ± 2.4 h respectivamente. El promedio acumulativo de folículos mayores a 10 mm de diámetro que ovularon fue: $0, 2 \pm 2.0, 55.5 \pm 15.6, 74.4 \pm 11$ y 88.6 ± 3.9 para los períodos 1 a 5 respectivamente. Se observa que la ovulación se inició alrededor de las 24 h después de la aparición del estro y del pico preovulatorio de LH. Los autores mencionan que el 75% de folículos grandes (> 10 mm) ovularon dentro de las 18 h posteriores a la primera ovulación.

4.4. Hormona Folículo Estimulante (FSH):

En terneras prepúberes superovuladas con PMSG en combinación con una esponja de acetato de fluorogestona que se aplicó durante cuatro días, la descarga de FSH ocurrió al día siguiente del retiro del progestágeno. La concentración máxima de FSH se observó alrededor de cuatro horas (antes o después) de la LH (Testart et al., 1977).

Donaldson (1985), observó que el pico preovulatorio de FSH en vacas superovuladas coincidió de manera general con el pico de LH. La producción total de embriones en hembras en las que los picos de LH y FSH coincidieron fue de 35%, cuando el pico de FSH ocurrió antes que el de LH de 32% y cuando se presentó después - -

del pico de LH la producción fue de 17%.

Por otro lado, el intervalo entre el estro y el pico de FSH también afectó la producción de embriones transferibles. Así, las vacas que presentaron el pico de FSH después de cuatro horas de haber aparecido en celo, dentro de las cuatro horas después del celo y antes de manifestarse el mismo, tuvieron 43, 23 y 17% de embriones transferibles respectivamente (Donaldson, 1985).

Al parecer se requieren picos preovulatorios normales de gonadotropinas para una óptima producción de embriones en vacas superovuladas. Los resultados anteriores sugieren que el pico de -- FSH está involucrado en el número de embriones y óvulos producidos y el de LH en la calidad de los mismos.

4.5. Niveles plasmáticos del Factor de Crecimiento - I/Somatomedina C en vacas superovuladas: El factor de crecimiento - I/Somatomedina C (IGF-I), parecido a la insulina, es un polipéptido con actividad similar a la de la insulina, que aumenta la este-roideogénesis de las células granulosas, estimulada por las gonadotropinas in vitro. El IGF-I, se encuentra en el líquido folicular y plasma (Miller et al., 1986). Dichos autores, examinaron si las concentraciones plasmáticas del IGF-I variaban durante la superovulación con FSH-P y si esos niveles se relacionaban con cambios en la secreción de la LH y progesterona. Las concentraciones plasmáticas de IGF-I no variaron antes de la ovulación (0.39 a 0.44 U/ml), pero si fueron significativamente mayores (0.65 ± 0.06 U/ml) en el período posovulatorio temprano (1 ng/ml de progesterona). Los va-

lores de este factor en dicho período se correlacionaron positivamente con la concentración máxima del pico de LH ($r = .70$), el número total de ovulaciones ($r = .91$) y con los niveles de progesterona en la etapa en que los valores de ésta fueron mayores a 5 ng/ml ($r = .89$).

Como se ha visto, el estudio de la endrinología de -- vacas superovuladas conduce a una mejor comprensión de la variación de la respuesta ovárica. Al mismo tiempo, se abren alternativas para tratar de obtener mejores resultados. Así, el hecho de saber que en vacas superovuladas el pico preovulatorio de LH es deficiente, condujo a la utilización de GnRH junto con los tratamientos de gonadotropinas, en un intento por aumentar el número de embriones transferibles.

5.- UTILIZACION DE PMSG EN LA SUPEROVULACION:

La PMSG ha sido utilizada a nivel comercial y de investigación por más de 35 años. En las hembras de las especies domés ticas se ha utilizado para incrementar las tasas de ovulación de hembras ciclando, a fin de aumentar los porcentajes de preñez y actualmente para inducir superovulación (Bindon y Piper, 1977).

5.1. Naturaleza de la PMSG:

Esta hormona exhibe actividades similares a las de la - FSH y en menor medida de LH. Se encuentra en altas concentraciones en la sangre de yeguas gestantes y retiene su actividad por - varios años si el suero es congelado (Papkoff, 1974). Una carac-

terística química importante de esta hormona es su alto contenido de carbohidratos (41 a 45%), en particular el ácido siálico (16.8%) (Papkoff, 1978). Esa característica retarda la degradación hepática de las hormonas glicoproteicas y por lo tanto influye en su vida media en plasma (McIntosh et al., 1975). En la oveja, la PMSG tiene una vida media de 21 h (McIntosh et al., 1975), mientras que en bovinos varía entre 50 y 120 h (Schams et al., 1978). Al igual que la FSH y la LH, esta hormona glicoproteica consta de dos subunidades diferentes: la subunidad α , que es estructuralmente similar en esas hormonas y la subunidad β , que es responsable del tipo de actividad biológica, aunque para mostrar su acción debe estar unida a la subunidad α (Papkoff, 1974).

Mientras que la secuencia de aminoácidos de las subunidades β de la FSH y LH se conoce en muchas especies y se han identificado las regiones que se unen a los sitios receptores, la misma información no es disponible para la PMSG (Stewart y Stewart, 1977, Weare y Reichert, 1979, citados por Moor et al., 1980).

Immunológicamente la PMSG tiene más similitud con la LH que con la FSH (Farmer y Papkoff, 1979); los anticuerpos de conejo para PMSG presentan reacción cruzada solamente con la LH equina (Papkoff, 1978). Del mismo modo, los anticuerpos de ovino para PMSG presentan reacción cruzada limitada con LH ovina in vitro (Bindon y Piper, 1982)

5.2. Modificación de la vida media de la PMSG:

La gran vida media de la PMSG hace que ésta pueda ser -

administrada en una sola inyección, a diferencia de las hormonas pituitarias que requieren ser aplicadas en dosis múltiples. Sin embargo, dicha propiedad puede tener la desventaja de provocar un excesivo grado de desarrollo folicular en algunos animales. Ello trae consigo efectos indeseables tales como: elevada producción de estrógenos y fallas de fertilización.

Bindon y Piper (1977), utilizaron anticuerpos contra la PMSG para terminar a voluntad la estimulación ovárica causada por la PMSG. En este trabajo el suero inmune utilizado (obtenido de ovinos) tuvo una potencia biológica tal, que 1 ml de antisuero neutralizó completamente los efectos biológicos de 1 UI de PMSG en el ratón. Las ovejas a las que se aplicaron 2 ml de anti-PMSG, al momento de aplicar la hormona, tuvieron un número de ovulaciones similar a las borregas que no recibieron PMSG. Es decir, el anti-PMSG abolió la respuesta ovárica a la gonadotropina. En otro estudio con la misma especie los autores arriba mencionados, observaron que con la inyección de anti-PMSG después de 32 h de aplicar la PMSG hubo una reducción significativa en el número de ovulaciones y en el número de folículos grandes (> 1 cm diámetro) después del tratamiento.

Dhondt et al. (1978), citan que al administrar 1 ml de antisuero de PMSG (obtenido de pavo) el día del celo (cuatro días después de la inyección de PMSG) obtuvieron los siguientes resultados: a) Un mayor número de ovulaciones cuando se administró anti-PMSG. b) Disminuyó el número de folículos mayores a 1 cm al momento de la colección (2.8 vs 6.5). c) Se incrementó la tasa de

fertilización de los óvulos recobrados (80% vs 60%. d) Un período menor en la duración del calor (24 vs 28 h).

Los autores arriba citados sugieren que estos efectos se deben a que el antisuero neutraliza la PMSG que permanece en circulación en el día del celo. Ello inhibe la estimulación del crecimiento folicular posterior al estro creando un medio hormonal más favorable para la fertilización al disminuir los niveles de estradiol. El antisuero sin embargo, no afecta la gran variabilidad individual en la respuesta ovulatoria entre los animales.

Saumande et al., (1984), reportan que al administrar el antisuero a las 12 o 24 h después de manifestarse el estro, hubo similitud en cuanto al número de ovulaciones, de embriones colectados y porcentaje de embriones transferibles. Asimismo, no se encontró diferencia en los parámetros anteriores al repetir los tratamientos cinco meses más tarde en los mismos animales.

Sprigmann et al., (1986), al aplicar el antisuero para PMSG a las 108 h de la inyección de la gonadotropina, encontraron que la concentración de estradiol alcanzó niveles basales en un lapso de 12 h después de administrar el antisuero. Se ha observado que el antisuero no interfiere con la liberación endógena de LH (Bindon y Piper, 1977; Dhondt et al., 1978, Saumande et al., 1984), ello puede deberse a que se aplica después de haber ocurrido el pico preovulatorio de gonadotropinas (Swanson y Hafs, 1971; Lemon et al., 1975; Dobson, 1978).

Cabe mencionar, que los productos comerciales con PMSG con

tienen al menos 15 diferentes antígenos (Jensen y Greve, 1980).

5.3. Esquemas de tratamientos para superovulación en -- bovinos:

Inicialmente Hafez et al. (1963), observaron que al administrar de 3000 a 5000 UI de PMSG en combinación con 2000 UI de HCG (Gonadotropina Coriónica Humana) no hubo diferencias en la respuesta ovárica, aunque con la dosis mayor (5000 UI) hubo más folículos desarrollados y se incrementó el porcentaje de folículos luteinizados.

Posteriormente, el tratamiento más utilizado para superovular consistió en la aplicación de la PMSG en el día 16, benzoato de estradiol en el día 19 o 20 y HCG el día del celo (Scanlon, 1968). Así, al administrar 3000 UI de PMSG en el día 16, se obtuvo 81.6% de animales superovulados con un promedio de 12.1 ovulaciones. Del 62.1% de las ovulaciones se obtuvieron óvulos y de estos, 54.1% fueron fertilizados (Scanlon, 1972).

Henricks et al. (1973), lograron más ovulaciones (12.6 ± 4.7 vs 6.5 ± 5.0) con 3200 UI de PMSG, que con 1600 UI al aplicar la hormona en el día 16 del ciclo estral.

En los últimos años, las dosis de PMSG empleadas para inducir superovulación en bovinos varían de 1500 a 4000 UI (Booth et al., 1975; Sreenan y Gosling, 1977; Cupps et al., 1977; Bindon y Piper, 1977; Solti et al., 1978; Dhondt et al., 1978; Saumande, 1980; Elsaesser et al., 1981; Guay y Bedoya, 1981; Jensen et al., 1982; Monniaux et al., 1983; Voss et al., 1983; Chupin y Procureur, 1983a; Saumande et al.,

1984; Thenhiemberg et al., 1984).

Usualmente las vaquillas solo requieren de 1500 a 1800 UI de PMSG (Testart et al., 1977), similarmente 3000 UI, inducirán superovulación en vacas cuyos ovarios se encuentren en estado normal (McIntosh et al., 1975). Sin embargo, como la calidad y potencia de PMSG varía significativamente entre los lotes, se recomienda utilizar hormona de un solo lote y probarla en algunos animales no valiosos. Una dosis adecuada en la prueba de un nuevo lote puede ser 2000 UI, disminuyendo o aumentando la dosis para alcanzar la respuesta deseable (Seidel et al., 1980); aún así no es posible eliminar la gran variación de respuesta entre individuos a una misma dosis.

5.3.1. Utilización de prostaglandinas o progestágenos después del tratamiento superovulatorio con PMSG.- Como se mencionó, la PMSG se administraba en los días 15 o 16 del ciclo estral, --seguida por la aplicación de HCG (Solti et al., 1978), o sin la aplicación de ésta (Seidel et al., 1980). Sin embargo, el intervalo entre el tratamiento de PMSG y la presentación del estro es variable entre los animales tratados, afectando con ello las tasas de ovulación.

Con el advenimiento de las prostaglandinas y de los estudios que informaron que la prostaglandina $F_2\alpha$ (PG) era luteolítica en bovinos y que la fertilidad del estro sincronizado era normal -- (Rowson et al., 1972; Lauderdale et al., 1974; Stellflug et al., 1973), el intervalo entre la PMSG y el calor pudo ser controlado. Para --ello, la PG y varios análogos sintéticos se han utilizado por las --vías intrauterinas (IU) o intramuscular (IM).

Por infusión intrauterina se han utilizado 0.5 mg de PG por dos días sucesivos en el cuerno uterino ipsilateral al CL - - (Elsden et al., 1974), o 2 mg en una sola infusión dentro del cuerpo uterino (Hill et al., 1973). Cuando se utiliza la vía IM la dosis - es de 25 a 30 mg de PG en una aplicación; aunque se han utilizado de 30 a 40 mg administrados en dos dosis a intervalos de 4 a 10 h - - (Seidel et al., 1975; Elsden et al., 1976). De los análogos de la PG, el ICI 79939 se administra por vía IU en una sola infusión de 350 µg o IM en dosis de 800 y 200 µg en dos días sucesivos, respectivamente (Tervit et al., 1973). El ICI 80996, es utilizado en una sola inyec-- ción IM de 500 µg (Phillippo y Rowson, 1975) o 1000 µg (Booth et al., 1975); o bien en dos aplicaciones IM totalizando de 900 a 1000 µg (Sreenan et al., 1975).

El lapso entre el tratamiento de PMSG y la inyección de PG usualmente es de 40 a 48 h . Cuando se administra la PG a intervalo de 24 h no se detectan cambios en la respuesta ovulatoria (Tervit -- et al., 1973; Anderson y Parker, 1976) con respecto a los horarios an-- teriores; pero cuando se administra el mismo día de la aplicación de la PMSG, se reduce la tasa de ovulación (Hill et al., 1973; Hill et al., 1976).

Cuando la PG se utiliza en el tratamiento con PMSG durante los días 14 a 16 del ciclo, es menos efectiva que cuando se aplica entre los días 8 y 12 (Phillippo y Rowson, 1975).

El intervalo entre la aplicación de PG y el estro es más corto en animales estimulados con PMSG que en los no estimulados; --

así, el celo se manifiesta generalmente a las 48 h en los primeros (Tervit et al., 1973), mientras que en hembras no superovuladas el calor se presenta al tercer día.

Cabe mencionar, que cuando se utiliza una dosis baja de PMSG (1000 UI), el período entre PG y celo se incrementa y el grado de sincronización se reduce (Phillippo y Rowson, 1975).

La presentación del calor en animales tratados con PMSG y PG es del 66 al 88%, el resto no lo manifiesta aunque la ovulación ocurre en la mayoría de las hembras estimuladas (Betteridge, 1977). Tervit et al. (1973), obtuvieron 75% de sincronización, sin embargo el 100% de los animales ovuló. Phillippo y Rowson (1975), detectaron celo en el 80% de las hembras y ovulación en el 85% de ellas. Moore (1975b), cita porcentajes de 67.6 y 91.55% de animales en calor y con ovulaciones, respectivamente.

Por otro lado, los progestágenos en combinación con estradiol (PRID, Sincromate-B) son alternativas para el control del ciclo estral, pudiendo ser aplicados en cualquier fase del ciclo.

Al comparar la utilización de PRID, Sincromate-B, Cloprostenol o prostaglandinas $F_2\alpha$ en tratamientos superovulatorios con PMSG (Voss et al., 1983; Tenhiemberg et al., 1984; Sprigmann et al., 1986), se observa que no hay diferencia entre ellos en cuanto a la presentación de celos y respuesta ovulatoria.

6.- UTILIZACION DE LA FSH PARA INDUCIR SUPEROVULACION.

6.1. Propiedades físicas y estructura molecular de la FSH:

Las preparaciones de FSH de gran pureza para caracterizaciones de la hormona, solo se han hecho a partir de pituitarias de ovinos, equinos y humanos (Sherwood y McShan, 1977).

El peso molecular de la FSH ovina, equina y humana es aproximadamente 32 000. La relativa naturaleza ácida de la FSH probablemente se deba a la presencia de ácido siálico, el cual no se encuentra en la LH ovina o bovina y solo está en pequeñas cantidades en la LH humana. Generalmente la FSH no muestra el polimorfismo electroforético, observado frecuentemente con la LH o HCG, como se ha demostrado por su reducido rango de puntos isoeléctricos (Sherwood y McShan, 1977).

Los carbohidratos comprenden cerca del 25% en la FSH ovina, equina y humana. En la FSH humana, los carbohidratos se encuentran en cuatro unidades heteropolisacáridas; dos se unen a la subunidad α y el resto a la subunidad β . Asimismo se observa que al extraerle el ácido siálico, la molécula de FSH ovina se elimina con mayor rapidez (Sherwood y McShan, 1977).

Las dos subunidades (α y β) de la FSH se disocian fácilmente por incubación con urea, guanidina, ácido clorhídrico o ácido propiónico. Dichas subunidades por sí solas no poseen actividad biológica; ello puede deberse a la falta de afinidad de las subunidades a los receptores hormonales de los tejidos que responden a la molécula intacta (Sairam y Papkoff, 1974, citados por Sherwood y McShan, 1977). La estructura primaria de las subunidades α y β de la FSH humana ha sido descrita. Así, se menciona que la subuni-

dad α de FSH (FSH- α) contiene 89 aminoácidos y su secuencia no difiere de la LH- α humana, pero sí es diferente a la secuencia de la HCG- α por tres aminoácidos adicionales en el N-terminal de la HCG- α . La FSH- β de humanos contiene 115 aminoácidos, cuya secuencia es diferente de LH- β de la misma especie (Shome y Parlow, 1974; citados por Sherwood y McShan, 1977).

6.2. Diferencias en la respuesta ovárica a los tratamientos con PMSG y FSH:

Elsden et al. (1978), citan que el tratamiento con FSH produjo significativamente mayor número de CL y embriones transferibles que con PMSG. Asimismo hubo más folículos mayores a 10 mm de diámetro al momento de la colección con PMSG (8.5) que con FSH (0.7) - - (Yadav et al., 1982).

La diferencia en vida media puede ser la causa de la diferente respuesta ovárica a las dos gonadotropinas, ya que mientras la vida media de la PMSG es de 21 h (McIntosh et al., 1975), la de -- FSH es de 1 a 5 h (Akbar et al., 1974). La alta incidencia de folículos grandes (> 10 mm) encontrados en los animales después del tratamiento con PMSG puede deberse al continuo estímulo resultante de la persistencia de altos niveles circulantes de esta hormona.

Por otro lado Saumande et al. (1984), mencionan que la PMSG es una hormona eficiente para la producción de embriones si su efecto estimulador es controlado con antisuero. Con un tratamiento adecuado de FSH, se obtiene una media de 5.3 embriones transferibles - (Chupin y Procureur, 1983b), Saumande et al. (1984), obtuvieron si-

milar resultado (5.5 embriones transferibles) con PMSG y antisuero. A pesar de obtener el mismo resultado, dichos autores citan que desde un punto de vista práctico, solo son necesarias tres inyecciones cuando se utiliza anti-PMSG (PMSG, PG y antisuero) comparado con 9 a 11 para el tratamiento de FSH (FSH y PG).

6.3. Esquemas de tratamientos con FSH:

Debido a la corta vida media de la FSH es necesario aplicarla frecuentemente para provocar la superovulación. Así, se han intentado una serie de esquemas para determinar la mejor forma de administrar el tratamiento.

6.3.1. Efecto del número de inyecciones al día.- Chupin y Procureur (1983b), compararon dos dosis totales (32 y 50 mg) y - cuatro frecuencias de aplicación por día (tres, dos o una diariamente y una cada dos días). Los autores mencionan que al disminuir la frecuencia de inyecciones de dos a una al día o una cada dos días, ocurrió una disminución en el número de ovulaciones y por lo tanto en la cantidad de embriones transferibles. El esquema de tres inyecciones por día no aumentó el número de CL ni embriones transferibles con respecto a la aplicación doble, en cada una de las dosis - totales. Asimismo al considerar únicamente la frecuencia de inyecciones diarias, independientemente de la dosis, no se encontraron - diferencias entre dos o tres aplicaciones por día, pero sí las hubo entre estas frecuencias y una diaria.

Los resultados de este trabajo sugieren que aplicar la -- FSH dos veces al día es lo óptimo, ya que no hay diferencia cuando

se compara con la aplicación triple. Laster (1972) y Godke et al. (1978), mencionan que la estimulación ovárica inducida por infusión continua de FSH es similar a la que se obtiene con dos inyecciones - por día.

6.3.2. Efecto de dosis por inyección.- Chupin y Procureur (1983b), compararon dos dosis totales (32 y 50 mg), aplicadas dos veces al día durante cuatro días en fracciones constantes o -- decrecientes. Para las dos dosis totales, el esquema de dosis decrecientes provocó un mayor número de CL ($P < 0.05$), mayor número de embriones recobrados ($P < 0.05$) y más embriones transferibles, aunque esta variable no fue significativa. Cuando se consideró únicamente el efecto de tratamiento (constante o decreciente), sin considerar dosis, se encontraron diferencias significativas en los tres criterios analizados: CL, embriones recobrados y embriones transferibles.

Por otro lado Warfield et al. (1986), al comparar la aplicación de dosis decrecientes y constantes, no encontraron diferencias estadísticas. Sin embargo, el esquema decreciente produjo más embriones totales (3.3 vs 2.3) y más embriones transferibles (2.5 vs 1.7). Al parecer, el esquema que se aplica para las dosis decrecientes no es muy importante, ya que Lubbadah et al. (1980), al aplicar 50 mg en cuatro días y cada 12 h de la siguiente manera: 20, 10, 10 y 10 mg, obtuvieron una buena respuesta ovárica (17.9 CL).

Así, la aplicación de FSH en fracciones decrecientes es el régimen más conveniente y más utilizado actualmente (Pawlyshyn

et al., 1986; Snyder, 1986; Saumande y Chupin, 1986; Voss et al., 1986).

6.3.3. Efecto de la dosis total de FSH.- Nelson et al. (1979), observaron más CL inducidos con 48 mg que con 32 mg, sin embargo el número de embriones transferibles fue similar (6.4 vs 6.5).

Hasler et al. (1979), al comparar 36, 44 y 52 mg de FSH no detectaron diferencias para CL, embriones recobrados y embriones transferibles. Del mismo modo Chupin y Procureur (1983b), al comparar 32 y 50 mg como dosis totales de FSH, no encontraron diferencias significantes con respecto a total de CL (10.8 ± 7 vs 11.9 ± 11.6), embriones recobrados (7.6 ± 7.6 vs 8.2 ± 9.4) y embriones transferibles (4.1 ± 4.7 vs 4.3 ± 5.6). Sin embargo, hubo más variación en la respuesta con 50 mg para todas las variables analizadas posiblemente debido a la sobreestimulación. Cabe mencionar que García et al. (1982), al comparar 32, 28 y 24 mg tampoco encontraron diferencias para los estimadores arriba señalados.

Se observa que en el Bos taurus existe un rango de dosis de FSH en el que no hay diferencia en la respuesta ovárica. Con base a los estudios anteriores podemos decir que dicho rango es de 30 a 50 mg de FSH.

Pawlyshyn et al. (1986), al comparar cuatro dosis totales de FSH (15, 30, 45 y 60 mg), encontraron que la dosis óptima se encuentra entre 30 y 45 mg. El número de embriones transferibles fue: 2.8, 6.4, 5.1 y 0.2 para 15, 30, 45 y 60 mg respectivamente. Es de-

cir, al aumentar la dosis de FSH de un nivel óptimo, el número de embriones transferibles disminuye.

6.3.4. Efecto de aditivos que retardan la absorción de FSH.- Las aplicaciones múltiples de FSH necesarias para provocar superovulación en vacas, tiene el inconveniente de que los animales deben manejarse dos veces al día, durante cuatro o cinco días. Por lo que se ha tratado de prolongar la permanencia de FSH en la sangre de los animales tratados, mediante aditivos que retardan su eliminación.

Looney et al. (1982), evaluó la administración de FSH en vehículos con 3.2% de gelatina proteica (Knox) o 0.9% de diluyente salino, para superovulación. Un grupo recibió 10 mg de FSH en diluyente salino por vía subcutánea una vez al día durante cinco días; el segundo lote recibió la misma dosis, pero en vehículo de gelatina, aplicados con el esquema anterior; el tercer grupo recibió 5 mg de FSH en diluyente salino, dos veces al día por cinco días. El número de CL fue similar en los tres grupos (22.8, 14.7 y 18.5 respectivamente), sin embargo con el último tratamiento se colectaron más embriones por donadora (5.0 vs 1 y 1.8, para el segundo y primer grupo respectivamente).

Por otro lado Hill et al. (1986), al aplicar 50 mg de FSH, disueltos en 3.2% de gelatina en dos aplicaciones por un día o bien, 5 mg disueltos en vehículo similar a intervalos de 12 h durante cinco días, obtuvieron mayor número de embriones transferibles por colección con el último tratamiento (3.7 ± 0.9 vs 0.6 ± 1.1).

Dees et al. (1984), sugieren que los liposomas multilaminares pueden ser utilizados como vehículo para liberar la FSH utilizada en tratamientos superovulatorios. De esta manera, al aumentar la permanencia de la hormona en la sangre, la cantidad utilizada en los tratamientos puede ser disminuída.

6.3.5. Incorporación de GnRH en regimenes de superovulación.- El factor liberador de gonadotropinas (GnRH), o sus análogos, se han utilizado dentro de los tratamientos superovulatorios a fin de controlar la liberación de la LH y obtener un pico preovulatorio -- adecuado que coincida con la presentación del celo.

Prado et al. (1984), al administrar 200 µg de GnRH por vía IM al momento del estro, no encontraron diferencias estadísticas en comparación con el grupo testigo, en el número de CL (4.7 vs 5) total de óvulos (4.4 vs 3.9) y embriones transferibles (3 vs 2.6). Savage y Mapletoft (1984), tampoco detectaron diferencias significativas entre el lote que recibió 250 µg de GnRH (al momento del estro) y el testigo, en cuanto a CL (13.5 vs 14.5), total de óvulos colectados (12.5 vs 12.9) y embriones transferibles (7.5 vs 8.1).

Por otro lado Voss et al. (1986), al utilizar un análogo a GnRH (20 mg) en un tratamiento superovulatorio, no obtuvieron diferencias significativas con el grupo testigo para: número de folículos, embriones recobrados y óvulos fertilizados.

Es decir, la utilización de GnRH a sus análogos, junto con los tratamientos superovulatorios no tiene efectos benéficos sobre la respuesta ovulatoria.

6.3.6. Efecto de la contaminación de LH en las preparaciones de FSH para tratamientos superovulatorios.- Las preparaciones comerciales de FSH, tienen actividades de FSH y LH. Varios estudios han tratado de determinar si la variabilidad de la respuesta -- superovulatoria en ganado puede ser atribuida a la variación de contaminación de LH en las preparaciones de FSH.

Chupin et al. (1984), compararon tres dosis de LH (4500, 900 y 52 Ug) en un tratamiento superovulatorio con 52 mg de FSH porcina. La LH fue administrada en ocho dosis decrecientes por cuatro días. El número medio de ovulación (2.1, 4.9, 8.4) y el número de embriones recobrados (0.5, 3.5, 7.1) y transferibles (0.5, 2.1, 4.6) se incrementaron a medida que la dosis inyectada de LH decrecía. - Solo fueron diferentes significativamente los valores mínimos y máximos para todas las variables.

Cuando se utilizaron dos preparaciones de FSH, con baja - (FSH/LH=6) y alta (FSH/LH=0.5) actividad de LH, en vacas Holstein y Charolais se observó un efecto de raza. Así, en vacas Charolais hubo mayor número de CL, óvulos recobrados y embriones transferibles al incrementarse la presencia de LH en las preparaciones empleadas (Chupin et al., 1985).

Donaldson y Woord (1985), al utilizar cromatografía en columnas de Shepadex, obtuvieron una fracción de FSH libre de LH (FSH-W), a partir de una presentación comercial de FSH-P. Al comparar las dos formas de FSH en un trabajo de dosis - respuesta, se observó que la exclusión de LH incrementó la efectividad de FSH-W, ya -

que al disminuir la dosis de ésta hubo mayor número de embriones -- transferibles.

Cabe mencionar que las actividades biológicas de LH y FSH varían entre lotes de FSH comercial. En siete de nueve lotes de FSH -P, la actividad de LH fue mayor a la de FSH (Lindsell et al., 1986).

6.3.7. Utilización de Prostaglandinas o Progestágenos durante la superovulación con FSH. La PG o sus análogos, se administran durante los tratamientos con la FSH a fin de obtener un intervalo más predecible entre la finalización del tratamiento con la gonadotropina y el estro (Elsden y Seidel, 1982). Por ello, se han investigado distintos intervalos entre la primera aplicación de FSH y la administración del agente luteolítico, para obtener una mejor respuesta ovárica.

Nelson et al. (1979), administraron la PG a las 48 o 72 h (15 a 25 mg seguidos de 13 o 8 mg a las nueve horas más tarde) de iniciado el tratamiento con FSH. Se colectaron significativamente más embriones transferibles de donadores a las que se aplicó la PG a las 72 h (8 vs 5). Sin embargo Rodríguez y Gregory (1986), al aplicar una dosis de 25 mg de PG en los períodos arriba mencionados, no detectaron diferencias en el número de embriones viables colectados por donadora (4.6 vs 4.5) .

Por otro lado Donaldson (1983), determinó el efecto de la frecuencia de aplicación y dosis de PG. En un primer experimento, el autor comparó los siguientes tratamientos de PG, durante la superovulación con FSH: 15 mg en una aplicación; 50 mg en dos dosis de

35 y 15 mg con espacio de 11 h entre una y otra; 50 mg en tres dosis de 20, 15 y 15 mg a intervalos de seis horas. Con la frecuencia triple se obtuvo una mayor presentación de celos (96% vs 68%, 86.6 para una y dos aplicaciones respectivamente). En el segundo estudio, se utilizaron tres dosis totales de PG, aplicadas en tres fracciones y en períodos de seis horas: 5, 5 y 5 mg; 10, 10 y 10 mg; 20, 15 y 15 mg. Con ello, no se encontraron diferencias en la presentación de celos, ni en la producción de embriones. Así, dicho autor concluye que tiene mayor importancia la frecuencia de aplicaciones que la dosis utilizada.

Perry y Donaldson (1984), compararon la utilización del Cloprostenol, Fenprostaleno y la PG en la superovulación de vacas, sin encontrar diferencias en la presentación de estro ni en el número de embriones viables.

También se ha evaluado la utilización de progestágenos sintéticos en los tratamientos superovulatorios con FSH. Ello con la finalidad de utilizar vacas donadoras con ciclos irregulares y eliminar la necesidad de detectar celos previamente. Así, Prather et al. (1984), al implantar 6 mg de Norgestomet seis días antes de iniciar la estimulación con FSH y retirarlo en el último día de tratamiento, previa aplicación de PG 24 h antes, observaron que el total de embriones y el número de embriones transferibles fue similar al grupo donde se utilizó PG únicamente. Mapletoft et al. (1980a) y Hill et al. (1986), corroboraron lo anterior.

7.- EMPLEO DE OTRAS HORMONAS PARA TRATAMIENTOS SUPEROVULATORIOS:

7.1 Gonadotropina Menopáusica Humana (HMG):

Investigaciones recientes mencionan que la HMG induce superovulación en vacas y vaquillas (Lauria et al., 1982a; Newcomb, 1980; Critser et al., 1983; Alcívar et al., 1983) y en ovejas (Schiewe et al., 1985). - Lauria et al. (1982a), determinaron que la vida media del componente con actividad similar a la LH de la HMG (hLH) es menor al de actividad similar a la FSH (hFSH). Ello puede influir favorablemente en la maduración folicular, ya que la desaparición del componente hLH puede incrementar la actividad de hFSH sobre la población folicular (Lauria et al., - 1982a).

Lauria et al. (1982b), aplicaron 300 UI de HMG (equivalentes a 150 UI de hLH y 150 de hFSH) por vía IM a las 0, 12, 24 y 36 h y 150 UI de dicha hormona (equivalentes a 75 UI de hLH y 75 UI de hFSH) a las 48, 60, 72, 84, 96 y 108 h; asimismo a las 72 h de la primera inyección de la HMG se aplicaron 0.5 mg de Cloprostenol. Al momento de la inseminación administraron 1000 UI de HCG. Con ello obtuvieron: 11.6 ± 3.2 y 10.3 ± 3.1 CL, 9 ± 3.4 y 7 ± 2.9 embriones colectados, 6 ± 2.4 y 4.7 ± 1.9 embriones transferibles, en vacas y vaquillas respectivamente.

McGowman et al. (1985), en un estudio de dosis-respuesta, consideraron el tratamiento anterior como la dosis 100% efectiva, en base a ello compararon el 25, 50 y 200% de dicha dosis. Con el 100% de la dosis obtuvieron más embriones transferibles (7.3 ± 1.5) que con el 25% (1 ± 0.4), 50% (2.9 ± 1.5) o 200% (2.5 ± 0.7). Cuando la dosis óptima de HMG se comparó con un tratamiento de FSH, ésta produjo más CL significa

tivamente; sin embargo, la tasa de fertilización y número de embriones transferibles no fueron diferentes entre ambas hormonas. Del mismo modo, Alcivar et al.(1983) y Critser et al.(1983), al comparar la respuesta a la superovulación con HMG y FSH no detectaron diferencias significativas en cuanto al número de CL, óvulos, embriones totales y embriones transferibles. Por lo tanto, la estimulación con HMG es una buena alternativa para administrar tratamientos superovulatorios en bovinos.

7.2 Extracto Pituitario Equino (EPE):

Danner et al.(1979), al administrar 4500 UI de EPE en dosis de crecientes (750, 500, 500, 250 y 250) cada 12 h durante cinco días, en combinación con PG a las 60 y 70 h de iniciado el tratamiento, obtuvieron buena respuesta ovulatoria (12.9 ± 3.9 CL), sugiriendo que dicha hormona puede utilizarse de manera efectiva para superovular vacas. Posteriormente Danner y Oxender (1980), observaron que una aplicación al día durante tres días, era el esquema adecuado.

8.- INSEMINACION ARTIFICIAL (IA) EN VACAS SUPEROVULADAS:

Debido a que en vacas superovuladas la ovulación de todos los folículos no es simultánea, se han realizado investigaciones acerca de la frecuencia de inseminación y los efectos de la superovulación sobre el transporte de los espermatozoides, a fin de determinar el régimen - óptimo de IA en vacas donadoras.

Wiley et al. (1982), estudiaron el efecto de la superovulación con FSH sobre el transporte espermático, determinado por la concentración de espermatozoides en el oviducto. Estos investigadores encontraron

que las concentraciones espermáticas del istmo o ampulla, no fueron diferentes entre los grupos superovulado y testigo. Tales resultados sugieren que las fallas de fertilización en vacas superovuladas no son debidas a deficiencias en el transporte de espermatozoides en el oviducto.

Por otro lado West et al. (1984), al utilizar una dosis de semen congelado a las 12 h, 12 y 24 h o a las 0, 12 y 24 h de iniciado el celo, obtuvieron: 59.4, 64.7 y 62.7% de fertilización y 33, 41 y 44% de embriones transferibles respectivamente. Cuando en los mismos períodos emplearon dos dosis de semen a las 12 h de detectado el calor, las tasas de fertilización fueron: 58, 73 y 77% respectivamente, siendo significativamente menor el primero. Del mismo modo Schiewe et al. (1985), compararon el efecto de inseminar a las 12 o 24 h empleando una o dos dosis de semen en cada horario. Observaron que al inseminar con una dosis de semen a las 24 h después de la detección del estro, los resultados de fertilización (78%) y embriones transferibles (60%), fueron similares a los obtenidos al utilizar dos dosis de semen a las 12 h (87.2 y 60.6 % de fertilización y embriones transferibles respectivamente) o 24 h (90 y 75.4% respectivamente). Dichos resultados podrían considerarse cuando el valor del semen sea muy elevado.

Gray y Spire (1984), investigaron el efecto de la calidad del semen, determinada por el porcentaje de acrosomas intactos, sobre las tasas de fertilización en vacas superovuladas con FSH. En este trabajo se utilizaron escalas diferentes de tiempo y temperatura al descongelado para provocar 76, 64 y 46% de acrosomas intactos. Los porcentajes de fertilización fueron: 63, 79 y 78% respectivamente sin ser diferentes entre sí. Sin embargo, la alteración del patrón hormonal por el tratamiento

superovulatorio hace del aparato reproductor de las donadoras un medio ambiente más hostil que el de las vacas no tratadas, por lo tanto el semen debe ser de alta calidad al descongelado (Elsden y Seidel, 1982).

9.- ALGUNOS FACTORES QUE AFECTAN LA RESPUESTA A LA SUPEROVULACION EN BOVINOS:

9.1 Efecto de la fase del Ciclo Estral en que se inicia el tratamiento:

La respuesta superovulatoria a las gonadotropinas exógenas varía dependiendo de la etapa del ciclo estral en que se administre el tratamiento. Greve (1976), inició el tratamiento superovulatorio con PMSG y PG durante los días 9 a 14 del ciclo estral sin encontrar diferencias -- significativas entre los días 9 a 13, en cuanto al número de ovulaciones (12.3, 11.9, 12.6, 11.3 y 10.7 respectivamente). La aplicación de la gonadotropina en el día 14 produjo una disminución significativa en la cantidad de CL (4.5). Cabe mencionar que la aplicación de la PMSG en el día 16 sin la inducción del celo mediante algún luteolítico, se descartó hace tiempo debido a la baja respuesta ovulatoria encontrada (Elsden et al., 1974). Con respecto a la utilización de FSH, Hasler et al. (1983), no encontraron efecto del día del ciclo cuando el tratamiento se inició durante los días 8 al 13 del ciclo estral. Pero cuando los tratamientos se iniciaron en los días tres, seis, nueve o doce (Lindsell et al., 1985), los resultados favorecieron al día nueve del ciclo para iniciar el tratamiento con FSH. En general, la respuesta superovulatoria es mayor cuando los animales reciben las gonadotropinas exógenas durante la

fase media del ciclo estral (días 8 a 12), que cuando se administran - antes o después.

Lamond (1974), postulaba que los niveles periféricos de progesterona al iniciar el tratamiento con gonadotropinas afectaba las tasas de ovulación. Sin embargo Sreenan y Gosling (1977), al comparar la estimulación ovárica con PMSG en los días 3 o 10 del ciclo estral, con o sin tratamiento de progesterona exógena, observaron que el incrementar los niveles circulantes de progesterona en los días mencionados no afectó el número de ovulaciones. Pero al analizar el efecto del día de aplicación de la PMSG, encontraron que en el día 10 hubo mayor número de CL y óvulos fertilizados. Asimismo Anderson y Bondurant (1982), al inducir superovulación con PMSG en los días 5 y 10 del ciclo estral, observaron resultados semejantes. Es decir, el tipo de población folicular presente en el ovario al tiempo del tratamiento, tiene mayor importancia en la respuesta a la superovulación que la concentración plasmática de progesterona.

9.2 Efecto de la superovulación repetida:

El tratamiento repetido con la misma gonadotropina en un individuo, causa disminución en la respuesta ovárica en conejos (Maurer et al., 1968; Reel et al., 1976), ovejas (Paulsson, 1962) y terneras (Howe et al., 1982). Existe discrepancia en los estudios sobre superovulación repetida en vacas o vaquillas.

Saumande y Chupin (1977), al administrar ocho tratamientos consecutivos con PMSG en bovinos y con intervalos de siete u ocho semanas, observaron un descenso en la respuesta ovárica de la segunda a la quin-

ta colección embrionaria. En este último período, el decremento de la respuesta fue reversible y volvió a disminuir durante la séptima superovulación. En dicho trabajo los animales con pobre respuesta después del primer tratamiento, continuaron presentándola subsecuentemente.

En otro estudio con FSH (Donaldson y Perry, 1983), se encontró que la producción de embriones declinó en vacas a las que se superovuló por dos a diez ocasiones. El hecho de aumentar la dosis de FSH en los tratamientos sucesivos no mejoró la producción de embriones. Estos investigadores mencionan que una donadora deberá superovularse dos o tres veces, antes de descartarla de un programa de superovulación por respuesta ovulatoria deficiente.

Recientemente Warfield et al. (1986), al superovular vacas y vaquillas con FSH, por más de tres ocasiones con lapsos de 50 días entre tratamientos, obtuvieron resultados acordes a los trabajos arriba mencionados. En dicha investigación se observó que un elevado porcentaje de donadoras tiene una respuesta ovárica muy baja a partir del tercer tratamiento (81% con cero o un embrión transferible).

Una de las hipótesis que tratan de explicar la disminución de la respuesta ovárica a superovulaciones repetidas, es el desarrollo de inmunidad a las gonadotropinas (Jainudeen et al., 1966). Sin embargo Dubois (citado por Saumande y Chupin, 1977), menciona que los títulos de anticuerpos a PMSG en bovinos son muy bajos. La segunda explicación es que la estimulación repetida agote la cantidad de folículos primarios y por lo tanto, el número de folículos que respondan al tratamiento sea menor,

ocasionando que el número de embriones recuperados también disminuya (Donaldson y Perry, 1983). Richards (1980), menciona que esto ocurre en el ratón y los primates.

Por el contrario, otras investigaciones sugieren que no hay reducción en la respuesta ovárica a tratamientos repetidos con la misma gonadotropina. Con ello se descarta aún más la hipótesis de formación de anticuerpos a FSH o PMSG. Christie et al.(1979), al superovular vacas con PMSG hasta 10 ocasiones con intervalos de 42 días encontraron una - disminución significativa en la respuesta ovulatoria del segundo trata - miento; sin embargo, en las estimulaciones posteriores no hubo diferen-- cia de la respuesta ovárica con respecto a la obtenida en el segundo tra^{ta} tamiento. La mayoría de las hembras respondieron con ovulaciones múlti-- ples incluso en el décimo tratamiento.

Lubbadeh et al.(1980), citan que la respuesta a la superovula-- ción repetida con la misma gonadotropina (FSH o PMSG) no disminuyó duran^{te} te cuatro tratamientos sucesivos. El período de descanso entre una y otra estimulación fue de 16 días para los tres primeros tratamientos y de 30 días para el cuarto período. De igual manera, Schlenhofer y Lodge (1983) y Moor et al.(1984), mencionan que una respuesta aceptable puede ser -- obtenida al menos durante cinco superovulaciones consecutivas y sin de-- trimento de la calidad embrionaria.

9.3 Efecto de la lactación:

Darrow et al.(1982), evaluaron la superovulación con FSH du-- rante diferentes fases de la lactancia. Las donadoras en producción fue^{ron} ron agrupadas en los siguientes períodos: 0 a 136, 137 a 270 y más de

270 días en lactancia, por otro lado se formó un grupo de vacas secas. El número de óvulos y embriones en cada grupo fue: 7.3, 4.3, 4.3 y 8.1 con 62, 75, 69 y 35% de embriones transferibles respectivamente. Al parecer no hay diferencia en la respuesta ovárica después del tratamiento con FSH entre vacas secas y con diferente estado de lactación.

9.4 Efecto de factores genéticos:

Se han observado diferencias entre razas a la superovulación. Así, la Holstein Friesian tiene una respuesta ovulatoria menor a la PMSG en comparación a razas bovinas productoras de carne, como la Charolais (Mauleon et al., 1970, citados por Newcomb, 1980; Mariana et al., 1970). Donaldson (1984a), estudió el efecto de la raza como fuente de variación en la producción de embriones en bovinos; encontrando que dicha variable fue significativa para los parámetros estudiados (número de embriones transferibles, embriones totales y porcentaje de embriones transferibles).

En una investigación reciente (Bindon y Piper, citados por Bindon et al., 1986), las vaquillas progenie de un hato seleccionado para producción de gemelos, fueron comparadas con animales no seleccionados, con respecto a su respuesta ovulatoria a FSH. Se observó que aunque ambos genotipos presentaron similar variabilidad en dicha respuesta, en los animales escogidos por prolificidad ocurrió la superovulación con solo 10 mg de FSH, mientras que el otro grupo requirió 30 mg para obtener el mismo resultado.

9.5 Efecto de la nutrición:

Estudios recientes indican que algunos compuestos que --

aumentan los niveles de propionato, como la monensina sódica, pueden mejorar el comportamiento reproductivo de la vaca. Randel y Rhodes (1980), informaron que al proporcionar monensina sódica a razón de 200 mg por cabeza al día e inyectar FSH, los animales tuvieron ovarios con mayor tamaño y más CL en comparación con aquellos que solo recibieron la FSH. Los resultados de Harrison et al. (citados por Saumande y Chupin, 1986a), concuerdan con lo anterior.

Ortuno y Carson (1985), utilizando vacas adultas con un promedio de 300 Kg, observaron que a pesar de tener más CL por vaca en el grupo que recibió monensina (200 mg/cabeza/día) (37.3 ± 14.7 vs. 7 ± 4.2), el número de embriones colectados fue similar (7 ± 4.3 vs. 8.8 ± 2.5 , para monensina y testigo respectivamente).

Por otro lado Saumande y Chupin (1986a), citan que mientras en un experimento con vaquillas, observaron un mayor número de CL en las hembras a las que suministraron monensina en la cantidad arriba señalada (13 ± 4 vs. 3.6 ± 3.3), en otro estudio con los mismos tratamientos no hubo diferencia alguna. Podríamos decir que mientras los animales estén ciclando normalmente, el hacerlas ganar peso no mejorará la producción de embriones.

9.6 Efecto de la edad:

Hasler et al. (1981), encontraron un efecto significativo de la edad sobre el número total de embriones y embriones transferibles por donadora; sin embargo ese hallazgo no pudo ser confirmado más tarde (Hasler et al., 1983). Estos últimos, observaron que a pesar de que los porcentajes de fertilización fueron más altos en vacas menores a 10 años,

el, número de embriones transferibles fue similar.

Donaldson (1984b), cita que el número y porcentaje de embriones transferibles para vacas con edades de tres a nueve años (3.6 ± 4 y 52% respectivamente), fueron mayores significativamente que para las hembras con edades de 10 a 22 años (1.7 ± 2.1 y 30%). No hubo efecto de la edad sobre la producción total de embriones (6.9 ± 6.2 y 6.9 ± 6.4 para el primero y segundo grupo de edades respectivamente).

Se observa que después de nueve años hay una disminución en la viabilidad de los óvulos, pero no en la producción de los mismos. --- Erickson et al.(1976), mencionan que en cada par de ovarios de vacas -- Hereford, entre 14 y 15 años de edad, contaron aproximadamente 24000 folículos primordiales, 250 folículos en crecimiento y 67 folículos vesiculares. Es decir, en esa etapa de vida aún hay suficientes folículos que puedan responder a estímulos con gonadotropinas.

9.7 Efecto del stress:

Edwards et al.(1983), no encontraron efecto significativo de un régimen de stress, consistente en el transporte de los animales durante el período de superovulación con FSH, sobre el número de ovulaciones en vaquillas.

Cuando se aplicaron 30 a 40 mg de dexametasona o 250 mg de succinato de hidrocortisona, durante la superovulación con PMSG o FSH, tanto el número de CL como de embriones recuperados disminuyó significativamente con respecto al grupo testigo (Bielansky, 1985; Ewy et al.,1985). Cabe mencionar que en una investigación realizada con vacas ovariectomizadas para determinar el efecto del stress sobre la liberación de LH, se

detectaron dos patrones de cortisol y LH sistémicos en las hembras estresadas: 1) grandes concentraciones de cortisol (>50 ng/ml) y pequeñas concentraciones de LH, con ausencia de liberaciones pulsátiles de LH; 2) inicialmente altos niveles de cortisol y bajas concentraciones de LH, seguido por una disminución en cortisol y aumento en LH con aparición de liberación pulsátil. Por lo tanto, los patrones hormonales de estas últimas hembras sugieren una adaptación al stress. De dos a cuatro veces el incremento en cortisol sistémico (10 a 20 ng/ml) parece no afectar la secreción de LH, mientras que el incremento en 10 a 20 veces, asociado con un stress intenso, suprime la secreción tónica de LH (Echterkamp, 1984).

Podría decirse que la influencia del stress sobre la secreción gonadotrófica y subsecuente respuesta ovárica, depende de la magnitud de la respuesta estereidogénica adrenal y el grado a que el animal se adapte a dicho stress.

9.8 Efecto de distintos lotes de FSH o PMSG:

Existe gran variación en la actividad de FSH y LH de la PMSG, no solo entre yeguas preñadas sino en la misma yegua a diferentes estadios de la gestación (González *et al.*, 1978). Cuando la actividad similar a la FSH es mayor a la de LH, en la PMSG, la respuesta ovulatoria en vacas es mayor que cuando la relación FSH-LH es baja (Humphrey *et al.*, 1979). Del mismo modo, la actividad de FSH y LH varía entre los lotes de preparaciones comerciales de FSH (Chupin *et al.*, 1984).

Murphy *et al.* (1984), mencionan que la variación en actividad de LH y FSH de la PMSG, HMG y FSH, contribuye a la variabilidad en la res

puesta superovulatoria. Sin embargo, a pesar de que la potencia de los derivados hormonales varía con los distintos lotes, la diferente respuesta a esas drogas se debe más a la variación individual de los animales que a los productos mismos (Wollen et al., 1985).

10.- OTRAS APLICACIONES DE LA SUPEROVULACION EN BOVINOS:

10.1 Superovulación en vacas infértiles:

Un gran número de vacas con infertilidad de etiología desconocida, son llevadas a las unidades de transferencia de embriones. Estos animales no presentan lesiones aparentes en el aparato reproductor a la palpación rectal y los ciclos estrales son regulares. Las hembras repetidoras de alto valor genético representan una pérdida económica significativa (Elsden et al., 1979).

Los autores arriba mencionados, compararon la respuesta superovulatoria en vacas infértiles con causa diagnosticada e infértiles sin etiología conocida y animales fértiles. Se observó que estos últimos tuvieron más CL palpables (11.3) que los infértiles con diagnóstico (6.6); hubo más embriones colectados y de mejor calidad en el grupo de donadoras fértiles que en los restantes (9.5, 3.3 y 3.0, $P < 0.01$). También detectaron que la mayoría de los animales infértiles no responden al tratamiento con gonadotropinas (PMSG o FSH) con la misma eficiencia que las hembras fértiles.

Mapletoft et al. (1980b), al superovular a 34 vacas repetidoras, utilizando para la mayoría FSH, obtuvieron embriones en el 68% de los animales. El promedio de CL y embriones recuperados fue de 10.6 y 7.1 respectivamente, de estos últimos el 45% resultaron fertilizados.

Por otro lado Hasler et al., (1983), citan que las tasas de fertilización son significativamente más altas en vacas y vaquillas fértiles que en animales infértiles.

10.2 Superovulación en terneras prepúberes:

Aún antes del nacimiento, el ovario del feto femenino contiene muchos folículos antrales, los cuales alcanzan un número máximo antes de la pubertad (Henrickson y Rajakosky, 1959 y Erickson, 1966, citados por Testart et al., 1977). Mediante tratamientos con gonadotropinas se puede inducir el crecimiento final y la ovulación de esos folículos (Avery y Graham, 1962; Howe et al., 1962; Jainudeen et al., 1966; Lineweaver y Hafez, 1970; Onuma et al., 1970; Seidel et al., 1971). La superovulación en hembras prepúberes puede tener ventajas económicas, como tener una fuente de embriones para estudios experimentales; y genéticas, desde el punto de vista de reducción del intervalo entre generaciones e inicio temprano de pruebas de progenie (Testart et al., 1977; Duane et al., 1978).

La PMSG puede estimular el crecimiento de numerosos folículos y provocar ovulación mediante la LH o HCG; sin embargo la calidad de los embriones obtenidos por dicho tratamiento no es satisfactorio (Seidel et al., 1971). La administración de un progestágeno sintético simultáneo a la estimulación con gonadotropinas provoca ovulaciones más agrupadas, aún así la calidad de los embriones es pobre (Testart, 1972, 1974, 1975, citados por Testart et al., 1977).

Duane et al. (1978), compararon la respuesta superovulatoria de terneras tratadas con PMSG o FSH en combinación con LH o sin ella. Los tratamientos fueron: 1) 1200 UI de PMSG. 2) 1200 UI de PMSG y 50 mg de

LH por vía endovenosa (IV) a las 72 h de la gonadotropina. 3) 30 mg de FSH por vía IM en dosis decrecientes durante cinco días (5, 4, 3, 2, 1 mg cada 12 h respectivamente). 4) El régimen anterior más 50 mg de LH por vía IV a las 96 h de la primera aplicación de FSH. El promedio de ovulaciones fue: 2, 11.3, 2 y 21.9 para los cuatro grupos respectivamente. Los autores concluyen que la aplicación IV de LH después del tratamiento con PMSG o FSH, incrementa el número de ovulaciones; por consiguiente los porcentajes de fertilización y colección aumentan en terneras prepúberes. El hecho de que la FSH provoque ovulación, sugiere que puede estar involucrada en el proceso de ovulación o que está contaminada con LH (Armstrong, 1972). O bien, que el tratamiento con FSH induzca maduración folicular y producción de estrógenos, con la subsecuente liberación de LH, la cual está presente en la pituitaria anterior de hembras prepúberes (Gibson, 1977).

Cabe mencionar que cuando se administra un progestágeno antes de iniciar el tratamiento con gonadotropinas a hembras prepúberes, éstas manifiestan conducta de celo (Foote y Onuma, 1970; Seidel et al., 1971). Cuando dicho pretratamiento no es utilizado, el porcentaje de calores es bajo (17%) (Duane et al., 1978).

Testart et al. (1977), determinaron los cambios de concentraciones de las hormonas esteroides y gonadotropinas después de aplicar por vía IM 1800 UI de PMSG e insertar simultáneamente en la vagina una esponja de poliuretano con 60 mg de acetato de fluorogestona por espacio de cuatro días. Los resultados de este trabajo han sido mencionados anteriormente.

11.- SUPEROVULACION EN GANADO Bos indicus:

En la mayoría de las investigaciones sobre transferencia de embriones se ha utilizado ganado de razas europeas, pero muy pocos estudios se han realizado con razas del tipo Bos indicus.

Se han observado diferencias fisiológicas entre esas dos especies. Así, Randel (1976) y Randel y Moseley (1977), detectaron que las vaquillas Brahman tuvieron niveles significativamente más bajos de LH durante el pico preovulatorio, el cual se presentó antes y el intervalo de estro a la ovulación fue menor en éstas, que en vaquillas Hereford o Brahman x Hereford. Griffen y Randel (1978b), mencionan que vacas Brahman castradas liberaron menos LH cuando se les administró 0.5 mg de GnRH, que hembras Hereford en la misma condición. Del mismo modo, las vacas Brahman castradas tuvieron menor capacidad para secretar LH cuando se les administró 17- β estradiol que las vacas Hereford (Rhodes et al., 1978). Rhodes et al. (1979), mencionan que las hembras Brahman secretaron más prolactina cuando se les administró altas cantidades de 17- β estradiol, que las razas de tipo europeo.

Con respecto a la respuesta ovárica a la superovulación, no se han comparado las especies Bos taurus y Bos indicus en un mismo diseño experimental y los estudios con ésta última son escasos para sacar conclusiones definitivas. Así, Halley et al. (1979) al administrar dosis de 36 a 48 mg de FSH en esquema de ocho fracciones constantes a intervalos de 12 h a vacas Brahman, observaron que las dosis de 40 a 45 mg de FSH produjeron resultados similares en cuanto a número de embriones colectados (8.02) y transferibles (5.7). Con la dosis menor (36 mg) se obtu-

vieron promedios de 2,8 y 2,8 para dichas variables. Asimismo Donaldson (1985), obtuvo 2.2 embriones transferibles con una dosis de 38 mg de FSH, aplicándola en 10 fracciones decrecientes a intervalos de 12 h en vacas Brahman.

Por otro lado, Elsdén y Kessler (1983), trabajando con vacas y vaquillas Nelore, compararon tres dosis totales de FSH (24, 36 y 50 mg) administradas en ocho inyecciones decrecientes con intervalo de 12 h. La tasa de fertilización más elevada, así como el número de donadoras que produjo más embriones transferibles ocurrió en el grupo de 24 mg (60.2 y 50% respectivamente). Los valores en el grupo de 50 mg fueron de 29 y 25% respectivamente. El número de embriones transferibles por donadora no fue significativo entre grupos: 1.7, 1.4, 1.4 para 24, 36 y 50 mg respectivamente. En este trabajo la dosis mínima de FSH provocó una respuesta más consistente que las dosis altas.

Cabe mencionar que Randel (1984), estudió el efecto de la estacionalidad sobre la respuesta ovulatoria de vacas Brahman. El año o mes no afectaron el número total de óvulos y embriones colectados; sin embargo, el número de embriones transferibles se vió afectado por el mes del año. La máxima colección de embriones transferibles ocurrió en los meses de abril, julio, agosto, septiembre y octubre.

Con respecto a la colección de embriones se han mencionado algunos problemas específicos en las razas cebuinas (Elsden y Kessler, 1983): a) En vaquillas el cérvix y útero son pequeños. b) El endometrio es muy frágil y se daña fácilmente, lo que ocasiona presencia de sangre en el medio colectado dificultando la localización de embriones. c) Hay tendencia a la entrada de aire en el recto durante la recuperación de

embriones, lo que dificulta la manipulación de los cuernos uterinos.

IV. MATERIAL Y METODOS:

El estudio se realizó en el C.E.P. El Macho, dependiente del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias, SARH y ubicado en el municipio de Tecuala, Nay., con situación geográfica de 22°18' latitud norte y 105°26' longitud oeste; altitud de 5 m.s.n.m. - Las condiciones climáticas son de trópico seco AWO (Tamayo, 1962), con 210 días de período seco; con temperaturas máxima, mínima y media anual de 39°C, 7.1°C y 24°C respectivamente y precipitación media anual de 827 mm³ distribuida casi en su totalidad en los meses de julio, agosto y septiembre. Los suelos son arcilloarenosos, oscuros y profundos - de origen aluvial, con pH neutro y contenido regular de materia orgánica.

Se utilizaron 60 vacas Cebú con peso (421 ± 44 Kg), condición física (8.4 ± 0.6) y edad (9.5 ± 2.1 años) similares, de las cuales 30 fueron horras y el resto con cría al pie, con períodos posparto entre 90 y 210 días.

Todos los animales recibieron un tratamiento de superovulación con FSH de origen porcino (FSH-P) de un mismo lote, previa presentación de dos ciclos estrales consecutivos de duración normal (18 a 21 días). Al iniciar el tratamiento las hembras fueron sometidas a un examen tocológico del aparato reproductivo para determinar su integridad, la presencia de un cuerpo lúteo (CL) funcional, descartar cualquier patología aparente a la palpación (cervicitis, metritis, salpingitis, quistes en ovarios) y obtener las dimensiones de los ovarios (largo, ancho y grosor) a fin de estimar el volumen ovárico multiplicando las tres medidas.

Los animales en estudio se distribuyeron con base en un diseño factorial 3X2X2 donde los factores fueron: dosis total de FSH-P, con tres niveles (18, 24 y 30 mg), día del ciclo estral en que se inició el tratamiento, con dos niveles (días 7 y 11) y estado productivo, con dos niveles (horras y con cría). De tal manera que se formaron 12 grupos con cinco unidades experimentales en cada uno.

En todos los grupos la dosis total de FSH-P fue dividida en ocho fracciones decrecientes, administrándose cada una de estas por vía intramuscular (IM) a intervalos de 12 h de la siguiente manera: dosis de 18 mg: 3,3,3,3,2,2,1 y 1 mg, dosis de 24 mg: 4,4,3,3,3,3,2 y 2 mg, dosis de 30 mg: 5,5,4,4,3,3,3 y 3 mg. A las 48,54 y 60 h de la primera aplicación de FSH-P se administraron IM 25, 12.5 y 12.5 mg de prostaglandina F₂ alfa (PG) respectivamente, en todos los grupos.

Durante el estudio, el cual tuvo una duración de 100 días (noviembre, 1985 a febrero, 1986), las vacas con cría recibieron manejo de lactancia controlada (dos horas al día) y destete temporal (24 h cada semana), a excepción del período comprendido entre la primera inyección de FSH-P y la última inseminación, en el cual la cría permaneció todo el tiempo con su madre. Cabe mencionar que en un período previo al experimental, dichas vacas recibieron tratamientos con hormonas esteroides (Cipionato de estradiol y progesterona) por vía IM en combinación con las prácticas de lactancia mencionadas, a fin de resolver el anestro lactacional. También tuvieron acceso a melaza con 2.5% de urea a razón de 2 kg por cabeza al día.

En el momento en que todas las hembras en estudio comenzaron a ciclar normalmente, las condiciones de alimentación fueron semejantes;

siendo ésta a base de pastoreo en potreros con zacate Estrella de Africa (Cynodon plectostachyus) y un suplemento con 17% P.C., a razón de 1.5 kg por cabeza al día para las lactantes y 1 kg por cabeza al día para las horras. En el cuadro 1 se muestra la composición de dicha ración.

La detección de estros se realizó dos veces al día por dos horas en cada ocasión (0600 a 0800 y 1600 a 1800 h) durante todo el estudio, excepto en los cuatro primeros días posteriores a la última inyección de PG, en los que la observación se hizo cada seis horas en todas las vacas. Ello se hizo con ayuda de seis toros con pene desviado. Las hembras que en 48 h posteriores a la PG no habían manifestado signos de calor, se examinaron por vía rectal a fin de determinar la presencia de moco y/o turgencia uterina, lo cual se consideró como indicativo de celo. Dicha palpación rectal se repitió cada 12 h hasta determinar el estro.

La inseminación artificial (IA) se realizó con semen congelado a las 0, 12 y 24 h de detectado el calor, empleando dos dosis en cada ocasión. Se utilizó semen que al descongelado presentó al menos 30% de motilidad progresiva y con una concentración mínima de 10×10^6 de espermatozoides vivos por dosis.

Los embriones se colectaron en los días 6.5 o 7.5 posteriores al celo (día cero) por método no quirúrgico, utilizando una sonda de Foley de dos vías. Antes de iniciar el lavado uterino, se estimó el número de CL y las dimensiones de ambos ovarios mediante palpación a través del recto. Los cuernos uterinos se irrigaron individualmente con un total de 1000 ml de solución salina amortiguada con fosfatos de Dulbecco (PBS) modificada y 1% de suero fetal bovino termoinactivado (a 56°C

por 30 minutos) (Cuadro 2).

Los embriones fueron colectados utilizando un filtro, simultáneamente al lavado uterino, con poros de 80 μ de diámetro. Al final, solo se dejaron 50 ml aprox. del PBS colectado en dicho recipiente y el resto en una probeta graduada de 1000 ml. Para la identificación y aislamiento de los óvulos y embriones se utilizó un microscopio estereoscópico. La evaluación de los mismos se hizo con la ayuda de un microscopio compuesto a 100 aumentos. Dicha clasificación se realizó en base a su apariencia morfológica y de acuerdo al criterio mencionado por Shea (1981), en: a) Óvulos, b) Embriones no transferibles (degenerados) y c) Embriones transferibles.

Después de la recuperación de los embriones, la detección de calores continuó hasta que las vacas tuvieron dos ciclos estrales de duración normal o cuando a la palpación de los ovarios por vía rectal no se encontraron estructuras cíclicas. Al primer celo poscolección se determinó el volumen ovárico mediante palpación rectal.

ANALISIS ESTADISTICO:

Para determinar el efecto de dosis de FSH-P, día del ciclo en que se inició el tratamiento y estado productivo, así como el de las interacciones de estos factores sobre las siguientes variables dependientes: volumen ovárico (antes del tratamiento, al momento de la colección embrionaria y al primer celo poscolección), número de CL a la colección, óvulos y embriones (transferibles, no transferibles, total) colectados y duración del ciclo estral en que se realizó la colección embrionaria, se utilizó el siguiente modelo de efectos fijos:

$$Y_{ijkl} = M + D_i + C_j + DC_{ij} + P_k + DP_{ik} + CP_{jk} + DCP_{ijk} + B(e - \bar{x}_e) + E(ijk)l$$

Donde:

$i = 1, 2, 3.$

$j = 1, 2.$

$k = 1, 2.$

$l = 1 \dots 5.$

Y_{ijkl} es la l -ésima observación dentro del k -ésimo estado productivo del j -ésimo día del ciclo estral en que se inició el tratamiento de la i -ésima dosis de FSH-P.

M es la media poblacional.

D_i es el efecto de la i -ésima dosis total de FSH-P.

C_j es el efecto del j -ésimo día del ciclo estral en que se inició el tratamiento.

DC_{ij} es el efecto de la interacción de la i -ésima dosis de FSH-P y el j -ésimo día del ciclo estral en que se inició el tratamiento.

P_k es el efecto del k -ésimo estado productivo.

DP_{ik} es el efecto de la interacción de la i -ésima dosis de FSH-P y el k -ésimo estado productivo.

CP_{jk} es el efecto de la interacción del j -ésimo día del ciclo estral en que se inició el tratamiento y el k -ésimo estado productivo.

DCP_{ijk} es el efecto de la triple interacción entre la i -ésima dosis de FSH-P, j -ésimo día del ciclo estral en que se inició el tratamiento y el k -ésimo estado productivo.

$B(e-\bar{x}_e)$ es el efecto de la edad como covariable.

$E(ijk)$ es el error aleatorio, $NID(0, \sigma^2)$.

Para determinar si el tipo de celo (manifiesto o silencioso) después del tratamiento con FSH-P y PG afectó la respuesta ovárica (número de CL a la colección, embriones transferibles, no transferibles y total de embriones, óvulos y embriones más óvulos) obtenida con las distintas dosis de FSH-P, se utilizó el siguiente modelo:

$$Y_{ijk} = M + D_i + T_j + DT_{ij} + B(e-\bar{x}_e) + E(ijk)$$

Donde:

Y_{ijk} es la k -ésima observación dentro del j -ésimo tipo de celo de la i -ésima dosis total de FSH-P.

M es la media poblacional.

D_i es el efecto de la i -ésima dosis total de FSH-P.

T_j es el efecto del j -ésimo tipo de celo.

DT_{ij} es el efecto de la interacción de la i -ésima dosis total de FSH P y el j -ésimo tipo de celo.

$B(e-\bar{x}_e)$ es el efecto de la edad como covariable.

$E(ijk)$ es el error aleatorio, $NID(0, \sigma^2)$.

El porcentaje de colección embrionaria, de fertilización y el número total de embriones transferibles, obtenidos con cada una de las dosis totales de FSH-P, se analizaron mediante la Chi-cuadrada (Steel y Torrie, 1980).

V. RESULTADOS Y DISCUSION:

Después del tratamiento con FSH-P y PG solo el 73.3% de las hembras manifestó conducta estral, el 26.6% restante se detectó en celo a la palpación rectal. Estos resultados están dentro del rango señalado por Betteridge (1977), quien menciona que entre el 66 y 80% de las vacas tratadas con gonadotropinas y PG manifiestan el calor y gran parte de las restantes ovulan silenciosamente.

Los resultados de manifestación del estro en el presente estudio son ligeramente superiores a los mencionados por Moore (1975b), quien detecto el 64% de los animales en calor y el 91% con ovulación después del tratamiento con PMSG Y PG; y similares a los mencionados por Elsdén et al. (1974), -- quienes encontraron el 75 y 100% de celos y ovulación respectivamente en animales superovulados. Cabe mencionar que en esos estudios se emplearon dosis de PG y frecuencia de aplicación de ésta, menores a las del presente trabajo. Cuando se compara esta investigación con otras en donde utilizaron dosis total de PG (50 mg) y frecuencia de aplicación similares a las de este trabajo (mañana, mediodía y tarde), durante el tratamiento con FSH, el porcentaje de estros manifiestos (73.3%) es inferior. Donaldson (1983, 1984b) observó 96.0 y 99.5% de vacas en calor respectivamente, después de dicho tratamiento. La diferencia puede deberse a que el ganado Bos indícus tiene períodos más cortos de celo y mayor incidencia de estros silenciosos con respecto al Bos taurus (Randel, 1984), lo que propicia fallas en la detección de calores. El hecho de que se hayan obtenido resultados mejores o similares en este trabajo, en comparación con otros donde se utilizó ganado de tipo europeo (Elsden et al., 1974; Moore, 1975b), pudiera de

berse a la mayor dosis de PG y frecuencia de aplicación utilizadas. Saumande (1980), menciona que el tratamiento con gonadotropinas tiene efecto luteotrópico, debido a la actividad de LH en éstas y que la PG puede ser ineficiente para causar luteólisis en algunas ocasiones. Por ello es conveniente utilizar dosis altas de PG en vacas superovuladas. Por otro lado Schramm et al. (1983), observaron que al aumentar la frecuencia en las infusiones pulsátiles de PG aunque a menor concentración, ocurrió el 100% de luteólisis en borregas. Donaldson (1983), menciona que la mayor frecuencia en inyecciones de PG aumenta la presentación de calores en vacas superovuladas.

En el cuadro 3 se presenta la distribución de estros, agrupando los manifiestos y silenciosos. Se observa que los celos se distribuyeron desde las 24 hasta las 72 h posteriores a la primera aplicación de PG, encontrándose la mayor incidencia a las 48 h (50%) y 60 h (23.3%) postratamiento. El intervalo de la aplicación de PG y el 100% de presentación de calores, fue menor al observado por Córdova et al. (1983), en vacas Cebú no superovuladas. Dichos autores detectaron el 94% de estros a las 114 h de la aplicación de PG. Esto concuerda con lo citado por Bettridge (1977), quien menciona que el período entre la aplicación de PG y el celo es menor en animales superovulados que en los no estimulados, presentándose el calor en aquellas al segundo más que al tercer día posterior a la PG. Quizá esto se deba al mayor número de folículos en maduración presentes al tiempo de la luteólisis inducida (Terwit et al., 1973). La media del intervalo entre la PG y el estro fue de 50.7 ± 9.4 h, la cual es mayor a la reportada por Looney et al. (1982),

en vaquillas cruzadas de Hereford y Angus, superovuladas con FSH. Este autor cita una media de 44 h para dicho intervalo.

Hubo un efecto significativo del día del ciclo sobre el volumen del ovario derecho, previo al tratamiento con FSH-P (cuadro 4). El volumen medio fue $2.9 \pm 0.3 \text{ cm}^3$ el día 7 y $1.8 \pm 0.3 \text{ cm}^3$ el día 11 ($P < 0.05$). Con respecto al volumen del ovario izquierdo al inicio del tratamiento, las medias fueron 1.6 ± 0.2 y $1.7 \pm 0.2 \text{ cm}^3$ para los días 7 y 11 respectivamente, sin ser diferentes significativamente.

La diferencia observada en el volumen del ovario derecho en los días señalados no puede atribuirse al CL, ya que éste es de igual tamaño o mayor en el día 11 con respecto al día 7 (Ireland, 1979). Tal diferencia podría deberse a el distinto volumen de los folículos presentes en cada uno de esos días. Sin embargo, considerando que las poblaciones foliculares de ambos ovarios son similares en un momento determinado (Mariana y Huy, 1973), resulta difícil explicar por qué solamente el ovario derecho tuvo distinto tamaño en los días señalados.

En el cuadro 5 se muestran las medias mínimo cuadráticas y error estándar (\pm E.E.) del volumen de cada ovario y volumen ovárico total, al momento de la colección embrionaria, obtenidos con las distintas dosis de FSH P. Se observa que con cada dosis, el volumen para ovario derecho e izquierdo fue similar. A pesar de que el volumen se incrementó a medida que la dosis de FSH-P aumentaba, las diferencias no fueron significativas.

Sin embargo, se observó un efecto significativo de la interacción entre el día del ciclo en que se inició el tratamiento y el estado productivo, sobre el volumen ovárico al momento de la colección em-

brionaria (cuadro 6). En el cuadro 7 se observa que cuando el tratamiento con FSH-P se inició el día 11 del ciclo en vacas horras, el volumen del ovario derecho, izquierdo y total fue: 68 ± 18.7 , 72.8 ± 18.6 y $150.8 \pm 36.4 \text{ cm}^3$ respectivamente. En vacas con cría e iniciando el tratamiento en el día mencionado, los volúmenes fueron: 29.2 ± 19 , 21.2 ± 19 y $50.4 \pm 37.2 \text{ cm}^3$ para ovario derecho, izquierdo y total respectivamente. Se aprecia que los valores de las vacas horras son superiores ($P < 0.05$) a los de las vacas con cría, entre ovarios correspondientes, al iniciar el tratamiento el día 11 del ciclo estral. Con respecto al inicio del tratamiento superovulatorio en el día 7, los volúmenes para ovario derecho, izquierdo y total no fueron diferentes estadísticamente entre vacas horras y con cría.

La diferencia de volumen ovárico al momento de la colección embrionaria entre vacas horras y con cría al iniciar la superovulación en el día 11 podría deberse al menor peso corporal de éstas últimas, ocasionado por el estado de lactancia. De hecho, se encontró una correlación significativa ($P < 0.05$) entre el peso de la vaca y el volumen del ovario izquierdo ($r = .30$), derecho ($r = .25$) y total ($r = .30$) a la colección. En algunos estudios (Randel y Rhodes, 1980; Harrison et al., 1982, citados por Saumande y Chupin, 1986a; Ortuno y Carson, 1985), se ha observado que los animales que reciben monensina sódica (y por lo tanto ganan peso) tienen ovarios con mayor tamaño y más CL después de la superovulación, que los que no reciben dicho compuesto; aunque el número de embriones recuperados sea similar en ambos grupos. Si en el presente trabajo efectivamente el peso del animal hubiese afectado la respuesta ovárica, resulta difícil explicar por qué ello ocurrió únicamen-

te al iniciar el tratamiento en el día 11 del ciclo.

La dosis total de FSH-P, el día del ciclo en que se inició el tratamiento y el estado productivo, no tuvieron -- efecto sobre la respuesta ovulatoria (cuadro 8), la cual fue estimada por conteo de estructuras lúteas mediante la palpa - ción rectal.

En el cuadro 9 se observa que las medias mínimo cua - dráticas del número total de CL para las dosis de 18,24 y 30 mg de FSH-P fueron: 6.2 ± 0.9 , 6.3 ± 0.9 y 7.1 ± 0.9 respecti - vamente, sin ser diferentes ($P > 0.05$). Cuando el tratamiento se inició en el día 7 del ciclo el promedio de CL totales fue 6 ± 0.7 y cuando se inició el día 11 fue de 7 ± 0.7 ($P > 0.05$); ello concuerda con los hallazgos de Lindsell et al. (1985). Es - tos investigadores, al comparar el inicio del tratamiento con FSH en los días 6 y 12 del ciclo tampoco encontraron diferen - cias significativas en cuanto al número de CL. Pero resulta contradictorio con lo mencionado por Lerner et al. (1986), -- quienes observaron mayor número de CL ($P < 0.05$) al iniciar el - tratamiento con FSH en los días 10 o 11 del ciclo estral en comparación con el día 7. La discrepancia de nuestros resul - tados con el estudio anterior puede deberse a la distinta ra - za de los animales en cada estudio. Podríamos inferir que en ganado Cebú las poblaciones foliculares de los días 7 y 11 - del ciclo estral son similares.

Las vacas con cría y las hembras horras tuvieron un número semejante de CL , posterior al tratamiento con FSH-P: -

6.8 \pm 0.7 y 6.3 \pm 0.7 respectivamente ($P > 0.05$). Esto está en acuerdo con las observaciones de Darrow et al. (1982), quienes no encontraron diferencia en el número de CL entre vacas lactando y secas, estimuladas con FSH; aunque sus resultados fueron de 8 y 8.7 CL en lactantes y secas respectivamente.

En el mismo cuadro se aprecia que el número de CL en ovario derecho e izquierdo fue similar en cada una de las variables independientes estudiadas. Observaciones semejantes han sido previamente mencionadas por Archbald (1978) y Saumande y Chupin (1982), quienes encontraron que el número de ovulaciones no fue diferente entre los dos ovarios después de la superovulación con FSH. Con base en lo anterior podríamos decir que en Bos indicus, así como en Bos taurus, la población folicular de ambos ovarios es muy semejante en un momento determinado.

Al igual que en ganado de tipo europeo, la respuesta superovulatoria del ganado Cebú fue muy variable, tanto dentro de tratamiento como entre estos. El rango de estructuras lúteas en esta investigación fue de 1 a 18.

El volumen total ovárico y el número total de CL al momento de la colección embrionaria, tuvieron una relación altamente significativa ($r = .63$, $P < 0.0001$). Esto indica que el volumen de los ovarios, después del tratamiento con FSH, está dado en gran parte por las estructuras lúteas presentes. Es por eso que el tamaño de los ovarios se considera

un excelente indicador de la respuesta ovárica a la superovulación (Elsden y Seidel, 1982).

En el cuadro 10 se muestran los porcentajes de colección de óvulos y embriones en relación al número total de CL para las tres dosis de FSH-P. Los porcentajes fueron: 67, 44.8 y 34.2% para 18,24 y 30 mg de FSH-P respectivamente, -- siendo el primero significativamente mayor a los restantes - ($P < 0.05$). Asimismo se observa que al aumentar el número de CL, aunque de manera no significativa, el porcentaje de colección disminuye significativamente entre la primera dosis y las restantes. Ello concuerda con las observaciones de Renard y Heyman (1979) y Ortuno y Carson (1985), en ganado de carne de tipo europeo. Una de las explicaciones de estos -- últimos autores para dicho resultado, es que la fimbria no es capaz de captar todos los óvulos y embriones debido al gran tamaño de los ovarios. Del mismo modo Becker y Pinheiro (1986), observaron que al aplicar 30 o 40 mg de FSH a - vacas Nelore, la respuesta ovulatoria fue muy grande (18.5 y 23.5 CL respectivamente), pero los porcentajes de recuperación embrionaria fueron bajos (28% para 30 mg y 38% para 40 mg). Dichos investigadores concluyen que ello se debió - a la falla en la captación de embriones y óvulos por el infundíbulo, dada la intensa reacción ovárica. Esto no puede - ser aplicado en este estudio, ya que tanto el volumen ová-- rico como el número de CL fueron similares con cada una de las dosis de FSH-P utilizadas (cuadros 5 y 9).

Una explicación más factible es que folículos luteinizados se hayan considerado como CL verdaderos, en animales que recibieron las dosis mayores (24 y 30 mg de FSH-P). Monniaux et al.(1983), han mencionado la ineficiencia de la palpación rectal para diferenciar las estructuras mencionadas. Por otro lado Chupin et al.(1984), informaron que el porcentaje de colección embrionaria disminuyó al incrementarse la dosis de LH en tratamientos con FSH a vacas Holstein. Del mismo modo, en el presente estudio al aumentar la dosis de FSH-P pudo incrementarse paralelamente la actividad de LH, ya que se ha observado gran contaminación de esta hormona en preparaciones comerciales de FSH (Lindsell et al., 1986).

El mayor porcentaje de recuperación embrionaria obtenido en este trabajo (67%) es similar a los observados por Lindsell et al.(1985), quienes citan porcentajes de 51 a 65%; y por Critser et al.(1980), que colectaron el 62.5% de óvulos y embriones. Ambos estudios se realizaron con ganado Holstein. Scanlon et al.(1968), mencionan que únicamente se recobran alrededor del 50% de óvulos y embriones en relación al número de CL, por lo que el porcentaje de esta investigación (67%) se considera bueno.

El porcentaje de colección obtenido con la dosis de 24 mg de FSH-P (44.8%) es similar al señalado para otro de los grupos de estudio de Critser et al.(1980).

Las dosis de FSH-P utilizadas, el día del ciclo en que se inició el tratamiento y el estado productivo, no tu-

vieron efecto sobre la producción de óvulos y embriones, embriones colectados, transferibles, no transferibles y óvulos, a un nivel de significancia del 5% (cuadro 11). Esto pudo deberse a la gran variación que hubo en la respuesta ovárica individual. Sin embargo, cuando se compararon las diferentes medias mínimo cuadráticas de cada una de esas variables, se observó una diferencia a una significancia del 10% entre la dosis menor y mayor de FSH-P para: total de óvulos y embriones, embriones colectados y embriones transferibles.

En el cuadro 12 se observan las medias mínimo cuadráticas (\pm E.E.) de los óvulos y embriones, así como los totales, obtenidos con las distintas dosis de FSH-P.

Los promedios del total de óvulos y embriones colectados, para las dosis de FSH-P fueron: 4.1 ± 0.6 , 2.8 ± 0.6 y 2.4 ± 0.6 para 18,24 y 30 mg respectivamente, siendo diferentes el primero y último ($P < 0.10$). Esta variable (embriones más óvulos) se correlacionó significativamente ($P < 0.0001$) con el total de CL ($r = .85$), total de embriones colectados ($r = .96$) y embriones transferibles ($r = .85$). El hecho de que el número de CL no sea estadísticamente diferente entre las dosis de FSH-P utilizadas (cuadro 9) y sin embargo, el número del total de los óvulos y embriones, de embriones colectados y de embriones transferibles, sea superior con la dosis -- de 18 mg con respecto a la de 30 mg de FSH - P, tiene dos -- posibles explicaciones: 1) Como se señaló anteriormente, -- quizá hubo mayor número de folículos luteinizados con la

mayor. Una dosis de FSH-P que resulte excesiva para un individuo, produce crecimiento de un gran número de folículos, ocasionando limitaciones físicas intraováricas (menor irrigación individual a folículos) o bien, alteraciones en el mecanismo endocrino (excesiva producción de esteroides ováricos), interfiriendo así con un desarrollo folicular apropiado o con la ovulación. De este modo la mayoría de los folículos estimulados se luteinizarán o sufrirán atresia (Lerner et al., 1986). 2) Que la descarga preovulatoria de LH y FSH pudiera ser inefectiva a nivel ovárico en animales tratados con 30 mg de FSH-P, como ha sido sugerido por Saumande y Chupin (1986b). Es decir, después de inyecciones masivas de hormonas gonadotrópicas, un estímulo posterior no tiene efecto debido al fenómeno de desensibilización (Catt et al., 1979). Ello pudiera suceder a nivel de receptores foliculares a LH, ocasionando que los procesos que conducen a la ovulación no se inicien (Saumande y Chupin, 1986b).

El promedio de embriones colectados fue de: 3.7 ± 0.6 , 2.5 ± 0.6 y 2.2 ± 0.6 para 18, 24 y 30 mg de FSH-P respectivamente, siendo diferentes el primero y último ($P < 0.10$). Se encontró una correlación altamente significativa entre esta variable y el total de CL ($r = .51$, $P < 0.0001$), lo cual coincide con lo mencionado por Donaldson (1984) al respecto. La diferencia en embriones colectados entre las dosis de -

18 y 30 mg de FSH-P puede deberse a un mayor número de folículos luteinizados como se mencionó anteriormente. Se ha observado que para ganado de tipo europeo existe un rango de dosis óptima de FSH(30 a 40 mg) y - que al sobrepasar este rango, el número de ovulaciones no aumenta y la cantidad de embriones colectados disminuye (Pawlyshyn et al., 1986). Pa- ra ganado Cebú, dicho rango debe ser menor, aunque con los datos presen- tes no pueden establecerse las dosis de los límites inferior y superior. La mejor respuesta con 18 mg de FSH-P sugiere que en las razas cebuinas la población folicular capaz de responder a un estímulo superovulatorio sea más sensible a la FSH, por lo que dosis menores provocan mejor res- puesta ovárica. Esto ha sido observado en algunas razas ovinas con bue- na respuesta superovulatoria (Bindon et al., 1986). Asimismo Elsdén y Kessler (1983), al comparar tres dosis de FSH (24,36 y 50 mg) en ganado Nelore, obtuvieron una proporción significativamente mayor de donadoras con embriones transferibles, con la dosis menor que con la mayor.

En cuanto a los embriones transferibles, en el cuadro 12 se observa que con las dosis de 18,24 y 30 mg de FSH-P se obtuvieron: -- 2.9 ± 0.5 , 2.1 ± 0.5 y 1.5 ± 0.5 respectivamente, siendo diferentes el primero y último ($P < 0.10$). Cabe mencionar que cuando se comparó el nú- mero total de embriones transferibles obtenidos con cada dosis (58 pa- ra 18 mg, 42 para 24 mg y 30 para 30 mg) mediante la Chi-cuadrada, -- los valores máximo y mínimo fueron diferentes a una significancia del 5%. Esta diferencia puede explicarse con base en las elevadas correla- ciones entre el número de óvulos más embriones y número de embriones -- transferibles ($r = .85$) y el total de embriones recobrados y número de - embriones transferibles ($r = .90$, $P < 0.0001$). Donaldson (1984b), también

encontró una correlación significativa aunque menor ($r=.64$, $P<0.0001$), entre las dos últimas variables. Ello significa que la proporción de embriones transferibles es similar tanto en una colección numerosa como en otra con pocos embriones. Así, al recuperar más óvulos y embriones o tener más embriones totales con 18 mg de FSH-P en comparación con 30 mg, el número de embriones transferibles será mayor con aquella dosis de FSH-P que con la última. Como se ha señalado anteriormente, la mayor actividad de LH con la dosis de 30 mg pudo haber provocado mayor grado de luteinización de folículos. O bien, incrementar la producción de progesterona en folículos preantrales (Terranova y Garza, 1983, citados por Donaldson *et al.*, 1986), interfiriendo así con la ovulación. Estos últimos investigadores también postulan que excluyendo la LH de las preparaciones de FSH para superovulación en bovinos, se incrementaría la producción de embriones transferibles.

Los mejores resultados en cuanto a embriones recuperados y transferibles de este trabajo (3.7 ± 0.6 y 2.9 ± 0.5 respectivamente), son similares a los observados por García *et al.* (1982), en vaquillas cruzadas y tratadas con 28 mg de FSH. Ellos recobraron 2.7 embriones por animal, de los cuales 2.2 fueron transferibles. Sin embargo en la mayoría de los estudios realizados con ganado de tipo europeo se obtienen resultados superiores a los del presente estudio. Así, Critser *et al.* (1980), colectaron un promedio de 6.4 ± 0.9 embriones en vaquillas Holstein. Donaldson (1983), recobró 10.1 ± 8.8 embriones, con una media de 5.4 ± 6.1 de transferibles. Lindsell (1985), menciona 13.3 y 7.2 de embriones colectados y transferibles respectivamente en ganado Holstein. En otro estudio con ganado especializado para la producción de carne

se obtuvieron promedios de 15.4 embriones colectados y 6.4 de transferibles (Pawlyshyng et al., 1986). La información al respecto en ganado Cebú es escasa. En la presente investigación, la respuesta obtenida con 24 mg de FSH-P, en cuanto a embriones transferibles (2.1 ± 0.5) es similar a la citada por Elsdon y Kessler (1983) en animales de la raza Nelore con la misma dosis (1.7 embriones transferibles). En estudios realizados con ganado Brahman, el promedio de embriones transferibles es semejante al de este estudio, aunque las dosis de FSH en aquellos trabajos han sido mayores (36 a 38 mg) (Donaldson 1984a, 1985). Este autor obtuvo 3.4 ± 4.4 y 2.2 ± 0.7 embriones transferibles en ese ganado. El hecho de que esa raza responda de manera semejante con dosis más elevadas, pudiera deberse a la proporción de sangre europea en su genotipo. Incluso, Halley et al. (1979), mencionan que las vacas Brahman responden mejor a dosis aun mayores de FSH (42 a 44 mg).

La discrepancia observada entre los trabajos con animales de tipo europeo y el ganado de este estudio pudiera deberse, además de la diferencia entre razas, a la selección de que han sido objeto los primeros en los distintos centros comerciales de transferencia de embriones, para tales características. Las hembras de este estudio se escogieron al azar de un hato de ganado Cebú manejado bajo condiciones de campo. Bindon et al. (1986), mencionan que el ganado seleccionado por prolificidad es más sensible al efecto estimulador de las gonadotropinas que el no seleccionado.

Cabe mencionar que la diferente respuesta lograda con 18 y 30 mg de FSH-P en cuanto a total de embriones y óvulos, embriones colectados y embriones transferibles, fue observada independientemente del tipo

de celo postratamiento (manifiesto o silencioso)(gráficas 1,2 y 3). Es decir, no hubo efecto de la interacción entre tipo de celo y dosis de FSH-P sobre las variables señaladas. Sin embargo, se observó que - aquellas vacas que manifestaron calor tuvieron significativamente ($P < 0.05$) mayor número de CL y por lo tanto más embriones colectados, - embriones transferibles y total de óvulos y embriones, que las que no lo expresaron (cuadro 13).

Con respecto al porcentaje de fertilización, para la dosis de 18 mg fue de 91.4%, para 24 mg de 89.3% y para 30 mg de FSH-P de 90.2%. Estos resultados sugieren que el tratamiento superovulatorio con las do- sis de FSH-P utilizadas, en ganado Cebú no tiene efecto detrimental sobre la fertilización. Por otro lado, Wiley et al.(1982), desechan la hi- pótesis de que las fallas en la fertilización en vacas superovuladas se deban a un deficiente transporte espermático en los oviductos, ocasionado por el tratamiento.

Los porcentajes de fertilización señalados , son superiores a los mencionados por Elsdén y Kessler (1982) en hembras Nelore. Dichos autores obtuvieron porcentajes de 50,29 y 25% para 24,36 y 50 mg de FSH respectivamente, siendo diferentes entre sí ($P < 0.05$). Sin embargo, es- tos autores sirvieron a las hembras tratadas a las 12 y 24 h de detecta- do el celo, mientras que en la presente investigación la IA se realizó a las 0, 12 y 24 h después de iniciado el estro. Esto, aunado al hecho de que la detección de calores se hizo cada seis horas después de termi- nado el tratamiento con FSH-P, pudo haber contribuido a obtener mejores porcentajes de fertilización. West et al.(1984), no detectaron ninguna mejoría sobre los porcentajes de fertilización al inseminar a las 0,12

y 24 h después de la manifestación del celo en comparación con el servicio a las 12 y 24 h en animales tratados con FSH. Cabe aclarar que -- ellos trabajaron con ganado europeo, el cual tiene una duración del estro mayor a la del Bos indicus (Randel, 1984). Por otro lado, Jiménez (1986), observó que el intervalo entre el inicio del celo y el pico de LH es menor en vacas Indobrasil que en hembras Pardo Suizo en un calor natural.

Aunque en este estudio no se compararon distintos períodos de IA, lo citado anteriormente y los altos porcentajes de fertilización obtenidos, indican que quizá en vacas Cebú superovuladas sea conveniente realizar el servicio a las 0, 12 y 24 h de la detección del estro.

En el cuadro 14 se muestran los porcentajes de los animales que produjeron al menos un embrión transferible, así como de aquellos en que se colectaron óvulos y/o embriones, con las tres dosis de FSH-P. La gran variación individual es el común denominador en los tratamientos - superovulatorios (Elsaesser et al., 1981; Monniaux et al., 1983) y este estudio no fue la excepción. Sin embargo, los resultados observados indican que con la dosis menor (18 mg) hubo una respuesta ovárica más uniforme. Al respecto, Henricks et al. (1973), mencionan que con dosis menores de PMSG, hubo menos variación en el número de ovulaciones que con dosis mayores de esa gonadotropina.

Aunque los valores no fueron significativos, se aprecia que con 18 mg hubo más vacas que produjeron embriones transferibles en comparación con las dosis restantes. Asimismo no fue posible recuperar embriones ni óvulos en 20 y 30% de las hembras tratadas con 30 y 24 mg de FSH-P respectivamente. Saumande y Chupin (1986b), mencionan que la hi--

pótesis más simple para explicar la ausencia de óvulos y/o embriones a la colección en animales con ovarios fuertemente estimulados, es la ausencia del pico preovulatorio de LH; lo cual podría deberse a elevadas concentraciones de progesterona durante el estro (Thibier y Saumande, 1975). Dicha hipótesis podría no ser aplicada en este estudio con ganado Cebú, debido a que de los animales que no se colectó nada, solo uno tuvo folículos grandes y seis CL al momento de la recuperación embrionaria. El resto presentó solamente un CL, así como un volumen ovárico similar al período previo al tratamiento. De hecho la ausencia de respuesta ovárica a la superovulación es parte importante de la gran variación individual al tratamiento.

El período productivo tuvo efecto sobre la duración del ciclo estral en el cual tuvo lugar la recuperación de embriones (cuadro 15). Siendo más largo significativamente ($P < 0.05$) en vacas horras que en hembras con cría; en las primeras el ciclo estral duró 23.4 ± 0.7 días, mientras que en las vacas con cría la duración fue de 20.3 ± 0.7 días. Este último período es menor al citado por Lauria et al. (1982b), para vacas Holstein en lactación superovuladas con HMG, quienes mencionan una duración de 26.4 ± 3.4 días para dicho ciclo. Con respecto a las vacas horras, el largo del ciclo fue similar al observado por Jones et al. (1986), en vaquillas Holstein estimuladas con FSH (22.9 días) pero menor al mencionado por Critser et al. (1980), para vacas Holstein y superovuladas con PMSG (30.1 días). Solti et al. (1978), citan que la mayoría de animales tratados con PMSG tuvieron valores de progesterona menores a 1 ng/ml entre los 17 y 24 días después del celo postratamiento.

Los resultados obtenidos sugieren que en ganado Cebú no es necesario aplicar prostaglandinas después de la colección embrionaria para que las hembras retornen al estro. Al respecto, Jones et al. (1986), no encontraron diferencia en cuanto a retorno al estro después de la superovulación, en vacas tratadas con 0.5 mg de cloprostenol al momento de la colección embrionaria y testigo (18.2 vs. 22.9 días respectivamente).

Cabe agregar que para calcular el promedio de la duración del ciclo estral postratamiento en vacas horras, se excluyeron dos animales, debido a que presentaron quistes ováricos después del calor esperado. Uno de ellos tuvo 12 CL y un embrión no transferible después del tratamiento con 24 mg de FSH-P. El otro, tratado con 18 mg, tuvo tres CL y se colectaron dos embriones transferibles.

En el segundo ciclo estral después de la superovulación, el 8.6% de las 58 hembras que presentaron un primer estro verdadero, se detectó con ovarios estáticos a la palpación rectal; lo cual no representa un problema serio de anestro después del tratamiento con FSH.

Las distintas dosis de FSH-P, el día del ciclo en que se inició el tratamiento y el período productivo, no tuvieron efecto significativo sobre el volumen ovárico total durante el primer celo postratamiento (cuadro 15). Sin embargo, la interacción entre el estado productivo y la dosis

total de FSH-P sí afectó dicha variable. En la gráfica 4 se observa que las vacas con cría que recibieron 18 mg tuvieron un volumen ovárico total (1.9 cm^3) menor al de las hembras con cría y tratadas con 30 mg (4.9 cm^3) y al de las vacas horras superovuladas con 18 mg de FSH-P (5.1 cm^3).

CUADRO 1

COMPOSICION DE LA RACION UTILIZADA COMO SUPLEMENTO
DURANTE EL ESTUDIO (17% P.C.).

Sorgo	750 g.
Harinolina	200 g.
Urea	20 g.
Roca fosfórica	20 g.
Sal	5 g.
Minerales	5 g.
TOTAL	1000 g.

CUADRO 2

COMPOSICION DE 10 L DE SOLUCION SALINA MODIFICADA Y AMORTIGUADA
CON FOSFATOS DE DULBEECO (Elsden y Seidel, 1982)

<u>Solución A</u>	
CaCl ₂ 2H ₂ O	1.32 g.
MgSO ₄ 7H ₂ O	1.21 g.
<u>Solución B</u>	
NaCl	80.0 g.
KCL	2.0 g.
Na ₂ HPO ₄	11.5 g.
Glucosa	10.0 g.
Sulfato de estreptomina	0.5 g.
Piruvato de sodio	0.36 g.
Penicilina G sódica	1000 000 UI

Para la solución A se necesitan dos litros de agua deionizada y para la solución B ocho litros del mismo líquido. Al momento de utilizarse, la solución A se añade a la B y se homogeniza; al mismo tiempo se agrega el suero fetal bovino termo-inactivado.

CUADRO 3

DISTRIBUCION DE CALORES EN LAS PRIMERAS 72 H
POSTERIORES A LA APLICACION DE PG.

Horas	24	34	40	42	48	56	60	72
% Acumulativo	1.6	3.3	16.6	18	68	69.6	92.9	100
% Parcial	1.6	1.6	13.3	1.6	50	1.6	23.3	6.6

CUADRO 4

ANALISIS DE VARIANZA PARA EL VOLUMEN OVARICO DERECHO AL
INICIO DEL TRATAMIENTO CON FSH-P.

<u>ORIGEN DE LA VARIACION</u>	<u>g.l.</u>	<u>CUADRADO MEDIO</u>
Dosis (D)	2	0.590
Día del ciclo (C)	1	16.601*
D x C	2	0.917
Estado productivo (P)	1	4.520
D x P	2	6.782
C x P	1	6.051
D x C x P	2	9.580*
Edad	1	8.010
Error	47	2.540
R^2		.3546

* ($P < 0.05$)

CUADRO 5

MEDIAS MINIMO CUADRATICAS (+E.E.) DEL VOLUMEN DE OVARIO DERECHO (OD),
 OVARIO IZQUIERDO (OI) Y TOTAL (T) AL MOMENTO DE LA COLECCION
 EMBRIONARIA CON LAS DISTINTAS DOSIS DE FSH-P.

DOSIS DE FSH-P (mg) ¹⁾	VOLUMEN OVARICO (cm ³)		
	OD	OI	T
18	27.9±16.1	27.3±15.9	55.3±31.2
24	57.9±16.4	50.9±16.2	108.9±31.8
30	64.9±16.1	56.4±16.0	121.2±31.4

¹⁾No hubo diferencia significativa.

CUADRO 6

ANALISIS DE VARIANZA PARA EL VOLUMEN DE OVARIO DERECHO (OD), OVARIO IZQUIERDO (OI),
Y TOTAL (T) AL MOMENTO DE LA COLECCION EMBRIONARIA.

ORIGEN DE LA VARIACION	g.l.	CUADRADOS MEDIOS		
		OD	OI	T
Dosis (D)	2	7310.6	4530.2	23350.7
Dfa del Ciclo (C)	1	662.6	263.6	1762.1
D x C	2	340.6	3464.6	5622.6
Estado productivo (P)	1	3528.5	2428.6	11811.7
D x P	2	7766.9	5128.3	23936.5
C x P	1	15683.1 ^a	21591.7 ^a	74078.5*
D x C x P	2	3992.0	2752.2	12816.4
Edad	1	611.6	1316.8	3723.3
Error	46	5032.6	4965.5	19075.47
R ²		.2051	.2063	.2053

* (P < 0.05).

^a (P < 0.10).

CUADRO 7

MEDIAS MINIMO CUADRATICAS (+E.E.) DEL VOLUMEN OVARICO AL MOMENTO
DE LA COLECCION EMBRIONARIA PARA LA INTERACCION ENTRE
EL DIA DEL CICLO Y EL ESTADO PRODUCTIVO.

Dia del Ciclo	N	VACAS HORRAS			VACAS CON CRIA		
		OD	OI	T	OD	OI	T
7	30	38.5±18.4	30.2±18.2	68.8±35.7	55.1±18.7	55.3±18.6	110.3±36.4
11	30	68.0±18.7 ^a	72.8±18.6 ^c	150.8±36.4 ^e	29.2±19.1 ^b	21.2±19.0 ^d	50.4±37.2 ^f

OD, Volumen de ovario derecho (cm³).
OI, Volumen de ovario izquierdo (cm³).
T, Volumen total de ambos ovarios (cm³).
a,b Valores distintos entre sí (P < 0.05).
c,d, Valores distintos entre sí (P < 0.05).
e,f Valores distintos entre sí (P < 0.05).

CUADRO 8
 ANALISIS DE VARIANZA PARA EL NUMERO DE CL EN EL OVARIO DERECHO (OD),
 OVARIO IZQUIERDO (OI) Y TOTAL (T) AL MOMENTO DE LA
 COLECCION EMBRIONARIA.

ORIGEN DE LA VARIACION	g.l.	CUADRADOS MEDIOS		
		OD	OI	T
Dosis (D)	2	2.3	1.52	4.35
Día del ciclo (C)	1	2.5	6.37	16.84
D x C	2	0.19	2.35	2.13
Estado Productivo (P)	1	1.98	0.46	4.35
D x P	2	1.48	4.99	9.40
C x P	1	7.21	15.61	44.04
D x C x P	2	6.33	13.06	33.71
Edad	1	8.26	33.34*	74.79
Error	47	5.32	5.04	15.99
R^2		.1428	.2937	.2430

* $P < 0.05$

CUADRO 9

MEDIAS MINIMO CUADRATICAS (+E.E.) DEL NUMERO DE CL PARA DOSIS DE FSH-P,
DIA DEL CICLO Y PERIODO PRODUCTIVO.

<u>DOSIS DE FSH-P (mg) ¹⁾</u>	<u>OVARIO DERECHO</u>	<u>OVARIO IZQUIERDO</u>	<u>TOTAL</u>
18 (n=20)	3.0±0.52	3.2±0.51	6.2±0.90
24 (n=20)	3.5±0.52	2.9±0.51	6.3±0.90
30 (n=20)	3.7±0.53	3.4±0.51	7.1±0.91
<u>DIA DEL CICLO ¹⁾</u>			
7 (n=30)	3.2±0.42	2.8±0.41	6.0±0.73
11 (n=30)	3.6±0.42	3.5±0.41	7.0±0.73
<u>PERIODO PRODUCTIVO ¹⁾</u>			
Horra (n=30)	3.2±0.43	3.1±0.42	6.3±0.74
Lactante (n=30)	3.6±0.43	3.2±0.42	6.8±0.74

¹⁾No hubo diferencias significativas.

CUADRO 10

PORCENTAJE DE COLECCION DE OVULOS Y EMBRIONES CON LAS
DISTINTAS DOSIS DE FSH-P.

<u>DOSIS DE FSH-P (mg)</u>	<u>N</u>	<u>TOTAL DE CL.</u>	<u>TOTAL DE OVULOS Y EMBRIONES</u>	<u>COLECCION EN RELACION AL TOTAL DE CL. %</u>
18	20	118	79	66.95 ^a
24	20	125	56	44.8 ^b
30	20	149	51	34.23 ^b

a,b Distintas literales indican valores diferentes ($P < 0.05$).

CUADRO 11

ANALISIS DE VARIANZA PARA EL NUMERO TOTAL DE OVULOS Y EMBRIONES RECUPERADOS (O+E),
 EMBRIONES COLECTADOS (EC), EMBRIONES TRANSFERIBLES (ET),
 EMBRIONES NO TRANSFERIBLES (ENT) Y OVULOS (OV).

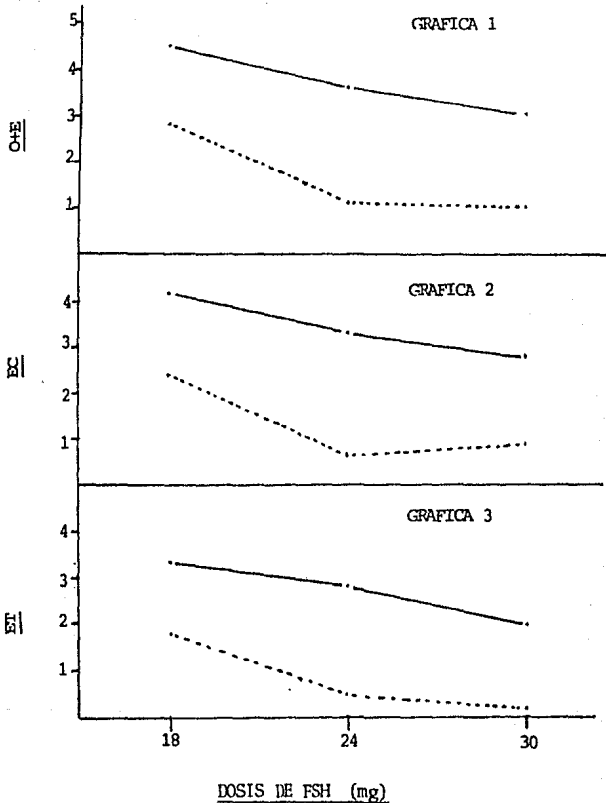
ORIGEN DE LA VARIACION	G.L.	CUADRADOS			MEDIOS	
		O+E	EC	ET	ENT	OV
Dosis (D)	2	14.48	11.81	9.49	0.772	0.161
Día del Ciclo	1	4.17	4.54	1.68	0.696	0.008
D x C	2	8.53	7.03	1.87	1.779	0.832
Estado Productivo (P)	1	0.04	0.01	1.10	1.256	0.076
D x P	2	0.27	1.10	4.42	1.971	0.361
C x P	1	0.37	1.29	0.27	0.3826	0.277
D x C x P	2	6.48	5.80	5.92	0.197	0.280
Edad	1	18.10	9.92	0.02	9.070	1.221
Error	47	7.15	7.08	5.25	1.066	0.458
R ²		.1606	.1442	.1615	.3115	.1586

CUADRO 12

MEDIAS MINIMO CUADRATICAS (\pm E.E.) DE OVULOS Y EMBRIONES (O+E), EMBRIONES COLECTADOS (EC), EMBRIONES TRANSFERIBLES (ET), EMBRIONES NO TRANSFERIBLES (ENT) Y OVULOS (OV) OBTENIDOS CON CADA UNA DE LAS DOSIS DE FSH-P.

DOSIS DE FSH-P (mg)	N	O+E	EC	ET	ENT	OV
18	20	4.1 \pm 0.6 ^a	3.7 \pm 0.6 ^a	2.9 \pm 0.5 ^a	0.8 \pm 0.2 ^a	0.4 \pm 0.2 ^a
24	20	2.8 \pm 0.6 ^{ab}	2.5 \pm 0.6 ^{ab}	2.1 \pm 0.5 ^{ab}	0.4 \pm 0.2 ^a	0.3 \pm 0.2 ^a
30	20	2.4 \pm 0.6 ^b	2.2 \pm 0.6 ^b	1.5 \pm 0.5 ^b	0.7 \pm 0.2 ^a	0.2 \pm 0.2 ^a

a,b Valores con distinta literal en la misma columna son diferentes (P < 0.10).



TOTAL DE OVULOS Y EMBRIONES (O+E) GRAFICA 1), EMBRIONES COLECTADOS - (EC) (GRAFICA 2) Y EMBRIONES TRANSFERIBLES (ET) (GRAFICA 3) EN VACAS CON DISTINTAS DOSIS DE FSH-P Y CON DIFERENTE CONDUCTA ESTRAL: CELO - MANIFIESTO (—) O CELO SILENCIOSO (---).

CUADRO 13

RESPUESTA OVARICA DE VACAS CON DISTINTA CONDUCTA ESTRAL
(MANIFIESTO O SILENCIOSO) DESPUES DEL TRATAMIENTO
CON FSH-P Y PG.

TIPO DE CELO	N	TOTAL DE CL.	E M B R I O N E S			OVULOS	EMBRIONES + OVULOS
			TRANSFERIBLES	NO TRANSFERIBLES	TOTAL		
Manifiesto	44	7.7±0.5 ^a	2.7±0.3 ^a	0.7±0.2 ^a	3.4±0.4 ^a	0.3±0.1 ^a	3.7±0.4 ^a
Silencioso	16	3.7±0.9 ^b	0.8±0.5 ^b	0.5±0.3 ^a	1.3±0.6 ^b	0.3±0.2 ^a	1.6±0.6 ^b

a,b Distinta literal en la misma columna indican diferencias ($P < 0.05$).

CUADRO 14

PORCENTAJE DE ANIMALES EN LOS QUE SE COLECTARON EMBRIONES
TRANSFERIBLES (ET), OVULOS (OV) Y/O EMBRIONES (E)
CON LAS DISTINTAS DOSIS DE FSH-P.

DOSIS DE FSH-P (mg)	N	ANIMALES CON ET	ANIMALES CON OV Y/O E
18	20	17(85%) ^a	20 (100.0%) ^a
24	20	13(65%) ^a	14 (70%) ^b
30	20	12(60%) ^a	16 (80%) ^b

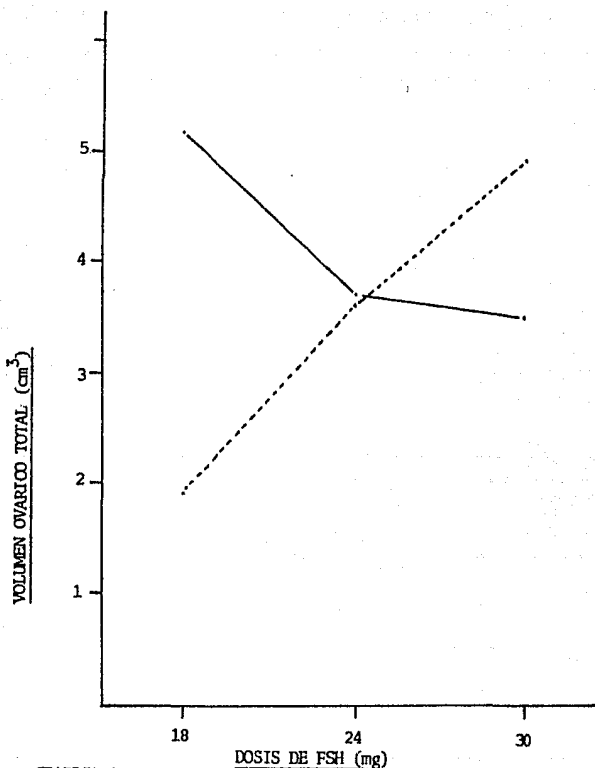
a,b Valores con distinta literal en la misma columna son
diferentes ($P < 0.05$).

CUADRO 15
ANALISIS DE VARIANZA PARA LA DURACION DEL CICLO ESTRAL EN QUE SE HIZO
LA COLECCION DE EMBRIONES (CECE) Y EL VOLUMEN OVARICO TOTAL
AL PRIMER CELO POSTCOLECCION (VOTP).

ORIGEN DE LA VARIACION	g.l.	CUADRADOS MEDIOS	
		CECE	VOTP
Dosis (D)	2	21.63	2.19
Día del ciclo (C)	1	4.65	0.04
D x C	2	18.79	4.16
Estado Productivo (P)	1	130.65*	5.91
D x P	2	30.72	21.21*
C x P	1	6.78	8.14
D x C x P	2	1.68	1.42
Edad	1	4.306	6.62
Error		(45) 14.60	(47) 6.49
R ²		.2922	.2365

* (P < 0.05)

Valores entre paréntesis indican g.l.



GRAFICA 4.- VOLUMEN OVÁRICO TOTAL AL PRIMER CELO POSCOLECCION EN VACAS HORRAS (—) Y CON CRIA (---) SUPEROVULADAS CON DISTINTAS DOSIS DE FSH-P.

VI. CONCLUSIONES:

- 1.- Después del tratamiento con FSH-P y PG ocurrió el 100% de presentación de estros. De los cuales, el 73.3% fueron manifiestos y el resto se detectó por palpación de los órganos genitales. El hecho de que haya habido vacas que presentaron celo a las 24 y 34 h después de la PG, indica la necesidad de iniciar la detección de calores en dicho período a hembras superovuladas. Asimismo, la observación de estros debe hacerse a intervalos menores de los que se utilizan normalmente.
- 2.- No hubo efecto de dosis de FSH-P, día del ciclo en que se inició el tratamiento y estado productivo sobre el volumen ovárico al momento de la colección embrionaria, ni sobre el número de CL. Del mismo modo, la respuesta ovulatoria fue similar en ambos ovarios.
- 3.- El porcentaje de colección de óvulos y embriones fue mayor ($P < 0.05$) con la dosis de 18 mg de FSH-P, en comparación con las restantes.
- 4.- El promedio de óvulos más embriones, total de embriones y embriones transferibles, fue mayor ($P < 0.10$) en los animales tratados con 18 mg que en los que recibieron 30 mg de FSH-P. La respuesta ovárica, en cuanto a óvulos y embriones recuperados, fue más uniforme y con menor variación en las vacas superovuladas con 18 mg de FSH-P, que en las tratadas con las dosis restantes. El día en

que se inició el tratamiento superovulatorio y el estado productivo no afectaron a las variables antes mencionadas.

- 5.- La duración del ciclo estral posterior al tratamiento con FSH-P y PG fue significativamente mayor en las vacas horras que en las hembras con crfa. Dicho periodo, parecido al de un ciclo normal, sugiere que no hay necesidad de aplicar PG después de la colección embrionaria para que las hembras retornen al estro. Aunque quizá se requerirá para evitar la gestación de alguna donadora en caso de que un embrión se quedara en el útero y no se utilizara infusión de antibióticos después de la colección, la cual tiene efecto embriotóxico.

VII. LITERATURA CITADA

Akbar, A.M., R.M. Nett and G.D. Niswender. 1974. Metabolic clearance and secretion rates of gonadotropins at different stages of the estrus cycle in ewes. *Endocrinology* 94:1318-1324.

Alcivar, A.A., R.R. Maurer and L.L. Anderson. 1983. Superovulatory responses in FSH or Pergonal-treated heifers. *Theriogenology* 19:109.

Anderson G.B. and R.H. Bondurant. 1982. Multiple ovulation resulting from low level administration of PMSG to cattle at different stages of the oestrous cycle. *An. Reprod. Sci.* 5: 85-91.

Anderson L.L. and Parker, R.O. 1976. Calves produced by surgical transfer of embryos. *J. Anim. Sci.* 42:1359.

Archbald, L.E. 1978. Ovarian response in the cow to pregnant mare's serum gonadotrophin and prostaglandin $F_{2\alpha}$. *Theriogenology* 19:85.

Armstrong, D.T. 1972. Reproduction. *Ann. Rev. Physiol.* 32:439.

Avery, T.D. and E.F. Graham. 1962. Investigations associated with the transplantation of bovine ova. III. Recovery and fertilization. *J. Reprod. Fert.* 3: 218.

Becker, W.A.P., L.E.L. Pinheiro. 1986. Ovarian response to superovulation in Nelore cows (Bos taurus indicus L.). Theriogenology 25: 785-793.

Betteridge, K.J. 1977. Embryo transfer in farm animals. A review of techniques and applications. Canada Department of Agriculture, Monograph 16. p. 6.

Bielansky, A. 1985. Ovarian response and cortisol and progesterone blood levels in superovulated heifers treated with dexamethasone. Theriogenology 23:178.

Bindon, B.M. 1984. Reproductive biology of the Boorola Merino sheep. Aust. J. Biol. Sci. 37: 163-89.

Bindon B.M. and L.R. Piper. 1977. Induction of ovulation in sheep and cattle by injections of PMSG and ovine anti-PMSG Immune Serum. Theriogenology 8:171.

Bindon, B.M., and L.R. Piper. 1982. Physiological bases of the ovarian response to PMSG in sheep and cattle. In Proceedings of a workshop on the Boorola Merino. Eds. I.R. Piper and B.M. Bindon, CSIRO. Publications, Melbourne.

Bindon, B.M., L.R. Piper, L.P. Cahill, M.A. Driancourt and T. O'Shea. 1986. Genetic and hormonal factors affecting superovulation. Theriogenology 25: 53-70.

Booth, W.D., R. Newcomb, H. Srange, L.E.A. Rowson and H.B. Sacher. 1975. Plasma oestrogen and progesterone in relation to superovulation and egg recovery in the cow. Vet. Rec. 8: 366-369.

Bolt, D.J. 1979. Reduction by Human Chorionic gonadotrophin of the luteolytic effect of prostaglandin $F_{2\alpha}$ in ewes. Prostaglandins 18: 387-396.

Brow, R.H. and Tsafriri. 1980. Effect of PMSG on follicular atresia in the immature rat ovary. J. Reprod. Fert. 59:267-272.

Cahill, L.P., J.C. Mariana and P. Mauleon. 1979. Total follicular populations in ewes of high and low ovulation rates. J. Reprod. Fert. 55:27-36.

Callesen, H., T. Greve and P. Hyttel, 1986. Preovulatory endocrinology and oocyte maturation in superovulated cattle. Theriogenology 25:71-86.

Catt, K.J., J.P. Harwood, G. Aguilera, M.L. Dufan. 1979. Hormonal regulation of peptide receptors and target cell responses. Nature 280: 109-116.

Chiras, D.D. and G.S. Greenwald. 1978. Ovarian follicular development in cyclic hamsters treated with a superovulatory dose of pregnant mare's serum. Biol. Reprod. 19:895-901.

Christie, W.B., R. Newcomb and L.E.A. Rowson. 1979. Ovulation rate and egg recovery in cattle-treated repeatedly with pregnant mare serum gonadotrophin and prostaglandin. Vet. Record. 19:281-283.

Chupin, D., Y. Combarous and R. Procureur. 1984. Antagonistic effect of L.H. on FSH induced superovulation in cattle. Theriogenology 21:229.

Chupin, D., Y. Combarnuos and R. Procureur. 1985. Different effect of LH on FSH-induced superovulation in two breeds of cattle. *Theriogenology* 23:184.

Chupin, D. and R. Procureur. 1983a. Prediction of bovine ovarian response to PMSG by ultrasonic echography. *Theriogenology* 19:119.

Chupin, D. and R. Procureur. 1983b. Efficiency of pituitary extracts (FSH) for induction of superovulation in cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 6:11-23.

Córdova, S.L.A., J.J. Hernández L. y R. Rufz D. 1983. Luteólisis inducida por prostaglandinas en ganado cebú. *Téc. Méx.* 44:64-67.

Cran, D.G. 1983. Follicular development in the sheep after priming with PMSG. *J. Reprod. Fert.* 67:415-423.

Critser, E.S., J.K. Critser, R.P. Winch and C. Eilts. 1983. Efficacy of pergonal as a superovulatory drug in cattle. *Theriogenology* 19:83.

Critser, J.K., R.F. Rowe, M.R. Del Campo and J.O. Ginther. 1980. Embryo transfer in cattle: Factors affecting superovulatory response, number of transferable embryos, and length of post-treatment estrous cycles. *Theriogenology* 13:391-406.

Cummins, L.J., T. O'Shea, B.M. Bindon, V.W. Lee, and J.K. Findlay. 1983. Ovarian inhibin content and sensitivity to inhibin in Booroola and control strain Merino ewes. *J. Reprod. Fert.* 67:1-7.

Cupps, P.I., G.V. Anderson, M. Drost, B. Darien and M.B. Horton. 1977. Synchronization of estrus in cattle for embryo transfer. *Theriogenology* 8: 111-118.

Danner, M.L. and W.D. Oxender. 1980. Efficacy of an equine pituitary extract to superovulate cows. *Theriogenology* 13: 94.

Danner, M.L., W.D. Oxender and L.R. Fogwell. 1979. Use of an equine pituitary extract with and without HCG to superovulate cows. *Theriogenology* 11:96.

Darrow, M.D., G.M. Lindner and G.G. Goemann. 1982. Superovulation and fertility in lactating and dry dairy cows. *Theriogenology* 17:84.

De Reviere, M.M. and P. Mauleón. 1973. Effects des hormones gonadotropes sur l'ovaire immature. *Annls. Biol. Anim. Biochim. Biophys.* 19: 1489-1498.

Dess, C., D. Stringfellow, and R.D. Schultz. 1984. Incorporation of a follicle stimulating hormone used for embryo transfer in cattle into multilamellar liposomes. *Theriogenology* 21:661-675.

Dhont, D., R. Bouters, J. Spincemaille, M. Coryn and M. Vandeplassche. 1978. The control of superovulation in the bovine with a PMSG-antiserum. *Theriogenology* 9:529-534.

Dobson, H. 1978. Plasma gonadotrophins and oestradiol during oestrus in the cow. *J. Reprod. Fert.* 52:51-53.

Donaldson, L.E. 1983. The effect of prostaglandin F₂ alpha treatments superovulated cattle on estrus response and embryo production. *Theriogenology* 20: 279-286.

Donaldson, L.E. 1984a. Cattle breed as a source of variation in embryo transfer. *Theriogenology* 21: 1013-1018.

Donaldson, L.E. 1984b. Embryo production in superovulated cows: Transferable embryos correlated with total embryos. *Theriogenology* 21: 517-524.

Donaldson, L.E. 1985. LH and FSH profiles at superovulation and embryo production in the cow. *Theriogenology* 23: 441-447.

Donaldson, L.E. and B. Perry. 1983. Embryo production by repeated superovulation of commercial donor cows. *Theriogenology* 20: 163-168.

Donaldson, L.E., D.N. Ward and G.D. Glenn. 1986. Use of porcine follicle stimulating hormone after chromatographic purification in superovulation of cattle. *Theriogenology* 25:747-757.

Donaldson, L.E. and D.N. Word. 1985. Superovulation in cattle: dose response to FSH-W with and without LH contamination. *Theriogenology* 23:189.

Dott, H.M., M.F. Hay, D.G. Cran, and R.M. Moore. 1979. Effect of exogenous gonadotrophin (PMSG) on the antral follicle population in the sheep. *J. Reprod. Fert.* 56: 683-689.

Driancourt, M.A., R.A. Paris, J.C. Mariana and E. Palmer. 1982. Ovarian follicular populations in pony and Saddle-type mares. *Reprod. Nutr. Develop.* 22: 1035-1047.

Duane, W. M., R. Wright, Jr., A.R. Merino, C.D. Zamora, and L.G. Paisley. 1978. Superovulation, fertilization and embryo recovery in gonadotropin treated prepuberal calves. *Theriogenology* 10: 167-174.

Echternkamp, S.E. 1984. Stress induces suppression of tonic LH release in restrained beef cows. *Theriogenology* 21: 233.

Edwards, L.E., C.H., Rake, J.L. Griffin, D.F. Wolfe, D.N. Marple, K.A. Cummins, and J.F. Prichett. 1983. Effect of stress on ovulation rate in superovulated heifers. *Theriogenology* 19: 126.

Elsaesser, P., B. Sacher, P. Haugt, W.V. Schutzbar, and D. Smith. 1981. Relationship between the concentration of progesterone in milk and ovarian response to superovulation treatment in the cow. *Zucyan.* 16: 193-200.

Elsden, R.P. J.F. Hasler and G.E. Jr. Seidel. 1976. Nonsurgical recovery of bovine eggs. *Theriogenology* 6: 523-532.

Elsden, R.P. and R.M. Kessler. 1983. Superovulation of Nelore cows and heifers. *Theriogenology* 19:127.

Elsden, R.P., S. Lewis, A.I. Cumming and R.A.S. Lawson. 1974. Superovulation in the cow following treatment with PMSG and prostaglandin F₂ alpha. *J. Reprod. Fert.* 36: 455-

456.

Elsden, R.P., L.D. Nelson, and G.E. Seidel, Jr. 1978. Superovulating cows with follicle stimulating hormone and pregnant mare's serum gonadotropin. *Theriogenology* 9: 17-27.

Elsden, R.P., L.D. Nelson, and G.E. Seidel, Jr. 1979. Embryo Transfer in fertile and infertile cows. *Theriogenology* 11: 17-25.

Elsden, R.P., R.P. and G.E. Seidel Jr. 1982. Embryo transfer Procedures for cattle Animal Reproduction Laboratory. CSU, Fort Collins, Colorado 80523 p:6.

Erickson, B.H. 1966. Development and senescence of the postnatal bovine ovary. *J. Anim. Sci.* 25: 800-805.

Erickson, B.H., R.A. Reynolds and R.L. Murphree. 1976. Ovarian characteristics and reproductive performance in the aged cow. *Biol. Reprod.* 15: 555-560.

Eyans, G. and D.T. Armstrong. 1984. Reduction in fertilization rate in vitro of oocytes from immature rats induced to superovulate. *J. Reprod. Fert.* 70: 131-135.

Ewy, Z., E. Wierzcho's. A. Bielanski and B. Gadja. 1984. Effect of dexamethasone and hydrocortisone on the course of superovulation in cattle. *Theriogenology* 23: 415-421.

Farmer, S.W., and Papkoff, H. 1979. Immunochemical studies with pregnant mare serum gonadotrophin. *Biol. Repr.* 21: 425-31.

Foote, R.H., P.C. Ladd, N.A. Lafaunce, A.D. Mc Cauley and J.F. Hasler. 1972. Milk progesterone concentration and production in superovulated Holstein cows. J. Dairy Sci. 65: 2164-2169.

Foote, R.H., and H. Onuma. 1970. Superovulation, fertilization and recovery of superovulated ova in prepubertal cattle. J. Dairy Sci. 33: 1681.

Garcia, G.J.K., G.E. Siedel, Jr. and R.P. Elsdon. 1982. Efficacy of shortened FSH treatment for superovulation in cattle. Theriogenology 17:90.

Garza, Ch., M.R. Valle, R. Paredes, M. Téllez y J. Montemayor. 1980. Trasplante de embriones de bovino en México. Práctica bovina 1:32.

Gilson, W.D. 1977. Prepubertal hormone levels in bovine and their relationship to estimated breeding values, first lactation production, and reproductive performance. Dissertation Abstract, Int. 37.

Godke, R.A., A.B. Bercovitz, J.L. Kreider and W.R. Warren. 1978. A technique for continuous infusion of donor heifers with follicle stimulating hormone. Theriogenology 9:93-96.

González, M.F., J. Manns and B.D. Murphy. 1978. FSH y LH activity of PMSG from mares at different stages of gestation. Anim. Reprod. Sci. 1:137-144.

Gordon, I., G. Williams and J. Edwards. 1962. The use of serum gonadotrophin (PMSG) in the induction of twin

pregnancy in the cow. *J. Agric. Sci.* 59: 143-198.

Gray, K.R. and M.F. Spire. 1984. The influence of semen quality as determined by percent intact acrosomes on fertilization rates in superovulated cows. *Theriogenology* 21: 236.

Greenwald, G.S. 1961. Quantitative study of follicular development in the ovary of the intact of unilaterally ovariectomized hamster. *J. Reprod. Fert.* 2: 251-361.

Greenwald, G.S. 1973. Quantitative aspects of follicular development in the untreated and the PMS-treated cyclic hamster. *Anat. Rec.* 178: 144.

Greve, T. 1976. Egg transfer in the bovine: Effect of injecting PMSG on different days. *Theriogenology* 5: 15-19.

Greve, T. 1980. Milk progesterone assays in superovulated cattle. IX Inter. Congr. Anim. Reprod. Artif. Insem. 3:565-568.

Greve, T., H. Calleson, P. Hytel. 1984. Plasma progesterone profiles and embryo quality in superovulated dairy cows. *Theriogenology* 21:238.

Griffen, J.L. and R. Randel. 1978a. Reproductive studies of Brahman cattle. I. Behavioral effect of various dose levels of estradiol 17- β upon ovariectomized Brahman, Brahman X Hereford and Hereford cows. *Theriogenology* 9: 429.

Griffen, J.L. and Randel, 1978b. Reproductive studies of Brahman cattle. II. Luteinizing Hormone patterns in ovariectomized Brahman and Hereford cows before and after injection of Gonadotrophin Releasing Hormone. *Theriogenology* 9: 437.

Guay, P.M. and M. Bedoya. 1981. A study of the equivalence between rectal palpation, laparoscopy, laparotomy and ovarian dissection for evaluation of the ovarian response of PMSG superovulated cows. *Can. Vet. J.* 22: 253-355.

Hafez, E.S.E., T. Sugie and I. Gordon. 1963. Superovulation and related phenomena in the beef cow. I. Superovulatory responses following PMS and HCG injections. *J. Reprod. Fertil.* 5: 359-379.

Halley, S.M., R.C. Rhodes III, McKellar and R.D. Randel. 1979. Successful superovulation, nonsurgical collection and transfer of embryos from Brahman cows. *Theriogenology* 12: 97-103.

Harper, M.J.K. and M.C. Chang. 1971. Some aspects of the biology of mammalian eggs and spermatozoa. In *advances in reproductive physiology*, vol. 5. Edt. Bishop, M.W.H. p. 167.

Hasler, J.F., C. Bartlett and A.D. McCauley. 1979. Effect of dose of FSH and day of treatment on superovulation of lactating Holsteins. *J. Anim. Sci.* 49 (Suppl. 1): 302.

Hasler, J.F., G.P. Brooke and A.D. McCauley. 1981. The relationship between age and response to superovulation

in Holstein cows and heifers. *Theriogenology* 15:109.

Hasler, J.F., A.D. Mc Cauley, E.C. Schermerhorn and R.H. Foote. 1983. Superovulatory response of Holstein cows. *Theriogenology* 19: 83-99.

Hay, M.F., R.M. Moor, D.G. Cran and H.M. Dott. 1979. Regeneration of atretic ovarian follicles in vitro. *J. Repr. Fert.* 55: 195-207.

Henderson, K.M., P. Franchimont, M.J. Lecomte-Lerna, N. Hudson and K. Ball. 1984. Increase in ovulation rate after active immunization of sheep with inhibin partially purified from bovine follicular fluid. *J. Endocr.* 102: 305-309.

Henricks, D.M., JR. Jr. Hill, J.F. Dickey and D.R. Lamond. 1973. Plasma hormone levels in beef cows with induced multiple ovulations. *J. Reprod. Fert.* 35: 225.

Hill, J.R. Jr., K.G., Bondioli and C.R. Looney. 1986. Use of a Norgestomet implant in conjunction with follicle stimulating hormone (FSH) from superovulation of donor cattle. *Theriogenology* 25: 160.

Hill, J.R. Jr., J.F. Dickey and P.M. Henricks. 1973. Estrus and ovulation in $\text{PGF}_{2\alpha}$ -PMSG treated heifers *J. Anim. Sci.* 37: 315.

Hill, J.R. Jr., T. Giménez, A.R. Ellicott, W.R. Boonr, and P.M. Henricks. 1976. Ovulation in cows after $\text{PGF}_{2\alpha}$ and treatment. *J. Anim. Sci.* 43:289.

Hill, J.R. Jr., C.W. McFarland, R.W. Rorie, S.D. Viker and R.A. Godke. 1985. A single 50 mg injection of follicle stimulating hormone (FSH) for superovulation of embryo donor cattle. *Theriogenology* 23:71.

Howe, G.R., D.P. Black, R.C. Foley and W.G. Black. 1962. Ovarian activity in prepuberal dairy calves. *J. Anim. Sci.* 21:82.

Humphrey, W.D. B.D. Murphy, D. Reier, R.J. Mapletoft, J.G. Manns and P.B. Fretz. 1979. Effects of FSH/LH ratio of PMSG on ovulatory responses. *Theriogenology* 11: 101.

Ireland, J.J., P.B. Coulson and R.L. Murphree. 1979. Follicular development during four stages of the estrous cycle of beef cattle. *J. Anim. Sci.*, 49: 1261-1269.

Irvîn, H.J. and R.D. Randel. 1977. The histology and histochemistry of Brahman, Hereford and Brahman X Hereford F-1 corpora lutea. *J. Anim. Sci. South Sect.* p.44.

Jainudeen, M.R., E.S.E. Hafez and V.A. Lineaweaver. 1966. Superovulation in the calf. *J. Reprod. Fert.* 12:149.

Jensen, M.A. and T. Greve. 1980. Production, identification and use of PMSG atiserum: A preliminary report. *Theriogenology* 13:98.

Jensen, M.A., T. Greve, A. Madey and L.E. Edqvist. 1982. Endocrine profiles and embryo quality in the PMSG-PGF₂ treated cows. *Theriogenology* 18: 33-44.

Jiménez K, F. 1986. Eventos endócrinos durante el pro-

estros y estros en vacas Indobrasil y Pardo Suizo en el Trópico. Tesis de Maestría, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM. p.60.

Jones, A.L., T.R. Staples and R.D. Page. 1986. Enhanced return to estrus in superovulated heifers using fenprostalene. *Theriogenology* 25:161.

Kruip, A.M., S.J. Dieleman and R.M. Moor. 1979. Steroid production by bovine follicles in vitro: influence of size stage of cycle and culture system. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.* 19: 1537-1545.

Lamond, D.R. 1974. Multiple Births in cattle: An Assessment. *Theriogenology* 1: 181-212.

Lamond, D.R. and R.G. Gaddy. 1972. Plasma progesterone in cows with multiple ovulations *J. Reprod. Fertil.* 29: 307-311.

Laster, D.B. 1972. Follicular development in heifers infused with follicle stimulating hormone. *J. Reprod. Fertil.* 28:285-289.

Lauderdale, J.W., B.E. Seguin, J.N. Stellflug, J.R. Chenault, W.W. Thatcher, C.K. Vincent and A.F. Loyancano. 1974. Fertility of cattle following $PGF_{2\alpha}$ injection. *J. Anim. Sci.* 38:964.

Lauria, A., A.R. Genazzani, O. Olivia. P. Inaudi, F. Cremonesi, C. Morittola and G. Aureli. 1982a. Clinical and endocrinological investigations on superovulation in cattle using human menopausal gonadotrophin. *J. Reprod.*

Fert. 66:219-225.

Lauria, A., O. Oliva, A.R. Genazzani, F. Cremonesi, S. Crotti and M. Barbetti. 1982b. Improved method to induce superovulation in cattle using human menopausal gonadotropin (HMG). *Theriogenology* 18: 357-365.

Lemon, M., J. Pelletier, J. Saumande and J.P. Signoret. 1975. Peripheral plasma concentrations of progesterone, oestradiol-17 β and Luteinizing hormone around oestrus in the cow. *J. Reprod. Fert.* 42:137-140.

Lemon, M. and J. Saumande. 1972. Oestradiol 17-beta and progesterone after induction of superovulation by PMSG in cattle. *J. Reprod. Fert.* 31:501-502.

Lerner, S.P., W.V. Thayne, R.D. Baker, T. Henschen, S. Meredith, E.K. Inskep, R.A. Dalley, P.E. Lewis and R.L. Butcher. 1986. Age, dose of FSH and other factors affecting superovulation in Holstein cows. *J. Anim. Sci.* 63: 176-113.

Linder, H.R., A. Amsterdam, Y. Salomon, A. Tsafiriri., J. Nimrod, S.A. Lamprecht, U. Zor and Y. Koch. 1977. Intraovarian factor in ovulation: determinants of follicular response to gonadotrophins. *J. Reprod. Fert.* 51:215-235.

Lindsell, C.E., V. Pawlyshyn, A. Bielanski and R.J. Mapletofl. 1985. Superovulation of heifers with FSH-P beginin on four different days of the cycle. *Theriogenology* 23:203.

Lindsell, C.E., K. Rajkumar, A.W. Manning, S.K. Emery, R.J. Mapletoft and B.D. Murphy. 1986. Variability in FSH:LH ratios among batches of commercially available gonadotrophins. *Theriogenology* 25:167.

Lineweaver, J.A. and E.S.E. Hafez. 1970. Ovarian responses in gonadotropin-treated calves. *J. Vet. Res.* 31: 21-2166.

Looney, C.R., K.G. Hill, D.L. Thompson, Jr., L.E. Archbald and R.A. Godke. 1982. Comparison of follicle stimulating hormone (FSH) in gelatin and saline diluents for superovulatory donor cattle. *Theriogenology* 17:97.

Lubbadeh, W.F., C.N. Graves and S.L. Spahr. 1980. Effect of repeated superovulation on ovulatory response of dairy cows. *J. Anim. Sci.* 50: 129-127.

Mapletoft, R.J., W.H., Johnson and W.M. Adams. 1980a. Effects of a progestagen ear implant of superovulatory response in the cow *Theriogenology* 13:102.

Mapletoft, E.J., W.H. Johnson and D.M. Miller. 1980b. Embryo transfer Techniques handling repeat breeding cows. *Theriogenology* 13: 103.

Mariana, J.C. and N.N. Huy. 1973. Folliculogenese chez la vache. *Annls. Biol. Anim. Biochim. Biophys.* 13:211-221.

Mariana, J.C. and J. Machado. 1976. Etude de la formation de L'antrum dans les follicules de L'ovaire de rate et de vache normales on stimulées por PMSG. *Annls Biol. Anim. Bioch. Biophys.* 16:545-559.

Mariana, J.C., P. Mauleón, M. Benoit and D. Chupin. 1970. Variability and repeatability of the number of ovulations obtained after injection of 1600 I.U. PMSG and 1500 U.I. HCG. *Annls. Biol. Anim. Biochem. Biophys.* 10: 47-63.

Maurer, R.R., W.L. Hunt and R.H. Foote. 1968. Repeated superovulation following administration of exogenous gonadotrophins in Dutch-belted rabbits. *J. Reprod. Fertil.* 15:93.

McGowan, M.R., M. Braithwaite, W. Jöchle and R.J. Mapletoft. 1985. Superovulation on beef heifers with Pergonal (HMG): a dose response trial. *Theriogenology* 24: 173-184.

McIntosh, J.E., R.M. Moor, W.R. Allen. 1975. Pregnant mare serum gonadotrophin rate of clearance from the circulation of sheep. *J. Reprod. Fert.* 44:95-100.

McNatty, K.P., M. Gibb, C. Dobson, K. Ball, J. Coster, D. Heath and D.C. Thurley. 1982. Preovulatory follicular development in sheep treated with PMSG and prostaglandin. *J. Reprod. Fert.* 65: 111-123.

Miller, K.F., J.K. Critser, R.F., Rowe and O.J. Ginther. 1979. Ovarian effects of bovine fluid treatment in sheep and cattle. *Biol. of Reprod.* 21: 537 - 544.

Miller, K.F., M. Procknor, D.D. Zalesky, K.M. Thayer, D.W. Forrest, K.R. Bondioli, C.R. Looney, K.G. Hill and T.H. Welsh, Jr. 1986. Plasma levels of insulin-like Growth Factor-I/somatomedin C in superovulated cows. *Theriogenology* 25: 174.

Monniaux, D., D. Chupin and J. Saumande. 1983. Superovulatory responses of cattle. *Theriogenology* 19: 55-81.

Monniaux, D., J.C. Mariana and W.R. Gibson. 1984. Action of PMSG on follicular populations in the heifer. *J. Reprod. Fert.* 70: 243-253.

Moore, N.W. 1975a. The control of time of oestrus and ovulation and the induction of superovulation in cattle. *Aust. J. Agric. Res.* 26:295-304.

Moore, N.W. 1975b. The use of prostaglandin $F_2\alpha$ given by either intrauterine infusion or by intramuscular injection for the control of oestrus and ovulation in cattle. *Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys.* 15:451-460.

Moor, R.M., L.P. Cahill, F. Stewart. 1980. Ovarian Stimulation or egg production as a limiting factor of egg transfer. *IX Intern. Cong. Anim. Reprod. Insem.* 1:43-56.

Moor, R.M., A.M. Kruij and D. Green. 1984. Intraovarian control of folliculogenesis: limits to superovulation. *Theriogenology* 21: 103-115.

Moor, R.M. and A.O. Trounson. 1977. Hormonal and follicular factors affecting maturation of sheep oocytes in vitro and their sub-sequent development capacity. *J. Reprod. Fert.* 49: 101-109.

Murphy, B.D., R.J. Mapletoft, J. Manns and W.D. Humphrey. 1984. Variability in gonadotrophin preparations as a factor in the superovulatory response. *Theriogenology* 21: 117-125.

Nelson, L.D., G.E. Seidel, R.P. Elsdon and R.A. Bowen. 1979. Superovulation of cows using follicle stimulating hormone and prostaglandin $F_{2\alpha}$. *Theriogenology* 11:104.

Newcomb, R. 1980. Investigation of factors affecting superovulation and non-surgical embryo recovery from lactating British Friesian cows. *Vet. Rec.* 106:48-52.

Onuma, H., J. Hahn and R.H. Foote. 1970. Factors affecting superovulation, fertilization and recovery of superovulated ova in prepuberal cattle. *J. Reprod. Fert.* 21:119-126.

Ortuno, A.M. and R.L. Carson. 1985. The effects of dietary monensin sodium upon superovulation and embryo viability from mature cows. *Theriogenology* 23: 743-752.

Papkoff, H. 1974. Chemical and biological properties of the subunits of pregnant mare serum gonadotrophin. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 58:397-404.

Papkoff, H. 1978. Relationship of PMSG to the pituitary gonadotrophins. In *Current topics in Veterinary Medicine* J. Ed. J.M.S. Sreenan, M. Nijhoff: The Hague p. 73-86.

Paulsson, H. 1962. Augmentation of fertility of Iceland ewes with pregnant mare serum in successive years. *J. Reprod. Fertil.* 3:55.

Pawlyshyn, V., C.E. Lindsell, M. Braithwaite and R.J. Mapletoft. 1986. Superovulation of beef cows with FSH-P: a dose-response trial. *Theriogenology* 25: 179.

Perry, B. and L.E. Donaldson. 1984. The use of cloprostenol, fenoprostalen and prostaglandin F₂ alpha in the superovulation of cows. *Theriogenology* 21:250.

Peters, H., Byskov, A.G. Himelstein-Brow, R. Faber. 1975. Follicular growth: the basic event in the mouse and human ovary. *J. Reprod. Fert.* 45: 559-566.

Philippo, M. and L.E.A. Rowson. 1975. Prostaglandin and superovulation in the bovine. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.* 15:233-240.

Plasse, D., A.C. Warnick and M. Koger. 1968. Reproductive behavior of Bos Indicus females in a subtropical environment. I. Puberty and ovulation frequency in Brahman and Brahman X British female. *J. Anim. Sci.* 27:94.

Pope, G.S. and J.K. Swinburne. 1980. Hormones in milk: Their physiological significance and value as diagnostic aids. *J. Dairy Res.* 47: 427-449.

Prado, A., R.P. Elsdon and G.E. Seidel, Jr. 1984. Effects of GnRH on response to superovulation in cattle. *Theriogenology* 21: 259.

Prather, R.S., M.F. Spire and R.R. Schalles. 1984. Norgestoment incorporations into a superovulation regime. *Theriogenology* 21:256.

Rajakoski, E. 1960. The ovarian follicular system in sexually mature heifers with special reference to seasonal, cyclical and left-right variations. *Acta endocr., Copenh. Suppl.* 52: 1-68.

Randel, R.D. 1976. LH y ovulation in Brahman, Brahman x Hereford y Hereford heifers. J. Anim. Sci. 43:300.

Randel, R.D. 1984. Seasonal effects on female reproductive functions in the bovine (Indian Breeds). Theriogenology 21: 170-185.

Randel, R.D. and W.M. Moseley. 1977. Serum Luteinizing hormone surge and progesterone near estrus in Brahman compared to Brahman x Hereford and Hereford heifers. J. Anim. Sci. 45 (Suppl.1): 199.

Randel, R.D. and R.C. Rhodes III. 1980. The effect of dietary monensin on the luteinizing hormone response of prepuberal heifers given a multiple gonadotrophin releasing hormone challenge. J. Anim. Sci. 51:925-931.

Renard, J.P. and L.M. Heyman. 1979. Variable development of superovulated bovine embryos between day 6 and day 12. Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys. 19:1589-1598.

Renard, J.P., Y. Menezes, J. Saumande and Y. Heyman. 1978. Attempts to check the viability of embryos produced by superovulated heifers. In Control of reproduction in the cow. Ed. J.M. Sreenan. The Hague: M. Nijhoff, p. 398-417.

Reel, J.R., R. Ronald, M.S. Humphrey and M.S. Dermody, 1976, Luteinizing hormone releasing hormone versus human chorionic gonadotrophin: Differential effect on the development of ovulatory refractoriness and antibodies. Fertil and Steril. 27:59.

Richards, J.S. 1980. Maturation of ovarian follicles: actions and interactions of pituitary and ovarian hormones on follicular cell differentiation. *Physiol. Rev.* 60:51-80.

Rhodes, III R.C., R.D. Randel and P.G. Harms. 1978. Reproductive studies of Brahman, Brahman x Hereford and Hereford cows following a 20 mg dose of Estradiol-17 β . *Theriogenology* 10:429.

Rhodes, III., R.C., R.D. Randel and P.G. Harms. 1979. Prolactin levels in ovariectomized Brahman, Brahman x Hereford and Hereford cows following a 20 mg dose of Estradiol-17 β . *Theriogenology* 12:85-95.

Rodríguez, J.L. and R.M. Gregory. 1986. Superovulatory response in cows following administration of FSH-P and prostaglandin. *Theriogenology* 25:190.

Rowson, L.E.A. 1976. Egg transfer in cattle, E.E.C. Eur. 5491.

Rowson, L.E.A., R. Tervit and A. Brand. 1972. The use of prostaglandins for the synchronization of oestrus in cattle. *J. Reprod. Fert.* 29: 145-150.

Ryle, M. 1972. The growth in vitro of mouse ovarian follicles of different sizes in response to purified gonadotrophins. *J. Reprod. Fert.* 42:208-220.

Sashida, T., and D.C. Johnson. 1976. The response of the immature rat ovary to gonadotrophins: acute changes in cyclic AMP, progesterone, testosterone, and androstenedione and oestradiol after treatment with PMS or FSH+LH. *Acta*

Endocr. (Kbh) 82: 413 - 425.

Saumande, J. 1980. Concentrations of luteinizing hormone, oestradiol 17 beta and progesterone in the plasma of heifers treated to induce superovulation. J. Endocr. 84: 425 - 437.

Saumande, J. and D. Chupin. 1977. Superovulation: A limit to egg transfer in cattle. Theriogenology 7: 141- 149.

Saumande, J. and D. Chupin. 1982 . The relationship in - the response of ovaries of superovulated heifers. Theriogenology 17: 107.

Saumande, J. and D. Chupin. 1986a. The effect of monensin on ovarian response of cyclic heifers to a superovulatory - treatment. Theriogenology 25: 193.

Saumande, J. and D. Chupin. 1986b. Induction of superovulation in cyclic heifers: the inhibitory effect of large doses of PMSG. Theriogenology 25: 233 - 247.

Saumande, J., D. Chupin, S.C.Mariana, R. Ortavant and - M. Mauleon. 1978 . Factors affecting the variability of -- ovulation rates after PMSG stimulation. In: Control of - reproduction in the cow. Ed. J. M. Sreenan. The Hague, - M. Nijhoff, 195 - 224.

Saumande, J., R. Procureur and D. Chupin. 1984 . Effect of injection time of anti-PMSG antiserum on ovulation rate and quality of embryos in superovulated cows. Theriogenology 22: 727 - 731

Saumande, J., D. Tamboura and D. Chupin. 1985 . Changes in milk and plasma concentrations of progesterone in cows after treatment to induce superovulation and their relationship with number of ovulations and of embryos collected. - Theriogenology 23: 719 - 737.

Savage, N.C. and R.J.Mapletoft. 1984 . Superovulation in the cow utilizing oestradiol 17 beta or gonadotrophin releasing hormone in a FSH - P regimen. Theriogenology 21: 259.

Scanlon, P.F. 1968 . Hormonal induction of multiple ovulations in cattle. VI Intern. Cong. Anim. Reprod. Art. -- Insem. (Paris) 1:801.

Scanlon, P.F. 1972 . Cleavage rates of eggs from superovulated cattle. J. Anim. Sci.35: 253.

Scanlon, P.F., Sreenan and I.Gordon. 1968 . Hormonal induction of superovulation in cattle. J. Agric. Sci., - Comb. 70: 179 - 182.

Schams, D., Ch. Menzer, F. Schalleberger, B. Holfman, J. Hahn and R. Hahn. 1978 . Some studies on pregnant mare serum gonadotrophin (PMSG) and on endocrine responses after application for superovulation in cattle. In - Current topics in Veterinary Medicine L. Ed. J. M. -- Sreenan. The Hague, M. Nijhof, 122 - 143.

Schiewe, M.C., J.G. Howard, L.S. Stuart, K.L. Goodrowe and D.E. Wildt. 1985. Human Menopausal Gonadotropin (HMG) for superovulation of sheep. *Theriogenology* 23: 227.

Schiewe, M.C., C.R. Looney, K.G. Hill, C.A. Johnson and R.A. Godke .1983 .Transferable embryo recovery rates following different artificial insemination schedules in beef donor cattle. *Theriogenology* 19:211.

Schlerchofer, J.F. and J.R. Lodge. 1983. Repeated superovulation of dairy cattle. *J. of Anim. Sci.*, 57. Suppl. 1:101.

Schramm, W.L., M.E. Bovaird, G. Glew, G. Schramm and J.A. McCracken. 1983. Corpus luteum regression induced by ultra-low pulses of prostaglandins F₂α. *Prostaglandins* 26:347-364.

Seidel, G.E. Jr., J.M. Bowen, N.R. Homan and M.E. Okun. 1975. Fertility of heifers with sham embryo transfer though the cervix. *Vet. Rec.* 97: 307-308.

Seidel, G.E. Jr., L.L. Larson and R.H. Foote. 1972. Effects of age gonadotropin treatment on superovulation in the calf. *J. Anim. Sci.* 33: 617-622.

Seidel, G.E. Jr., L.L. Larson, G.H. Spielman, J. Hahn and R.H. Foote. 1971. Culture and transfer of calf ova. *J. Dairy Sci.* 54:923.

Seidel, G.E. Jr., S.M. Seidel and R.A. Bowen, 1980. *Bovine Embryo Transfer Procedures*, Colorado State Univ. Exp. Stat. and Anim. Reprod., Lab. General Sires 975. p.12.

Shea, B.T. 1981. Evaluating the bovine embryo. *Theriogenology* 15:31-42.

Sherwood, O.D. and W.H. McShan. 1974. Gonadotropins. In *Reproduction in Domestic Animals*. Academic Press., Inc. p. 18-32.

Snyder, D.A. 1986. Superovulation of cows and heifers selected for twinning. *Theriogenology* 25:200.

Solti, L.T. Greve and H.H. Koefoed-Johnson. 1978. Plasma progesterone assays in superovulated cattle. *Acta Vet. Scand.* 19:298-309.

Sprigmann K., W. Holtz and K. Zerobin. 1986. Hormonal imbalances after superovulation of beef heifers with PMSG. *Theriogenology* 21:201.

Sreenan, J.M., D. Bechan and P. Mulvehill. 1975. Egg transfer in the cow: factors affecting pregnancy and twinning rates following bilateral transfers. *J. Reprod. Fertil.* 44:77-85.

Sreenan, J.M. and J.P. Gosling. 1977. The effect to cycle stage and plasma progesterone level on the induction of multiple ovulations in heifers. *J. Reprod. Fert.* 50:367-369.

Steel, R.G. and J.H. Torrie. 1980. *Principles and Procedures of Statistics*. Mc Graw-Hill Book Co., Inc. USA, p. 481.

Stellflug, J.N., T.M. Louis, B.E. Seguin and H.D. Hafs. 1973. Luteolysis after 30 or 60 mg PGF₂α (tham salt)

in heifers. J. Anim. Sci. 37. 330.

Swanson, L.V. and H.D. Hafs. 1971. LH and Prolactin in blood serum from oestrus to ovulation in Holstein heifers. J. Anim. Sci. 33: 1078-1041.

Tamayo, J.L. 1962. Geografía General de México, 2da. Edición Instituto de Investigaciones Económicas, México, D.F. 103-193 p.

Tenbriemberg H., B. Szilvassy, B. Kruff, R. Pokorny and F. Hunziker Lehrstuhl. 1984. Different methods of synchronizing embryo transfer donor cows. Theriogenology 21: 267.

Tervit, H.R., L.E.A. Rowson and A. Brand 1973. Synchronization of oestrous in cattle using a prostaglandin $F_2\alpha$ analogue (ICI 79,939). J. Reprod. Fertil. 34:179-181.

Testart, J. G. Kann, J. Saumande and M. Thibier. 1977. Oestradiol - 17 beta, progesterone, FSH and LH in superovulated prepuberal calves. J. Reprod. Fert. 51: 329-336.

Thibier, M. and J. Saumande, 1975. Oestradiol 17- β , progesterone and 17 β hydroxyprogesterone concentrations in jugular venous plasma in cows prior to and during oestrus. J. Steroid. Bioch. 6: 1433-1437.

Voss, H.J.S., J. Allen, P. Aquadro and R.H. Foote. 1986. Incorporation of a GnRH analogue into a superovulatory regimen for dry Holstein cows. Theriogenology 25:210.

Voss, H.J., M. Oliveira Angel and W. Holtz. 1983. Supe-

rovalation in beef cattle with PMSG and prostaglandins or progestins. *Theriogenology* 20: 615-625.

Warfield, S.J., G.E. Seidel, Jr. and R.P. Elsdon. 1986. A comparison of two FSH regimens for superovulation cows and heifers. *Theriogenology* 25: 213.

West G., Ch. West. D. Dasley and L.E. Donaldson. 1984. Effect of breeding regime on percent ova fertilized in superovulated cows. *Theriogenology* 21: 273.

Wiley, H.E., M.J. Bowen, J.M. Massey, M.S. Amoss, R.W. Blake, D.C. Kraemer. 1982. The effect of FSH on sperm transport in cattle. *Theriogenology* 17:113.

Wollen T.S., R.H. Schultz and H.L. Newkirk. 1985. Use and handling of drugss and biologicals in embryo transfer. *Theriogenology* 23: 31-43.

Yaday, M.C., K.E. Leslie and J.S. Walton. 1985. The onset and duration of ovulation in superovulated beef heifers. *Theriogenology*, 23: 237.

Zalesky, D.D., K.M. Thayer, D.W. Fowest, T.H. Welsh, Jr. K.R. Bondioli, C.R. Looney and K.G. Hill. 1986. Relationship between endocrine and ultrasound evaluation of ovulation in superovulated cows. *Theriogenology* 25:220.