



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLAN

CATEDRA DE REPRODUCCION Y GENETICA  
EN OVINOS Y CAPRINOS

INFORME DE SERVICIO SOCIAL  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA  
P R E S E N T A :  
SALVADOR ALCANTARA HERNANDEZ

ASESOR: M. en C. ARTURO ANGEL TREJO GONZALEZ



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.

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
UNIDAD DE LA ADMINISTRACIÓN ESCOLAR  
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES



ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO  
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN  
P R E S E N T E

ATN: Q. Ma. del Carmen García Migares  
Jefe del Departamento de Exámenes  
Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos:

el Trabajo de Servicio Social Titulación:  
"Cátedra de Reproducción y Genética en Ovinos y Caprinos."

que presenta el pasante, Salvador Alcántara Hernández,  
con número de cuenta 9156837-3 para obtener el título de  
Médico Veterinario Zootecnista

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO

ATENTAMENTE  
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx a 4 de enero de 2000

PRESIDENTE	M.C. Fernando Osaya Gallardo	
VOCAL	M.C. Arturo Angel Trejo González	
SECRETARIO	MVZ. Yolanda Pérez Ruz	
PRIMER SUPLENTE	MVZ. Carlos Humberto Flores Lázaro	
SEGUNDO SUPLENTE	M.C. Rosalba Soto González	

## AGRADECIMIENTOS

### A MIS PADRES

Por este nuestro logro, como una muestra de agradecimiento por toda una vida de esfuerzos y sacrificios brindándome su apoyo incondicional en todo momento

Por haberme guiado por el camino correcto de la vida inculcándome los valores que ahora poseo, por haberme demostrado su amistad incondicional y logrado hacer de mi lo que soy, y muy en particular por haber convertido aquel sueño en lo que hoy día es realidad.

Con todo mi amor , admiración y respeto

GRACIAS

## A MIS HERMANOS

Por todo el apoyo y comprensión que me han brindado durante **todo este tiempo**, ya que sus palabras de aliento y motivación me han servido **para salir adelante**.  
Con especial cariño a mi hermano Santos, ya que **gran parte de mi formación profesional** se lo debo a él ,gracias por todo el apoyo moral **y económico que me** brindo incondicionalmente

GRACIAS

A MIS COMPAÑEROS , AMIGOS Y PROFESORES DE LA FACULTAD

A todos y cada uno de ellos que de alguna manera influyeron para que llevara a feliz termino mi licenciatura y que de modo constante lo siguen haciendo para lograr una plena formación y actualización profesional.

GRACIAS

A LA UNAM:

Ya que gracias a esta gran institución pude lograr realizar mi más grande sueño ,que fue el de poder culminar una carrera profesional

GRACIAS

INTRODUCCIÓN...	1
HISTORIA DEL TRANSPLANTE DE EMBRIONES..	5
OBJETIVOS .	7
FISIOLOGIA...	8
CICLO ESTRAL ....	10
CUADRO METODOLÓGICO. ....	11
DESCRIPCIÓN DE ACTIVIDADES .....	12
CRIOPRESERVACION DE EMBRIONES .....	28
CONCLUSIONES .....	30
BIBLIOGRAFIA....	31



## *INTRODUCCION*

La cabra es un animal con gran potencial de producción bajo condiciones ecológicas en las cuales otras especies como los bovinos son incapaces de producir en forma eficiente

La cabra al igual que el ovino fueron de los primeros animales domesticados por el hombre para la producción de carne, leche, piel, lana y pelo. En la actualidad habitan en todas las zonas climáticas del mundo.

La marginación de las cabras en nuestro país a productores con bajos recursos económicos ha ocasionado una deficiencia en investigación básica y aplicada que limita el conocimiento en primera instancia de las características productivas y reproductivas, para beneficio de los productores de ovinos y caprinos, así como a todas las personas que tengan interés sobre estas dos especies.

Es importante señalar que se ha tenido rezago debido, sobretodo a la falta de recursos financieros y de asesoría técnica, ya que el hecho de tratar de implementar alternativas de mejoramiento genético implica elevados costos, capacitación de técnicos, personal, y de productores que estén relacionados con el desarrollo de alguna técnica de producción

Si tomamos en cuenta que la inseminación artificial en ovinos y caprinos en nuestro país no se le ha dado relevancia alguna a pesar de lo sencillo que es la técnica, difícilmente se le podrá dar importancia a otra técnica como lo es la transferencia de embriones, la cual en otros países se lleva a cabo en forma de rutina con éxito, en México sólo se ha reportado en forma experimental.

La transferencia de embriones se empezó a trabajar experimentalmente en ovinos y caprinos desde el año de 1936 y a partir de 1970 se utiliza tanto a nivel científico como comercial en muchos países (Flores et al. 1992)

En México puede ser una herramienta valiosa si se utiliza adecuadamente, realizando primero programas de selección y mejoramiento genético, además de utilizar técnicas más sencillas pero sumamente importantes como la inseminación artificial. La técnica de transferencia de embriones consiste en extraer embriones aun no implantados del tracto reproductor de una hembra denominada donadora y transferidos al tracto genital de hembras denominadas receptoras (Hunter, 1982 ) La técnica de transferencia de embriones al ser desarrollada de una manera eficiente brinda una serie de ventajas, dentro de las cuales estan las siguientes

a).-Obtener cabras más resistentes a enfermedades enzooticas ,por haber sido amamantadas por una hembra receptora adaptada a las condiciones locales.

b).-La producción de un número de crías mayor a las que una hembra pudiera llegar a tener a lo largo de toda su vida productiva (Pelaez,1991)

c).-Acortar el intervalo entre generaciones , mediante la inducción de superovulación en hembras inmaduras, lo que permite realizar precozmente pruebas de progenie

d).-Es posible formar líneas genéticas

e).-Favorece la formación de un rebaño de raza pura , mientras que por otros métodos como la inseminación artificial, la raza pura se obtiene en cruzamiento por absorción a través de muchas generaciones ( $1/2$  sangre  $.3/4$  ,  $7/8$  , etc ).

f).-Obtener un mayor número de embriones en hembras genéticamente superiores, inclusive en la etapa senil o con ciertos problemas reproductivos que les impidan llevar a término la gestación .

g).-Determinar el sexo de los embriones antes de la transferencia.

h).-Hace posible la producción de gemelos.

i) - Importar embriones de razas exóticas, cuando el costo de la obtención embrionaria resulte muy honeroso, evitándose además la entrada de ciertas enfermedades que los reproductores pudieran portar.

j) - Permite el transporte de los embriones (en cultivo in vitro en el oviducto de conejas, que actúan como incubadoras, o congelados dentro al termo de nitrógeno líquido), con lo que se mantienen las condiciones sanitarias

k) - Contar con bancos de embriones de alta calidad genética que faciliten avanzar con rapidez el mejoramiento y propagación de la especie

Sin embargo dado que la transferencia de embriones es una técnica que se encuentra en proceso de desarrollo, existe una serie de aspectos de orden técnico y económico que limitan en menor o en mayor grado su aplicación práctica, dentro de los cuales se incluyen los siguientes.

- 1 - Falta de recursos financieros y capacitación del personal técnico y productores
- 2.- Costo elevado de instalaciones adecuadas y material para la transferencia de embriones
- 3 - Respuestas poco predecibles a los tratamientos de superovulación de las hembras donadoras
- 4 - Diversos grados de fertilidad en los óvulos recobrados y susceptibles de ser transferidos.
- 5.- Frecuente variabilidad a la sincronización del estro y ovulación de las receptoras, lo que repercute en la sincronía con las donadoras
- 6.- Elevadas pérdidas embrionarias post-transplante en las receptoras.
- 7.- Efectos secundarios de índole patológico, resultado de la manipulación quirúrgica y estimulación hormonal requeridas en esta práctica

No obstante, cabe suponer que a medida que se investigue y profundice en todos estos aspectos involucrados en el proceso de transferencia de embriones, se podrá plantear posibilidades que hagan de la misma, una técnica más simple, segura y económica.

Por otro lado es importante mencionar que para alcanzar los mejores porcentajes de fertilidad es necesario la sincronía entre la etapa de desarrollo del embrión colectado de la hembra donadora y el ciclo estral de la receptora, ya que la fertilidad disminuye mientras mayor es la asincronía (Hafez, 1987)

La mayoría de los tratamientos prácticos para sincronizar el celo de las hembras se basan en la administración de progestágenos y/o prostaglandinas (Hafez, 1987) El uso de esponjas intravaginales por 9 a 12 días permite alcanzar una alta fertilidad (Gordon, 1977), y en combinación con la aplicación de prostaglandina F<sub>2α</sub> se promueve una sincronización más precisa de la ovulación (Hafez, 1987)

El propósito principal del uso de transferencia de embriones en ovinos y caprinos ha sido el de incrementar las tasas reproductivas de animales genéticamente superiores y para acortar intervalos entre generaciones (Wickham, 1987) El empleo de la técnica permite una rápida multiplicación de una pequeña población de animales, facilita el transporte de material genético valioso, se reduce considerablemente el riesgo de introducir enfermedades infecciosas, permite inducir partos múltiples y congelar, dividir o sexar embriones

Por todo lo anterior se tuvo la inquietud de realizar el siguiente trabajo de investigación con la finalidad de profundizar más en el conocimiento de lo que es la transferencia de embriones y que sirva como ayuda a investigadores, profesores, productores y alumnos que están interesados por las especies aquí implicadas y que de alguna manera le den mayor relevancia a esta técnica debido a su importancia y a todas las ventajas antes mencionadas y tratar de reducir la marginación que se le ha dado a los productores, sobre todo a aquellos con bajos recursos, los cuales no han podido desarrollar o crear otras alternativas de producción y mejoramiento genético, debido a la falta de recursos y asesoría técnica por parte del gobierno y de particulares.

## ***HISTORIA DEL TRASPLANTE DE EMBRIONES***

El proceso de trasplante de embriones comprende una serie de etapas o fases técnicas que parten de cierto número de donantes tratadas, o a receptoras y a productos vivos nacidos después del trasplante. Con el fin de aumentar la descendencia, una hembra donante podrá ser inducida a varios ciclos sucesivos de producción de embriones.

Las hembras donadoras las cuales se seleccionan por su alto valor genético (potencial de producción, ejemplares únicos) reciben un tratamiento para la sincronización del celo y de estimulación ovárica que conduce a una super ovulación que permite generar un número de ovocitos netamente superiores a las posibilidades naturales.

La fecundación de estos ovocitos es obtenido generalmente por I. A con semen fresco o congelado procedente de machos de alto valor genético (por ejemplo ensayados sobre su descendencia respecto a la mejora de ciertos caracteres productivos y reproductivos), o de monta natural tomando en cuenta las características anteriores.

La recolección de embriones se realiza precozmente por vía quirúrgica o mediante control endoscópico. Estos podrán ser transferidos a hembras receptoras sin valor genético, directamente o después de una fase de crioconservación. El ciclo sexual de las receptoras se sincroniza previamente mediante un tratamiento hormonal para asegurar a los embriones transplantados un entorno uterino adaptado biológicamente a su estado de desarrollo.

Los primeros trasplantes de embriones en los caprinos y ovinos datan de más de 50 años (Warwick et al. 1934). A partir de los años sesenta se han realizado, numerosos trabajos sobre todo en Australia (Moore and Rowsen, 1960) y Nueva Zelanda (Tervit and Havick, 1976). Los trabajos anteriores han contribuido a precisar mejor las condiciones y posibilidades de la producción y transferencia de embriones en las especies, y a aumentar su eficacia.

Sin embargo, a pesar de todo lo anterior, la práctica de ésta técnica está poco desarrollada en los pequeños rumiantes, mientras que alcanza un desarrollo importante en los bovinos desde hace unos quince años. En esta especie, se estima en 300,000 el número de embriones transferidos en el mundo solamente en el año 1980 (Nibart, 1991), y solamente de algunos miles en diferentes razas de ovinos y caprinos.

En el caso de la cabra de Angora en Australia y Nueva Zelanda constituye una excepción, ya que el trasplante de embriones se practica en forma rutinaria desde hace más de diez años. La gran cantidad de exportaciones de embriones de cabras de Angora han permitido constituir rebaños fuera de las zonas tradicionales de cría de esta raza.

En Francia, los trabajos de investigación realizados durante esos diez últimos años han contribuido a la mejora de las técnicas de transplante de embriones en varias razas ovinas y caprinas. Por último se menciona que este método es actualmente utilizado dentro del Plan Nacional de mejora genético de la oveja lechera de raza Laucane. Ultimamente ha sido aplicado en la exportación de genotipos caprinos de la raza Alpina y Saanen para lograr concluir a buen termino la mejora genética.

# OBJETIVOS

## OBJETIVO GENERAL.

Obtener la información más relevante sobre los avances de investigación en el área de reproducción y zootecnia de la especie ovina y caprina en el país, a través del estudio y desarrollo de las técnicas que implica la transferencia de embriones, en la forma práctica y experimental

## OBJETIVO ESPECIFICO

Lograr que sirva como fuente de información para todos aquellos que esten interesados en el manejo de la transferencia de embriones.

## OBJETIVO ACADEMICO

Apoyar en los trabajos de investigación que se realizan en el área de reproducción y mejoramiento genético en los ovinos y caprinos.

## OBJETIVO SOCIAL.

Determinar los aspectos fundamentales que se llevan a cabo para la realización de esta técnica y que sirva como apoyo a investigadores, estudiantes, veterinarios, y a las personas que esten implicadas en el mejoramiento genético de los ovinos y caprinos

## *FISIOLOGIA*

La reproducción ovina y caprina siguen un patrón estacional alternando períodos de actividad sexual. En regiones templadas la estacionalidad está regida por el fotoperíodo, es decir la evolución de la duración del día, los días cortos estimulan la actividad sexual mientras que los días largos inducen el anestro (reproductor de días cortos).

Aunque el fotoperíodo es el mayor determinante de la estacionalidad, otros factores pueden alterar el patrón reproductivo tales como la genética (algunas razas son menos sensibles a las variaciones lumínicas), el manejo (efecto macho y señales sociales) (Evans 1987; Henderson, 1991), esto último ocurre más en el ganado ovino.

Contrario a los ovinos, en zonas tropicales, donde se asientan las cabras, el fotoperíodo es menos importante que factores como la temperatura, la pluviosidad, la vegetación y el ciclo de crecimiento de la hierba (Riera, 1982).

La estación sexual de la mayoría de las razas lecheras del hemisferio norte se limita habitualmente al período que va de septiembre a diciembre, mientras que las cabras de aptitud cárnica tienen un corto período de anestro en primavera (Shelton, 1978).

El inicio de la pubertad en la cabra está relacionado con el peso corporal, que a su vez depende del nivel de nutrición, la edad, el tipo de nacimiento y la época del año en que nacen las crías (Riera, 1982). La mayoría de las razas alcanzan la pubertad entre los 5 y 10 meses de edad, pero las razas estacionales pueden alcanzar los 15 y 18 meses de edad, cuando se ven sometidas a influencias estacionales, antes que el animal alcance el desarrollo adecuado para manifestar el celo (Shelton, 1979).

Para permitir el desarrollo de la madre y obtener crías viables, no es aconsejable cubrir las chivas hasta que hayan alcanzado al menos 60-75% de su peso adulto.

En los ovinos la estacionalidad no sólo afecta a los animales adultos, ya que puede modificar la edad de la pubertad. Aunque la genética juega un papel primordial sobre la edad a la que el animal alcanza la pubertad, la fecha de nacimiento y, por ello, el fotoperíodo pueden ejercer un efecto permisivo, dejando que el animal salga en celo a una edad temprana, o retrasar la pubertad durante varios meses.



Aún cuando los moruecos son capaces de cubrir durante todo el año, la falta de libido y la inferior calidad y cantidad del eyaculado durante la estación de anestro pueden disminuir la eficacia de la cubrición fuera de época (Henderson, 1991).

La actividad estral se interrumpe con la gestación y no se recupera durante algún tiempo después del parto, debido al denominado anestro post-parto. También se menciona que la incidencia del anestro de lactación y su duración varían con la raza, manejo y fecha de parto, porque el anestro estacional y el post-parto pueden tener un efecto aditivo, este último se debe primordialmente al efecto antigonadotrópico ejercido por el cordero lactante al mamar, de modo que desaparece normalmente poco después del destete. Sin embargo, el período inmediato post-parto está dominado por el anestro incluso en ausencia del cordero lactante (crias alimentadas con lactorreemplazantes) (Cognie, 1975).

En la cabra, la gestación depende toda de la producción de progesterona por el cuerpo lúteo, de forma que la interferencia en la función luteínica en cualquier estado de gestación interrumpirá la gestación mediante el aborto (Riera, 1984)

La duración de la gestación varía de 144 a 151 días (Riera, 1982) habiéndose señalado una duración promedio de 149 días.

El intervalo entre el parto y el primer celo post-parto (Anestro) varía según la raza, duración de la lactación y régimen nutricional

Se menciona que hay una variación considerable desde medias de tan solo 5-6 semanas, o incluso menos, hasta periodos tan largos como 27 semanas (Riera, 1982; Riera, 1984)

El período de gestación de la oveja dura unos 5 meses. 145-152 días de promedio. Su duración varía principalmente con la raza, número de parto y prolificidad. El primer tercio de la gestación es luteodependiente, pero a partir del día 50 de preñez aproximadamente la progesterona se produce principalmente en la placenta. Como consecuencia, la ovariectomía o la administración de dosis luteolíticas de prostaglandinas  $F_{2\alpha}$  no interrumpen la gestación durante los dos últimos tercios de la misma (Fitzpatrick, 1980).

## *CICLO ESTRAL*

Las hembras vacías apartadas del macho o que no conciben tras la cubrición, alternan períodos de anestro y períodos de actividad sexual. Esto último se caracteriza por una sucesión de ciclos sexuales, o sea, la aparición de celos a intervalos regulares

La duración de ciclo estral es de 16-17 días en ovejas con un rango de 14-19 días. En la cabra la duración del ciclo estral varía ampliamente desde ciclos tan breves como 3 días hasta ciclos de 62 días de duración. La mayoría de los ciclos estales duran 19-21 días, pero hay una cierta proporción de ciclos cortos, menos de 12 días, y otros largos de más de 26 días. Los ciclos cortos se relacionan con la época del año, inicio de la estación sexual o período de transición efecto macho y períodos post-parto temprano (Riera, 1982).

A menudo las primeras ovulaciones de la estación sexual no van acompañadas de comportamiento de celo y se conocen como “celos silenciosos”.

Al igual que en otras especies, el ciclo sexual se puede dividir en dos fases. La folicular, que dura de 3-4 días y la fase luteínica que dura unos 13-17 días.

La fase luteínica se caracteriza por la maduración del cuerpo luteo y altos niveles de progesterona que alcanzan su punto máximo unos 6 días después de la ovulación.

La duración del celo varía con la edad, raza y época del año, generalmente presenta una duración promedio de 36 hrs. con unos límites mínimo y máximo de 22 a 60 horas respectivamente

La ovulación es espontánea y tiene lugar hacia el final del celo (Henderson, 1991). El celo en la oveja es menos manifiesto en comparación con otras hembras ruminantes

Las ovejas en celo buscan al morueco si esta presente, pueden exteriorizar movimientos oscilatorios de la cola y acariciar con el hocico su escroto. Si el macho trata de cubrirlas se dejan montar, pero si no hay macho o hay alguno inexperto el celo puede pasar desapercibido (Evans, 1987, Henderson, 1991)

Diversos factores influyen sobre la tasa de ovulación (número de ovocitos liberados en la ovulación) como la raza, edad, estado reproductivo (seca o lactante), época del año, estado nutricional y condición corporal de la hembra (Evans, 1987) El número medio de ovulaciones espontáneas es de 1-4 por ciclo, con un número de crías nacidas inferior debido a fallas en la fecundación y a mortalidad embrionaria (Riera, 1984)

## **CUADRO METODOLÓGICO.**

Para lograr los objetivos propuestos, se requiere acudir a varios centros educativos en los cuales se lleven a cabo programas de reproducción y mejoramiento genético en ovinos y caprinos

## ***DESCRIPCIÓN DE ACTIVIDADES.***

A continuación se desglosan cada uno de los principales pasos para el desarrollo de transferencia de embriones en ovinos y caprinos. Dentro de cada punto a tratar se complementará con información recabada a partir de una serie de artículos obtenidos de memorias, revistas, tesis, etc. en diferentes instituciones educativas.

## ***TRATAMIENTO DE LAS DONANTES***

### ***SELECCIÓN DE ANIMALES***

En este evento se realiza la determinación de las características fenotípicas, sanitarias y características productivas y reproductivas necesarias para optimizar el método de transferencia de embriones. Se toma un criterio muy general en el cual las características a seleccionar son ciclos estrales normales (18-21 días promedio), ausencia de trastornos generales y anatómicos, no más de dos servicios por concepción, buen estado nutricional y libres de enfermedades de importancia reproductiva. Adicionalmente es necesario seleccionar un grupo de hembras denominadas "receptoras", las cuales no necesariamente tienen que ser de alto valor genético.

### ***SINCRONIZACIÓN DE ESTROS***

La mayoría de los tratamientos prácticos para sincronizar el celo de las hembras se basan en la administración de progestágenos y/o prostaglandinas (Hafez, 1987). El uso de esponjas intravaginales impregnadas con progestágenos tales como el acetato de medroxiprogesterona (MAP) o el acetato de fluorogestona (FGA), insertándolas en las receptoras al mismo tiempo que las donadoras y dejándolas por 15 a 18 días (Eppleston, 1982; Schiewe et al, 1991). Alternativamente se pueden utilizar inyecciones de progesterona por tiempos similares (Tervit et al, 1985), implantes subcutáneos colocados en el pabellón de la oreja o dispositivos intravaginales liberadores de progesterona (Ritar et al; 1987; Pendleton et al; 1992), en combinación con la aplicación de prostaglandinas F2 $\alpha$  se promueve una sincronización más precisa de la ovulación (Hafez, 1987). Una de las desventajas en el uso de la prostaglandina o sus analogos, es que a los animales que se les aplica, tienen que encontrarse en la fase lútea de su ciclo sexual, esto restringe su uso a esa fase; de lo contrario, cuando se desconoce la fase del ciclo sexual de los animales, se pueden aplicar dos inyecciones con intervalos de 10-14 días. El éxito de la sincronización de estros depende de varios factores como ruta de administración, periodos de tratamiento, estadio del ciclo sexual, estado nutricional, etc (Gall, 1982). Independientemente del sistema utilizado es fundamental obtener un alto grado de respuesta en la incidencia de celos y en el grado de sincronización. La disponibilidad de rebaños grandes permitiría seleccionar hembras que presentarán celo en forma natural.

## *SUPER OVULACIÓN*

El interés del método de la transferencia de embriones se basa en la explotación del potencial genético del animal donante, indicando el buscar una forma de conseguir un mayor número de óvulos capaces de ser transferidos

Numerosos trabajos han demostrado que las sustancias gonadotrópicas son capaces de provocar la liberación de un número mas o menos elevado de óvulos fertilizables (Derivaux, 1976)

En algunos tratamientos de superovulación utilizan gonadotropina sérica de yegua preñada (PMSG) en dosis de 750 a 1250 U I administradas en una sola inyección, o una preparación de 18 a 21 mg de hormona foliculo estimulante (FSH-P, Folltropin, Ovagen) administrada dos veces al día por un periodo de tres a cuatro días (Eppleston, 1982; Armstrong et al, 1983).

En un estudio se utilizó 1500 U I de PMCG/sc el día 16 del ciclo estral y 1000 U I de HCG/iv en el inicio del estro, presentándose éste dentro de los diez días posteriores a la aplicación de PMSG, obteniéndose una media de 9.36 óvulos cuando la recolección se hizo a los cinco días post-celo (Hancock y Mc Govern, 1968) Otro método con PMSG fue suministrando 1000-1250 U I /I.M el día doce del ciclo estral con un pretratamiento con progesterona de 60mg/intravaginal dando como resultado una media de ovulación de 10.1 (Armstrong et al, 1983)

Generalmente la hormona gonadotrópica que estimula el crecimiento folicular se aplica entre el día 11 a 13 del ciclo o hacia el fin del tratamiento con progestágenos para controlar la ovulación .

Se han usado prostaglandinas para inducir la luteólisis después de la estimulación folicular. Trounson et al, 1976, aplicó cloprostenol (ICI) 100 mg./I M a 84 ovejas entre los días 4 y 13 del ciclo, que habían sido tratadas 24 a 72 horas antes con PMSG, 82 hembras entraron en celo, 71 de ellas entre las 36 hrs. después de la inyección de prostaglandinas

La forma de administrar PMSG facilita considerablemente el manejo (Larsson et al. 1991) Esto debido a su larga vida media biológica conferida por su alto contenido de ácido siálico (Bindon y Piper, 1982, Armstrong et al: 1983)

El uso de FSH-P incrementa las tasas de ovulación y reduce la incidencia de foliculos grandes (Nuti et al, 1987), produciendo un menor grado de estimulación folicular y una elevación menos prolongada de las concentraciones de 17 estradiol durante los periodos pre y post ovulatorios (Armstrong et al. 1983) El costo de FSH-P es mayor comparativamente con PMSG y su vida media biológica es mas corta

comparativamente con PMSG y su vida media biológica es mas corta.

En trabajos recientes se ha determinado que en ovejas y cabras, la aplicación de FSH-P en dosis decreciente origina los mejores resultados (Flores et al; 1992; Scudamore et al, 1991; Schiewe et al; 1991).

## ***SERVICIO DE LAS DONADORAS***

La fecundación de las donadoras se puede llevar a cabo por monta natural, en régimen libre o controlado, o bien por inseminación artificial, con semen fresco o congelado, que ha de introducirse por via cervical o directamente en el útero bajo control laparoscópico.

Lo importante es que la hembra reciba varios servicios utilizando semen de alta fertilidad durante el tiempo que permanezca en celo.

Cuando se llegue a utilizar semen congelado será necesario depositar el semen directamente en el útero con la finalidad de obtener altas tasas de fertilización (Ritar et al, 1987).

En caso de que se realice la fecundación por monta natural, es importante disponer de macho con fertilidad elevada, además presentar una aptitud suficiente para realizar montas repetidas.

La utilización de la monta natural para la producción de embriones está limitada por el reparto geográfico de los machos de alto valor genético, estando generalmente concentrados en los centros de inseminación artificial que están distribuidos en diferentes centros de cría.

En la monta libre, machos y hembras se dejan juntos durante el periodo estimado de celos, a razón de un macho por 3-4 hembras. Puede equiparse a los machos con un dispositivo marcador para identificar las hembras que ha cubierto.

Por otro lado cuando la monta es controlada, el macho sólo se presenta a las hembras, para efectuar montas controladas en momentos escogidos expresamente. Cada hembra debe ser cubierta al menos 2 veces con 12 horas de intervalo durante el celo. Las montas más eficaces son sin duda las realizadas entre 12 y 24 horas después de la aparición del celo

Cuando la monta se realiza en buenas condiciones produce frecuentemente más del 80% de huevos divididos. En los caprinos, fuera de la época de reproducción, el porcentaje de huevos divididos puede ser inferior (fuera de la época 75% frente al 88% en la época reproductiva; Baril y Vallet, 1990).

Cuando se recurre a la fecundación de donantes por inseminación artificial se permite valorar la calidad del semen de los machos, cuyo valor genético debe estar reconocido.

Se ha demostrado que el transporte y la supervivencia de los espermatozoides en el aparato genital femenino puede estar afectado por el uso de prostaglandinas y los tratamientos de inducción aplicados (Evans y Armstrong 1984).

Existen dos modalidades para el uso de la inseminación artificial en los pequeños rumiantes:

#### 1.- La inseminación artificial cervical

La eficacia de la inseminación artificial endocervical en los pequeños rumiantes superovulados es sensiblemente menor, comparados con la de los animales testigos no superovulados. La tasa de huevos divididos obtenidos por este método es normalmente inferior al obtenido después de la monta ( Cuadro 1., Baril et al., 1989., Moore y Eppleston, 1979., Armstrong y Evans, 1984).

Cuadro 1: Porcentaje de huevos divididos en hembras superovuladas después de la monta o inseminación artificial cervical de algunas razas de ovinos y caprinos

Método de Fecundación				Autores
Especie	Raza	Monta	I. A Cervical	
Caprinos	Alpina	71.0	60.0 <sup>1</sup>	Baril et. al. 1989.
	Saanen	(49)	(120)	
Caprinos	Angora	88.0 (38)	32.0 <sup>1</sup> (13)	Moore y Eppleston 1979
Ovinos	Suffolk White Face	96.0 (5)	82.0 <sup>1</sup>	Armstrong y Evans 1984
			(11)	
			10.0 <sup>2</sup>	
			(11)	

( ) N°. de hembras

1 Esperma fresco

2 Esperma congelado

Además se menciona que la tasa de fecundación depende en gran medida de la intensidad de la respuesta ovulatoria al tratamiento de estimulación. Como ejemplo tenemos que en cabras Alpinas o Saanens, la tasa de huevos fecundados es inferior en aquellas en que la respuesta ovulatoria es la más elevada (+15 cuerpos lúteos 49% frente a -15 cuerpos lúteos 66%, Baril et al; 1989)

Por otro lado en las ovejas Lacaune super ovuladas inseminadas dos veces a 48 y 60 horas después de retirar la esponja vaginal, la tasa de fecundación de los huevos fue de 78%, en hembras que tenían menos de 10 cuerpos lúteos, frente al 61% en aquellas que tenían más de 13 cuerpos lúteos (Brebion, 1992.)

La tasa de fecundación por I.A cervical no se mejora con el aumento del número de inseminaciones o el número de espermatozoides utilizados para la inseminación (Vallet et al, 1991; Brebion et al, 1992)

## 2 - La inseminación artificial intrauterina mediante control endoscópico

Para resolver problemas de ascenso y supervivencia espermática más allá del cervix, se realiza con frecuencia la inseminación en útero bajo control laparoscópico. De esta manera los espermatozoides se depositan más cerca del lugar de fecundación. Cualquiera que sea la especie y el método de conservación del semen, el porcentaje de huevos divididos después de la I.A. intrauterina es superior al que se obtiene por I.A. cervical (Cuadro 2., Brebion et al. 1988, Moore y Eppleston, 1979).

Cuadro 2 Porcentaje de huevos divididos según la técnica de inseminación artificial (I.A.)

Técnica de I.A.			Autores
Especie	I.A. por via cervical	I.A. Intrauterina bajo control laparoscópico	
Oveja	77% <sup>1</sup> (17)	93% <sup>2</sup> (17)	Brebion et al; 1988
Cabra	32% (13)	65% (26)	Moore y Eppleston, 1979

( ) N° de Hembras

<sup>1</sup> 2 x 400 x 10<sup>6</sup> Espermatozoides/Oveja

<sup>2</sup> 1 x 80 x 10<sup>6</sup> Espermatozoides/Oveja



En cuanto a la tasa de fecundación obtenida con este método, en la oveja Lacaune, no disminuye con el incremento de la respuesta ovulatoria.

Otra de las ventajas con el uso de este método de fecundación es que se utiliza un menor número de espermatozoides que en el caso de la I.A. cervical (Cuadro 3., Brebion et al, 1992; Baril et al, 1989, Vallet y Baril, 1990).

Cuadro 3. Número de espermatozoides ( $\times 10^6$ ) utilizados por hembra según el método de inseminación artificial.

Especie	I.A por vía cervical	I.A. Intrauterina bajo control laparoscópico	Autores
Oveja	800	80	Brebion et al; 1992
Cabra	400-600 <sup>1</sup>	100 <sup>2</sup>	<sup>1</sup> Baril et al; 1989 <sup>2</sup> Vallet y Baril, 1990

\* Espermatozoides conservados a +15° C (oveja) 0 a -196° C (cabra)

En la práctica, la inseminación artificial intrauterina tiene lugar 48-60 horas después del final del tratamiento con progestágenos.

Sin embargo tomando en cuenta la variabilidad del inicio del celo y, en consecuencia, del momento de la ovulación con relación al final del tratamiento, los estudios experimentales (Baril y Vallet, 1990) han demostrado que es preferible inseminar a las cabras teniendo en cuenta el momento de la aparición del celo, situándose el momento óptimo entre las 20 y 24 horas después del inicio del estro. (Cuadro 4, Vallet y Baril, 1990).

Cuadro 4. Porcentaje de huevos divididos y promedio de embriones transferibles en función

del intervalo entre el inicio del celo y la inseminación artificial<sup>1</sup> (Vallet y Baril, 1990)

	Celo. I.A. (horas)				
	<12	14-18	20-24	26-30	>32
% de huevos divididos	22.0	57.2	78.3	57.2	29.6
Promedio de embriones por cabra.	0.6	3.0	6.4	4.4	3.2
Número de cabras	8	22	61	33	11

<sup>1</sup> Inseminación intrauterina bajo control endoscópico,  $100 \times 10^6$  espermatozoides congelados/hembra

## TRATAMIENTO DE RECEPTORAS

Para lograr el éxito de la transferencia de embriones es muy importante que la presentación del estro coincida en los animales donantes y receptores. La sincronía puede lograrse mediante tratamiento con progestágenos para controlar el momento del estro en las hembras receptoras. No se administran gonadotrópicas, ya que no es necesario provocar la superovulación, pudiendo ser perjudicial si se forman una serie de folículos no ovulados. Normalmente, la retirada de las esponjas debe realizarse 24 hrs. antes en las receptoras que en las donadoras, ya que el intervalo de tiempo existente entre la retirada de las esponjas y la presentación del estro es más corto en las ovejas donantes que han recibido gonadotropina.

El manejo de las receptoras requiere también de consideraciones especiales para el éxito de un programa de transferencias. Los factores más importantes en el manejo de las receptoras según la asociación de veterinarios de Nueva Zelanda son:

- a) El tiempo que los animales tienen en la propiedad, esto es importante para la adaptación y socialización de animales nuevos.
- b) Historia reproductiva de los animales.
  - c) Nutrición
  - d) Condición corporal.
  - e) Salud
  - f) Instalaciones. Es importante manejar a los animales con un mínimo de stress

Por lo general se sincronizan 10 animales por donadora, cuando se lleva a cabo un programa de transferencia en fresco, de estos animales preparados un 10% no responde a la sincronización y algunas veces se desechan receptoras en el momento de la transferencia, por falta de cuerpo luteo. La sincronización de las receptoras se puede realizar por medio de esponjas intravaginales como chronogest, insertando éstas por 14-16 días, y a su retiro, se lleva a cabo una cuidadosa detección de calores, por lo menos tres veces al día. La utilización de machos vasectomizados o con chaleco protector facilita esta labor.

Resulta difícil estimar con exactitud el efecto de la falta de sincronía sobre la supervivencia de los embriones, existiendo importantes implicaciones sobre las necesidades de mano de obra para poder establecer la sincronía exacta. En algunos trabajos se han comprobado efectos en el número de gestaciones por la asincronía de sólo 8 horas (Mckelvey, Robinson y Aitken, 1985), cuestión que requiere la observación al menos cada 4 horas. Los grupos deben estar bien entrenados para observar el estro al menos dos veces al día y estudiar los resultados con mayor frecuencia. La existencia de unos resultados medio pobres o de niveles de gestaciones notablemente bajos al variar la sincronía entre 12 y 24 horas, justificaría la observación más frecuente y procurar mejorar la sincronía.

## *RECOLECCIÓN O RECUPERACIÓN DE EMBRIONES*

El proceso que se lleva a cabo para la recuperación de embriones se realiza mediante "lavados sucesivos" de ambos cuernos uterinos. Para esto se inyecta una solución fisiológica en ambos extremos de los cuernos uterinos. El flujo creado por la inyección de esta solución empuja a los embriones al extremo opuesto del cuerno uterino, donde se recuperan mediante un catéter colector.

Los días óptimos para la recolección de embriones son en el sexto o séptimo día después del inicio del celo (día 0). Este intervalo de recolección relativamente corto se debe a los siguientes factores:

- 1 - El paso de los embriones del oviducto al útero tiene lugar a partir del cuarto día.
- 2 - Por razones sanitarias, la legislación impone que el embrión se transfiera antes de su salida de la zona pelúcida, que suele ocurrir a partir del octavo día.
- 3 - La congelación de embriones no es recomendable más que para aquellos en estado de *mórula compactada* y *blastocisto*, que corresponde al sexto o séptimo día del inicio del celo. Es importante hacer una pequeña distinción entre las dos especies al ser la evolución del embrión ovino ligeramente más rápida que la del embrión caprino.
  - a) En las cabras, la proporción de *mórulas no compactadas* al sexto día es todavía elevada, por lo que es conveniente en esta especie efectuar la recolección el séptimo día si los embriones han de ser congelados. En caso contrario, y particularmente en la cabra de Angora, en la que es frecuente la luteólisis prematura, la recolección de embriones puede efectuarse tras el lavado de los oviductos entre los días 2 y 4 con la finalidad de limitar los riesgos de pérdida de embriones afectados por este fenómeno, aumentando de esta forma la producción de embriones.
  - b) En los ovinos la liberación del *blastocisto* de la zona pelúcida comienza a partir del séptimo día, siendo por tanto aconsejable, en esta especie, recoger los embriones el sexto día después del inicio del celo.

## ***MÉTODOS DE COLECCIÓN DE EMBRIONES***

Debido a la dificultad de atravesar el cuello uterino y lo complicado que es el manipular los cuernos uterinos por palpación rectal como en los bovinos y equinos, la colección de embriones por vía genital natural (vía cervical) es aún una técnica poco desarrollada en los pequeños rumiantes. La colección de embriones se realiza generalmente por el método quirúrgico (laparotomía abdominal) o bajo control endoscópico (endoscopia o laparoscopia). Cualquiera que sea el método a utilizar, el material debe ser previamente esterilizado y la recuperación debe ser lo más aséptica posible

### ***COLECCIÓN QUIRURGICA (LAPAROTOMÍA)***

La metodología para recuperar embriones en pequeños rumiantes fué descrita por primera vez por Hunter et al, 1955. En general consiste en realizar una laparotomía medio ventral. En la actualidad se utilizan los mismos métodos con algunas modificaciones. Los embriones pueden ser recuperados a nivel de oviductos o cuernos uterinos.

La colección de los embriones debe hacerse preferentemente entre los días 5 a 7 posteriores a la primera inseminación o servicio, ya que en estos días los embriones se encuentran en los cuernos uterinos y su estadio de desarrollo corresponde al de mórula compacta o blastocisto. El coleccionar los embriones en estos estadios de desarrollo, permite además su congelación exitosa (Buckrell, 1989; Oldham, 1980; Valencia, 1981)

Se puede realizar la recuperación de los embriones por medio de un laparoscopio, lo cual es difícil, o mediante laparotomía media ventral, la cual más adelante se describirá en forma general. Con esta técnica se permite la exteriorización del útero y su adecuada manipulación, lograndose la colección del mayor número de embriones (Scudamore, 1993; Schiewe, 1991).

Se han realizado varios estudios experimentales de transferencias de embriones y en la mayoría de ellos, la recolección de los mismos ha sido mediante la técnica de laparotomía ventral con algunas modificaciones. sobre todo en la preparación de los medios en los cuales se van a recuperar los embriones para su identificación y clasificación para posteriormente ser transferidos

Por lo anterior se describe en forma general el proceso de recuperación de embriones, en el cual se incluyen los datos más importantes de las diferentes investigaciones que se han realizado para el desarrollo de esta técnica

Se somete a la hembra a una dieta de 24 hrs Para poder realizar la cirugía, se administra un anestésico general vía endovenosa, se coloca en decúbito dorsal y una vez rasurada y limpia la región abdominal ventral, se administran puntos de Xilocaina, posteriormente se realiza una incisión sobre la línea media y a dos centímetros de la base de la ubre; una vez expuesto el tracto reproductivo, se determina en ambos ovarios el número de cuerpos lúteos (CL) y folículos persistentes (FP).

Por último se realiza una pequeña incisión cerca de la bifurcación del útero y a través de ella se introduce una sonda de Foley de dos vías del tamaño apropiado, se infla con aire el globo de la sonda hasta que se fija en la cavidad uterina, se introduce el medio de lavado con una jeringa y aguja delgada con punta roma haciendo una incisión en la parte más delgada del cuerno uterino cerca de la unión útero-tubárica.

Después de que se introdujo el medio, el cuerno es masajeado cuidadosamente con la finalidad de recuperar la mayor cantidad de medio posible. Este último fluye por gravedad y es recolectado en cajas de petri En seguida se desinfla el globo de la sonda y ésta es retirada, para posteriormente suturar la incisión realizada en la base del cuerno La operación se repite en el cuerno contrario y finalmente se sutura la incision cornual y los planos abdominales en forma usual.

Las cajas en el medio se conservan en una estufa a 37°C la identificación y evaluación de embriones se realiza con la ayuda de un microscopio estereoscópico, para posteriormente ser transferidos o congelados.

Las soluciones comunmente usadas por diversos autores de algunos trabajos realizados para la recuperación de embriones son los siguientes.

- 1 - Solución de 80% de solución buffer fosfato y 20% de suero de becerro neonato (León et al , 1992)
- 2 - Solución de Hartman enriquecida con 1% de suero fetal bovino termoinactivado (a 56°C durante 30 minutos) y buferada con bicarbonato de sodio (Cordova et al. 1990)
- 3.- Solución que contiene 10cc de medio Dulbeccos (a 37°C) modificado y enriquecido con 2% de suero fetal caprino (Avedaño et al; 1984)
- 4 - Solución amortiguadora fosfatada ( 90% PBS). con suero de becerro neonato (10%), (García et al , 1991)

5 - Solución del medio de Dulbecco modificado (PBS- modificado), el cual es una solución buffer a base de fosfato enriquecido con antibióticos ( penicilina; 1000 U I /ml Y estreptomycin 1 mg/ml.) y suero termo inactivado (1-2%) o albúmina sérica de bovino ( 0.05-0.1%) (Tervit y Havik, 1976; Amoah y Gelaye, 1991, Rangel, 1991).

Para finalizar, es importante mencionar que con esta técnica laparotómica se pueden ocasionar adherencias en el aparato reproductor, por lo que el uso de hembras de alto valor genético de las que se obtienen los embriones se reduce (Schiewe et al, 1991).

Sin embargo, la correcta realización de la recuperación de embriones mediante esta técnica (manejo delicado y evitando el sangrado y deshidratación del útero ) permite llevarla a cabo en la misma hembra donadora en repetidas ocasiones

### ***COLECCIÓN POR VIA GENITAL NATURAL ( CERVICAL )***

En este método de recolección de embriones se describirá lo más relevante para no profundizar demasiado, ya que es una técnica no muy usual

Primeramente se realiza la tranquilización y la anestesia del animal, luego se coloca en una mesa de sujeción en decúbito dorsal. Posteriormente se introduce un espéculo en la vagina, el espéculo deberá contar con dispositivo de iluminación, se sujeta el cuello uterino con una pinza atraumática que se coloca en la parte anterior de la vagina. El operador introducirá un dedo en el recto del animal con el fin de guiar el paso de la sonda de recolección en el orificio del cervix ( Coonrod et al, 1986).

Una vez que la sonda de recolección haya atravesado los anillos cervicales y haya llegado al cuerpo del útero, se infla el manguito con aire con una jeringa unida a la sonda, permitiendo que se obstruya el cuerpo del útero y se evite el paso del líquido de recolección hacia la vagina. Logrado lo anterior se inyecta el medio de colección ( 10-20 ml de PBS) en el útero, recuperándolo después con la ayuda de la sonda de recolección (ambos cuernos se lavan simultáneamente) Se realizan varios lavados sucesivos hasta totalizar 100 a 200 ml del medio de líquido de recolección por hembra

## ***COLECCIÓN O RECUPERACIÓN DE EMBRIONES MEDIANTE EL METODO DE ENDOSCOPIA O LAPAROSCOPIA***

El animal anestesiado se coloca sobre una mesa de sujeción en decúbito dorsal. Se rasura y se lava perfectamente el campo operatorio, y se desinfecta con alcohol yodado. Se practica una primera punción a unos 4-5 cm delante de la ubre y a 10-15 cm a la izquierda de la línea blanca para colocar la cánula (diámetro aprox. 7 mm) que se conecta con el endoscopio.

Después de haber insuflado aire filtrado en la cavidad abdominal para separar las vísceras de los órganos genitales (creación de un pneumoperitoneo), se coloca una segunda cánula (5 mm diámetro) en el lado opuesto a la primera con referencia a la línea blanca, con el objeto de introducir una pinza atraumática para la manipulación del tracto genital.

Con ayuda de la pinza, se pueden contabilizar los cuerpos lúteos presentes en cada ovario. Posteriormente se sujeta uno de los cuernos por la base con el fin de puncionarlo con una aguja de Mintz.

Se coloca una tercera cánula de 5 mm de diámetro a nivel de la línea blanca a 15 cm de la ubre, para pasar una sonda de 3 vías, introduciendo el extremo de la misma por el orificio de la punción dentro de la luz uterina.

Con la ayuda de una jeringa, se infla el globito introducido con la sonda (vía 1) para obstruir la luz uterina en la base del cuerno. a continuación se introduce el extremo de un catéter (vía 2) insertado en el cuerpo de la sonda (vía 3) lo más cerca posible de la unión útero-tubárica. Se fija la pinza sobre el istmo con el fin de evitar que el líquido de recolección pase el oviducto.

El líquido de recolección se inyecta a través de la sonda a razón de 40-50 ml por cuerno. La presión que se crea de esta manera en el interior del cuerno uterino posibilita la recolección del líquido por el catéter. El medio líquido de colección inyectado por el catéter se recupera por la sonda colocada en la base del cuerno.

Por último cabe hacer mención que de las formas de recuperación de embriones, la más usual y difundida es la técnica de laparotomía media ventral, ya que está comprobado que el porcentaje de huevos recogidos es más elevado en comparación con las otras técnicas.

## *BÚSQUEDA Y EVALUACIÓN DE EMBRIONES*

Se realiza con la ayuda de un microscopio estereoscópico. Para la búsqueda se utiliza una baja magnificación (10x) y para la evaluación una alta magnificación (40-100x). Existen varias formas para evaluar la calidad de los embriones y los parámetros más comúnmente utilizados incluyen forma, color, número y grado de compactación de los blastómeros, tamaño del espacio perivitelino, número de blastómeros extruidos y degenerados y el número y tamaño de vesículas presentes (Lindner y Wright, 1983).

De acuerdo a los aspectos morfológicos del embrión, se han clasificado en varias escalas. A continuación se mencionan las más relevantes:

- 1.- Embrión de calidad buena: Se considera que es el embrión ideal ya que es esférico, simétrico con células de tamaño, color y textura uniformes.
- 2 - Embrión de calidad regular: Es de forma definida y sin defectos severos, presenta blastómeros extruidos, vesículas y algunas células degeneradas.
- 3.- Embrión de calidad pobre: Presenta varios defectos, numerosos blastómeros extruidos, células degeneradas, células de tamaño variable y una gran cantidad de vesículas grandes. Pero a pesar de lo anterior, presenta una masa embrionaria aparentemente viable.



## ***TRANSFERENCIA DE EMBRIONES***

El trasplante de embriones es un método de reproducción artificial basado en la transferencia, antes de la implantación, de embriones generados por una hembra donante (madre genética) a hembras receptoras (madres portadoras) que aseguran el desarrollo de los mismos hasta el final. El interés principal del trasplante de embriones es aumentar la descendencia de las hembras que se consideran mejores desde el punto de vista genético.

Se han propuesto varios métodos para efectuar el trasplante de embriones en ovinos y caprinos. A tal efecto precisaremos las características y condiciones de algunos factores que influyen en el éxito de los trasplantes.

**A: Calidad de los embriones.** La calidad y la supervivencia de los embriones que no presentan algún defecto visible es siempre considerablemente superior a la de los embriones de calidad inferior.

**B: Número de embriones transferidos** El número óptimo recomendado es de dos embriones por receptora

**C: Momento del trasplante.** En el caso de trasplante directo de embriones sin crioconservación intermedia, el intervalo desde la recolección a la colocación en las receptoras no debe exceder de dos horas. En cuanto a los embriones conservados en nitrógeno líquido, el intervalo entre la descongelación y el trasplante debe reducirse al mínimo, o sea, 20-30 min Aproximadamente

**D Transplante uni o bilateral.** El trasplante de un embrión en cada cuerno (transferencia bilateral) no aumenta la tasa de éxitos con relación al obtenido con la colocación de dos embriones en un mismo cuerno (transferencia unilateral) Por lo general los embriones se transfieren al lado ipsilateral al ovario que presenta el mayor número de cuerpos lúteos funcionales.

**E Lugar del trasplante** Los embriones recogidos al 6º o 7º día después del celo se depositan en el tercio superior del cuerno uterino, es decir en la parte próxima a la unión útero-tubárica

**F Sincronización donante-receptora** Aquí lo ideal es una sincronización perfecta de los estadios fisiológicos entre donantes y receptoras

**G Respuesta ovulatoria de la receptora** El índice de supervivencia de los embriones transplantados es más elevado en las receptoras que presentan dos cuerpos lúteos que en aquellos que presentan sólo uno

Se debe considerar la apreciación visual de la calidad de los cuerpos lúteos. De igual manera se rechazará toda receptora que presente uno, o varios folículos de gran tamaño no ovulados, responsables de un entorno hormonal inadecuado.

## ***MÉTODOS DE TRANSPLANTE DE EMBRIONES***

### **1: Transplante por vía quirúrgica (laparotomía).**

Se comienza por la anestesia de la receptora. Se prepara el campo operatorio igual que para la recolección. Se realiza una incisión en la línea media la cual permite la exposición del útero, cuernos, oviductos y ovarios. Al realizar la transferencia, primeramente se visualizan los ovarios para confirmar la presencia del o los cuerpos lúteos, que es requisito mínimo indispensable antes de transferir un embrión; el cuerno uterino se exterioriza y aproximadamente 3 cm. antes de la unión utero-tubárica, se realiza una perforación con una aguja de punta roma con dirección al cuerpo del útero, después, con ayuda de una pipeta se controla en el microscopio para asegurarse de que el embrión fue transferido. En cabras que tienen una sola ovulación se han transferido 2 embriones ipsilateral al cuerpo lúteo o un embrión en cada cuerno, sin afectar la sobrevivencia embrionaria.

### **2: Transplante mediante endoscopia o laparoscopia**

Debido que la metodología de esta técnica es similar al de la recolección de embriones, que ya se describió anteriormente, basta con mencionar que la laparoscopia al ser una cirugía invasiva menor, es segura y relativamente sencilla, y como la manipulación del útero con el uso de esta técnica es mínima, la formación de adherencias disminuye notablemente. Además de la transferencia de embriones con el uso de la laparoscopia se puede estudiar la morfología ovárica, la tasa de ovulación, la aspiración de folículos, así como realizar la inseminación artificial intrauterina o diagnósticos de gestación. (Schiewe et al., 1984)

Es importante comprobar que todos los animales seleccionados para entrar a un programa de T.E se encuentren clínicamente sanos, en buena condición corporal y sexualmente maduros. Las hembras deben estar ciclando preferentemente de forma natural, por lo que la mejor época para la realización de un programa de colección y transferencia embrionaria es durante la época reproductiva.

### 3 Transplante por vía natural ( cervical)

Si bien los primeros experimentos de transferencia por esta vía se hicieron en los caprinos hace más de 30 años (Otsuki y Soma, 1964), se dispone todavía de poca confiabilidad, ya que los resultados son a menudo poco convincentes

Se prepara la receptora de igual manera que para la recolección de embriones por vía cervical. Después de haber desplazado el cérvix hacia la parte anterior de la vagina, el operador coloca el catéter con los embriones en la porción cervical facilitando su progresión por los anillos del cuello, ayudándose para ello con un dedo a través del recto

El paso del catéter dentro del orificio del cuello no siempre es posible en la cabra y menos todavía en la oveja. Los embriones se expulsan en la base de uno de los cuernos o dentro del cuerpo del útero, siendo siempre incierto el punto exacto alcanzado por el extremo del catéter. Por otra lado, ésta técnica no permite recabar conocimiento alguno del estado ovárico de la receptora. Por consiguiente muchas de las veces los embriones serán depositados en el cuerno contrario al ovario que posee el cuerpo o cuerpos lúteos, incluso en las hembras que no hayan ovulado después de la sincronización.

La elección entre los métodos quirúrgico, laparoscópico o cervical se basa en la evaluación correcta de las condiciones en que se podrán llevar a cabo las operaciones respectivas: nivel de dominio técnico de los operadores, tiempo medio invertido para efectuar los transplantes, grado de asepsia, calidad del entorno y de los cuidados posoperatorios de los animales

## *CRIOPRESERVACIÓN DE EMBRIONES*

La historia del congelamiento de los embriones de mamíferos se remonta a la época de los años 50. La posibilidad de realizar su congelamiento ofrece las ventajas de mantener a los embriones almacenados durante un tiempo indefinido ( a una temperatura de  $-196^{\circ}\text{C}$ ) en nitrógeno líquido.

Uno de los mayores logros científicos en la embriología, ha sido el de conservar un individuo en desarrollo fuera del útero materno, por periodos indeterminados de tiempo gracias a la congelación.

El trasplante exitoso de embriones descongelados con nacimiento de corderos normales fue realizado por Willadsen et., al. 1977. Bilton y Moore en 1976. reportaron el primer nacimiento de una cabra por este método.

La congelación de los embriones tienen las siguientes ventajas:

La conservación de embriones sobrantes cuando estos sobrepasan al número de receptoras.

Descongelación y transferencia a receptoras cuando éstas tienen su estro natural, independiente de la sincronización.

Transporte de embriones ( importación – exportación ), con la ventaja de reducción de costos, ya que en lugar de transportar animales vivos se pueden transportar un gran número de embriones en un termo con nitrógeno líquido., además con la ventaja de no tener que recurrir a periodos de cuarentena.

Almacenamiento de embriones de un animal determinado para su venta posterior.

Establecer una cuarentena en los embriones hasta realizar las pruebas necesarias para determinar si la donadora está libre de enfermedades.

Aportar conocimientos básicos sobre la congelación de células vivas.

# **ESTA TESIS NO SALE DE LA BIBLIOTECA**

Establecer bancos de semen hasta ver los resultados de ciertos esquemas genéticos de larga duración.

Hacer la técnica de transplante de embriones más práctica y menos costosa

Por último se deben considerar ciertos factores que son de importancia para el congelamiento de embriones, entre los cuales se encuentra

- a) Temperatura de congelación
- b) Velocidad de congelación y descongelación
- c) Calidad del embrión y estadio de desarrollo ( mórulas tardías y blastocistos ).

## *CONCLUSIONES*

La transferencia de embriones es una técnica extraordinariamente importante que realiza una función única en los trabajos de investigación (Wilmot, 1982) Se ha realizado una aplicación comercial relativamente escasa de la técnica. No obstante la producción ovina y caprina obtendría más beneficio con la aplicación del proceso acompañado de la transferencia de genes.

La complejidad del método, unido a un resultado final relativamente modesto, limita el interés económico del trasplante de embriones en pequeños rumiantes.

Es particularmente importante en estas especies asegurar una eficacia lo más elevada posible con el método del trasplante de embriones para conseguir un costo lo más bajo posible.

Para ello, el primer objetivo será efectuar la selección de la técnica más apropiada con perfecto conocimiento de las posibilidades de optimización de los resultados.

No obstante, siguiendo las técnicas adecuadas, la eficacia de las operaciones queda condicionada a la correcta realización práctica. El personal encargado deberá dar pruebas de un dominio suficiente en cada etapa del proceso: inseminación artificial, anestesia de los animales, recolección, búsqueda de los embriones, examen, conservación y trasplante.

Aunque esta técnica todavía no es muy difundida en los pequeños rumiantes a nivel mundial, países como Australia y Nueva Zelanda la han utilizado eficazmente en la multiplicación de una raza.

Para México la aplicación de esta técnica particularmente en ganado caprino representaría la oportunidad de introducir nuevas razas como por ejemplo la raza Boer que es una raza especializada en producción de carne, o razas lecheras francesas o canadienses, esto permitiría la formación de un núcleo de animales con un alto valor genético y por medio de esta técnica se podría pensar en crear un sistema de selección conocido como MOET ( ovulación múltiple y transferencia de embriones ) ya aplicado con éxito en ganado bovino.

Finalmente el éxito del trasplante de embriones no deberá sufrir limitaciones por falta de disponibilidad de equipo necesario de materiales y productos.

## BIBLIOGRAFIA

- Amoah, E. R., A. and Gelaye, S. (1991). Embryo recovery, evaluation, storage and transfer in goats. *Small Ruminant Research* 6:119-129.
- Armstrong, et. al; (1983).1 Endocrine responses of goats after induction of superovulation with PMSG and FSH. *J. Reprod Fert.* 67. 395-401.
- Armstrong, et. al., (1983).2 Superovulation and Embryo transfer in Angora goats: MRC group in *Reproductive Biol* 339.
- Armstrong, D.T. and Evans. G. (1984). Intrauterine insemination enhances fertility of frozen semen in superovulated ewes. *J. Reprod. Fert.* 71:89-94.
- Avendaño E. R., A. Rosales T., V. Sánchez G., F. Zepeda M. y S. Madrigal G. (1984) Superovulación y colección embrionaria en cabras. Reunión de investigación pecuaria en México. Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco, Calz. del Hueso 1100. Col. Villa Quietud, Coyoacan, 049 60, México. D. F. : 333-335
- Baril. B., Casamitjana, P., Perrin. J. and Vallet, J.C. (1989). Embryo production, freezing and transfer in Angora. Alpine and Saanen goats. *Zutchthygiene* 24:101-115
- Baril. G. and Vallet, J.C. (1990). Time of ovulations in dairy goats induced to superovulated with porcine follicle stimulating hormone during and out of the breeding season. *Theriogenology* , 34:303-311.
- Bilton. R. J. and Morore, N.W (1976). In vitro culture, storage and transfer of goat embryos. *Aust. J. Biol. Sci* 29:125-129.
- Bindon. B. M. and Piper, L. R (1982). Physiological basis of the ovarian response to PMSG in sheep and cattle In: *Embryo Transfer in Cattle, Sheep and Goats. Proc.Symp. Canberra. Australia. May 1981 Aust. Soc. Reprod. Biol.*pp. 1-5
- Brebion. P., Lajous. D., Poulin. N., Procureur. R. and Vallet, J.C., (1988). Intrauterine Insemination increases fertilization rate and embryo quality in superovulated Lacaune ewes. 4 th Scientific Meetin of European Embryo Transfer Association. Lion, france, 1:95 (Abstract)

Brebion, P., Baril G., Cognie, Y. and Vallet, J.C.. 1992. Transfert d' embryons chez les ovins et les caprins. *Ann. Zootech.* 41: 331-339

Buckrell, B. C, Gartley, C.J., And Johnson. W.H. (1989). Results of a commercial sheep embryo transfer program. *Theriogenology* . 31:178.

Cognie y, Hernández, Barreto M Saumade J.(1975) Low Fertility in nursing ewes during the non-breeding season. *Ann Biol. Anim Bioch Biophys* ,15(2): 329-43

Coonrod, S.A, Coren, B. R., McBride, B.L. Bowen. M. Jand Kraemer. D.C (1986) successful non-surgical collection of ovine embryos. *Theriongenology*, 25-149

Córdova, S.L.A., Hernández L.J. y Castro G.E. (1990). Utilización de anticuerpos monoclonales contra la PMGS durante la superovulación de cabras. VI Reunión Nacional sobre Caprinocultura. San Luis Potosí. Méx. Pág 123-126.

Derivaux. J. (1976). Reproducción de los Animales Domésticos. Editorial Acribia. Zaragoza, España.

Eppleston, J. (1982). Emryo transfer procedures in the goat: Physiological and procedural differences in Supervulation and transfer between Sheep and goats. embryo transfer symposium of the Australian National University, 14-15, may 1982

Eppleston, J. (1982). Emryo transfer procedure in the goat: Physiological and procedural differences in superovulation and transfer between sheep and goats. Proc. Symp. Canberra Australia, May 1981. Aust. Soc. Reprod Biol. pp. 41-43

Evans G, Maxwell WMC. Salamon's Artificial Insemination of Sheep and Goats-Sydney: Butterworths, (1987).

Fitzpatrick RJ.(1980).Pregnancy and parturition. En: Marrow D.A, editor. Current Therapy in Theriogenology: Diagnosis, treatment and prevention of reproductive diseases in animals Philadelphia. WB Saunders. 891-3.

Flores-Foxworth, G. Foxworth.B., and Nuti.L (1992). Embryo transfer in kenyan goats. Proceedings of a workshop on embryo transfer held on 14 th june 1991 at Sam Holiday In Naivasha. Kenia.

Gall. C. (1982). Ziegenzucht. Stuttgart: Ulmer



García, C.J.,N.M. Gómez R. y E. Díaz Y. (1989). Efecto de la naloxona en cabras sincronizadas con PGF<sub>2</sub>α. Memorias de la VI Reunión Nacional sobre Caprinocultura. 26-28 de Septiembre de 1990. San Luis Potosi. S.L.P.

Gordón.I.(1977). Application of synchronization of estrus and ovulation in sheep Symposium "Management of Reproduction in sheep and goats" Madison Wisconsin July 24th.

Hafez, E.S.E.(1987).Reproduction in Farm Animals. 6th de Lea and Febiger.USA

Hancock J.L. and Mc. Govern, P.T. (1968) Transfer of goat sheep hybrid eggs to sheep and reciprocal transfer of eggs between sheep and goats. Res. In vet. Sci 46:143-149.

Henderson DC.(1991).The reproductive cycle and its manipulation. En: Martin WB,Aitken ID. Diseases of sheep . 2nd de. Oxford.Blackwell Scientific Publications .

Hunter, G.L. Adams. C.E. and Rowson, L.E.A. (1955). Inter-breed ovum transfer in sheep. J. Agric.Sci. Camb. 46:143-149.

Hunter, R.H.F. (1982) Fisiología y tecnología de la reproducción de la hembra de los animales domésticos. Ed. Acribia. Zaragoza. España pp. 249-258

Larsson, B., Gustafsson. A., Nashlóm. A. and Bjurström, (1991). A programme for oestros synchronization and embryo transfer in sheep. Reprod. Dom. Anim. 26:301-308

León. T.M.L., J. García C.G. Padilla R. (1992). Efecto de la naloxona como uniformador de cuerpos lúteos para transferencia de embriones. IX Congreso Nacional Caprino Facultad de Agronomía. Universidad Autónoma de Nuevo León Carretera Zuazua-Marin km. 17.5 Marin, N.L., México.:87-90.

Lidner, G.M. and Wright. R.W. Jr. (1983). Bovine embryo morphology and evaluation Theriogenology 20:407-416

Mc Kelvey. W A.C., Robinson. J.J and Aitken. R.P. (1985). A simplified technique for the transfer of ovine embryos by laparoscopy. Veterinary Record. 117.492-494

- Moore, N.W. and Rowson. L.E.A. . (1960) Egg transfer in sheep factors affecting the survival and development of transferred eggs. *J. Reprod. Fert.*, 1:332 (Abstract).
- Moore. N.W. and Eppleston. J. (1979).1 Embryo transfer in the Angora goat, *Aust. J. Agric. Res.* 30:973-981
- Moore N.W. and Eppleston. J.(1979).2 The control of oestrus ovulation and fertility to artificial insemination in Angora goat. *Aust. J. Agric. Res.* 30:965-972.
- Nibart, M., (1981). Le transfert embryonnaire et les biotechnologies appliquées: bissection et sexage. *Recueil de Médecine Veterinaire. Special, Reproduction des Ruminants*, 261-290
- Nuti. L.C., Minhas, B.S. Baker. W.C., Capehart, J.S. and Marrack. P. (1987) Superovulation and recovery of zygotes from Nubian and Alpine dairy Goats *theriogenology* 28:481-488
- Oldham. C.M. and Lindsay. D.R. (1980) Laparoscopy in the ewe: a photographic record of the ovarian activity of ewes experiencing normal or abnormal oestrus cycles. *Animal Reproduction Science* 3:119-124.
- Otsuki, K. and Soma, T. (1964), Transfer of fertilized ova through the cervix in the goat. *Nat. Instit. Anim. Ind. Chiba, Jen. Bull* 6:27-32
- Peláez, J.H. (1991). Transferencia de embriones en cabras. *Memorias del VIII Congreso Nacional AZTECA. Universidad Autónoma Metropolitana - I*, 55-59 Octubre.
- Pendleton, R.J., Youngs. C.R. Rorie. R. W., Pool. S.H., Memon. M.A. And Godke, R.A. (1992) Follicle stimulating hormone versus pregnant mare serum gonadotropin for superovulation of dairy Goats. *Small Ruminant Research* 8:217-224
- Rangel, S.R. (1991) Investigations into procedures for the implementation of a multiple ovulation and embryo transfer scheme using ewe lambs. Thesis Ph. D. Massey University, New Zeland 233p.

Riera GS (1982). Reproductive efficiency and management in goats. proceedings of the 3rd International Conference on Goat Production and Disease; Tucson, Arizona.

Riera GS.(1984).Some similarities and differences in female sheep and goat reproduction. Proceedings of the 10th International Congress on Animal Reproduction; Urbana-Champaign .

Ritar, A.J., Ball, P., Black, T. Jackson, R.B. O'May,P, Heazlewood, F. and Graham, G. (1987). AI of cashemere goats: Effect of CIDR or sponge, dose of frozen thawed, and time of cervical or laparoscopic insemination. Proc 19 th Annual Conf. of the Aust. Soc. for Reprod Biol 28 (Abstr)

Schiewe, M.C., Bush, M., Stuart, L.S. And Wildt, D.E. (1984). Laparoscopic embryo transfer in domestic sheep:a preliminar study *Theriogenology* 22:675-682

Schiewe, M.C., Fitz, T.A., Brown, J.L. Stuart, L.D and Wild. D.E. (1991) Relationship of oestrus synchronization method · circulating hormones, lutenizing hormone luteal and prostaglandin F<sub>2α</sub> receptors and luteal progesterone concentration to premature luteal regression in superovulated sheep. *J. Reprod. Fert.* 93:19-30.

Scudmore, C.L., Robinson, J.J., Aitken, R.P., Kennedy D.J., Ireland, S. and Robertson, I.s. (1991).1 Laparoscopy for intrauterine insemination and embryo recovery in superovulated ewes at a commercial embryo transfer unit *theriogenology* 35:329-337

Scudamore. C.L. Robinson, J.J. Aitken, R.P. (1991).2 The effect of timing of laparoscopic insemination in superovulated ewes, with or without sedation, on the recovery of embryos, their stage of development and subsequent viability. *Theriogenology* 35: 907-914

Scudamore. C.L., Robinson, J.J., Aitken, R.P and Robertson, I.S. (1993) The effect of oestrus synchronization on the response of ewes to superovulation whit porcine follicle stimulating hormone. *Animal Reproduction Science* 34:127-133

Shelton, M. (1978) Reproduction and breeding o goats. *J. Dairy Sci* 61,994-1010

Shelton M.(1979).Comments on the reproductive phenomenon of goats. Proceedings of the 8th National Goat Breeders Conference. Perth: 85-92.

Tervit, H.R. and Havik, P.G. (1976) A modified technique for flushing ova from the sheep uterus. *N.Z. vet J.* 24:138-140.

Tervit, H.R., Goold, P.G. McKenzie, R.D. (1985) Embryo transfer in Angora and Sannen goats. *New Zealand vet. J.* 33. 78-80

Trounson, A. O.; Willadsen, S.N and Moore, R.M. (1976) Effect of prostaglandin analogue clo-prostenol on oestrus, ovulation and embryonic viability in sheep, *J. Agric. Sc.* 86: 609-611

Valencia, J.J. (1981) Transplante de embriones en la oveja. *Memorias del curso Aspectos de Reproducción Ovina. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México.* 143-149 Octubre

Vallet, J.C., Casamitjana, P., Brebion, P. and Perrin, J.(1991). Techniques de production, de conservation et de transfert d'embryons chez les petits ruminants. *Recueil de Médecine vétérinaire, Spécial Reproduction des Ruminants.* 1:293-301

Warwick, B.L., Berry, R.O. and Horlacher, W.R., (1934) Results of mating rams to Angora females goats. *Proc. Am. Soc. Anim. Prod.*, 225 (Abstract)

Wilmot, Y. (1982) Applications of egg transfer to animal production, breeding, and research . In *Mammalian Egg transfer*. edited by C.E. Adams, pp. 211-230. Baton Rouge, Florida: CRC Press.

Willadsen, S.M. (1977) Factors affecting the survival of sheep embryos during deep-freezing and thawing In *The Freezing of Mammalian Embryos*. edited by K. Elliot and J. Whelan, pp. 52. 175-201. CIBA Foundation Symposium.