



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

INSEMINACIÓN INTRAUTERINA DE BORREGAS DOMÉSTICAS  
SUPEROVULADAS CON MICROBOMBAS OSMÓTICAS COMO  
MODELO PARA BORREGAS CIMARRÓN

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

PRESENTA

JUAN DE DIOS LEÓN ZAVALETA

Asesores:

Dr Vicente Octavio Mejía Villanueva

MVZ MPA Jorge Armando Álvarez León

México, D.F.

2009



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



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

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

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

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

## AGRADECIMIENTOS

A MIS PADRES, GRACIAS POR APOYARME SIEMPRE Y SER UNA INSPIRACIÓN PARA LOGRAR TODAS MIS METAS.

A MI HERMANO, QUE A PESAR DE LA DISTANCIA SIEMPRE ME HA APOYADO A LO LARGO DE LA CARRERA.

A MI NOVIA POR ESTAR A MI LADO EN LAS BUENAS Y EN LAS MALAS, PERO SOBRE TODO POR HABERME APOYADO SIEMPRE DURANTE LA ELABORACIÓN DE LA TESIS .

A MIS ASESORES, POR SU PACIENCIA Y POR TODOS LOS CONOCIMIENTOS QUE COMPARTIERON CONMIGO PARA LA REALIZACIÓN DE ESTE TRABAJO.

AL CEPIPSA, POR SER UNO DE LOS PILARES EN MI FORMACIÓN YA QUE AQUÍ HE PODIDO PONER EN PRÁCTICA MIS CONOCIMIENTOS Y POR HABERME PRESTADO LOS ANIMALES PARA LA REALIZACIÓN DE ESTE PROYECTO.

A MIS AMIGOS, QUE HAN ESTADO A MI LADO COMPARTIENDO MOMENTOS INOLVIDABLES.

# CONTENIDO

Página

RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	3
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	5
HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	20
MATERIAL Y MÉTODOS.....	21
RESULTADOS.....	28
DISCUSIÓN.....	30
CONCLUSIONES.....	32
REFERENCIAS.....	33

# **INSEMINACIÓN INTRAUTERINA DE BORREGAS DOMÉSTICAS SUPEROVULADAS CON MICROBOMBAS OSMÓTICAS COMO MODELO PARA BORREGAS CIMARRÓN.**

(Bajo la dirección de: MVZ. Octavio Mejía Villanueva, y MVZ. Jorge Armando Álvarez León). **Financiado por el Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT IN217209-3).**

## **RESUMEN**

Con la finalidad de desarrollar un modelo de superovulación para producir embriones en borregas Cimarrón, 16 borregas domésticas divididas en dos grupos, fueron sincronizadas con FGA, superovuladas con FSH e inseminadas intrauterinamente. Para la sincronización, en ambos tratamientos se insertaron esponjas vaginales con 20 mg de FGA durante 12 días. El grupo testigo TI (n=8) fue superovulado durante tres días, mediante la administración intramuscular de 180 mg de FSH en 6 aplicaciones decrecientes cada 12 h. El grupo tratado TII (n=8) se superovuló con 180 mg de FSH totales, de los cuales 150 mg fueron administrados subcutáneamente mediante tres microbombas osmóticas (cada una con 50 mg), más una inyección intramuscular de 30 mg. La detección del estro se realizó cada 6 h y las hembras se inseminaron intrauterinamente mediante laparoscopia, con dos dosis de semen fresco a una concentración de  $100 \times 10^6$  espermatozoides. La recolección de los embriones se realizó a través de laparotomía medio ventral el día 7 posterior a la detección del estro. En la respuesta a la sincronización, no se reportaron diferencias significativas entre tratamientos ( $P > 0.05$ ) considerando el tiempo de presentación y la proporción de hembras en estro, ya que el total de las borregas (n=16) lo presentó de las 24 a 36 h posteriores al retiro del FGA. Se evaluó la respuesta a la superovulación contando el

número de cuerpos lúteos y clasificándolos en normales o en regresión. Las estructuras recolectadas fueron clasificadas morfológicamente en ovocitos o embriones. Se obtuvieron  $14.75 \pm 2.10$  CLT en TI y  $10.13 \pm 1.46$  en TII;  $12.63 \pm 2.60$  CLN en TI y  $10.13 \pm 1.46$  en TII;  $2.13 \pm 1.46$  CLR en TI y 0.00 en TII. Se recolectaron  $8.88 \pm 1.83$  ESTOT en TI y  $4.88 \pm 1.36$  en TII;  $6.63 \pm 2.01$  EMB en TI y  $4.88 \pm 1.36$  en TII, así como  $2.25 \pm 1.01$  OVO en TI y 0.00 en TII. Entre tratamientos no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en estos los valores de estas variables ( $P > 0.05$ ). En el porcentaje de recuperación se encontraron diferencias significativas entre TI (65.74%) y TII (48.15%) ( $P < 0.05$ ). Tanto la superovulación con microbombas osmóticas como la inseminación intrauterina permiten la obtención de embriones en ovejas domésticas y esta metodología, podría contemplarse para obtener embriones en borregas Cimarrón.

**Palabras clave:** ovejas, Cimarrón, superovulación, microbombas osmóticas, inseminación intrauterina.

## INTRODUCCIÓN

El Cimarrón (*Ovis canadensis*) es una de las dos especies de borregos silvestres, que habita tanto en México, como en Estados Unidos y Canadá; la otra especie, el borrego Dall (*Ovis dalli*) se encuentra únicamente en Estados Unidos (Alaska) y el norte de Canadá.<sup>1</sup> En México, el borrego Cimarrón es altamente apreciado regional, nacional e internacionalmente, ha adquirido un importante valor económico debido a que es el mamífero de caza de mayor demanda. Sin embargo, no existen hasta el momento acciones claras para su conservación y aprovechamiento sustentable.<sup>1</sup>

En nuestro país se encuentra en situación de riesgo por diversos factores, entre los que pueden mencionarse el desmedido crecimiento de la población humana, la caza irracional, el elevado índice de muerte en las crías, la exposición a diferentes enfermedades transmitidas por especies domésticas que han sido introducidas a su territorio,<sup>2</sup> así como la competencia por el alimento con otras especies, la destrucción y fragmentación de su hábitat, todo esto conforma una compleja situación que ha puesto a esta especie en amenaza de extinción.<sup>3,4</sup>

A principios del siglo pasado en México, se tomaron algunas medidas consideradas necesarias para la protección de esta especie, como fueron el establecimiento de vedas y programas de vigilancia, lo que pareciera no haber sido suficiente, ya que para las poblaciones de borregos Cimarrón tanto en vida libre, en cautiverio o semicautiverio, no se han implementado otras acciones concretas que promuevan su conservación.<sup>5</sup> De manera general, se ha propuesto comenzar por proteger los ecosistemas, pero también a su vez, se deben proteger a los individuos que se encuentran fuera de éstos, como los alojados en zoológicos, reservas y Unidades de Conservación, Manejo y Aprovechamiento Sustentable de la Vida Silvestre (UMA's). Por ello es que actualmente se fomenta el desarrollo y

establecimiento de técnicas de reproducción asistida que permitan la creación de bancos de germoplasma mediante la criopreservación de células y tejidos; el uso de la inseminación artificial; la fertilización *in vitro* y la transferencia de embriones.<sup>6</sup>

En nuestro país, se emplean estas técnicas para el mejoramiento genético de algunas especies domésticas, y su uso en pequeños rumiantes ha servido para multiplicar rápidamente algunas razas de interés productivo, como es el caso de los ovinos de raza Dorper y las cabras de raza Boer.<sup>7</sup> El uso de estas técnicas en la conservación de fauna silvestre representan opciones viables en el corto y mediano plazo. Con base en lo anterior se estima que la aplicación de técnicas de reproducción asistida pudieran ser herramientas útiles para la conservación del borrego Cimarrón.<sup>8,9</sup>

Para tal efecto, en el presente trabajo se evaluó un esquema de superovulación con microbombas osmóticas en borregas domésticas comparándolo con un esquema convencional, que en conjunto con la inseminación intrauterina, puede ser viable como modelo para producir embriones en hembras Cimarrón.

## **REVISIÓN BIBLIOGRAFICA**

### **El ciclo estral**

El ciclo estral es el periodo comprendido entre la aparición del estro hasta el comienzo del siguiente, o bien, el lapso de tiempo que ocurre entre dos ovulaciones. En la oveja doméstica dura en promedio 17 días<sup>10,11</sup> y se puede dividir en dos grandes etapas, la fase folicular y la fase lútea. De manera general, se conoce que el hipotálamo produce la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) y que ésta a su vez, estimula la secreción hipofisiaria de la hormona luteinizante (LH), y por parte de la hipófisis anterior a hormona folículo estimulante (FSH). La FSH y la LH tienen como órgano blanco al ovario. La FSH regula el desarrollo de los folículos ováricos en la fase folicular y la LH controla la maduración del folículo y el ovocito, provocando la ovulación.<sup>11</sup> Al inicio de la fase folicular los niveles de estrógeno plasmático aumentan rápidamente, alcanzando su máximo nivel algunas horas antes del momento del estro, al mismo tiempo, los estrógenos ejercen una retroalimentación positiva para aumentar la liberación de LH. En la fase lútea los estrógenos declinan rápidamente hasta niveles no detectables a las 24 horas posteriores al estro. Además, los niveles de progesterona se elevan rápidamente y si no hay fecundación, ocurre la regresión lútea a fines del diestro en el día 13 del ciclo estral, disminuyendo también rápidamente las concentraciones de progesterona plasmática.<sup>10</sup>

## **Proestro**

Esta fase dura de 2 a 3 días e inicia cuando hay regresión del cuerpo lúteo del ciclo anterior, lo que conlleva a la disminución de la progesterona ( $P_4$ ) a menos de 1ng/ml y al incremento en la secreción de estrógenos ( $E_2$ ) e inhibina secretados por los folículos.<sup>12-14</sup> Este incremento favorece a la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), debido a que hay un aumento de sus receptores.<sup>15</sup> El desarrollo folicular es un proceso continuo, en el cual los folículos primarios se desarrollan a diario y casi cada hora. Sólo pocos de ellos llegan a convertirse en folículos preovulatorios y ovulan, ya que la mayor parte sufren atresia.<sup>12</sup> Se conoce ahora que la secreción de la hormona folículo estimulante (FSH) es constante y no está regulada por la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), sino por el estradiol y la inhibina folicular.<sup>16</sup> La hipófisis libera a la hormona folículo estimulante, que es la encargada del activar el crecimiento temprano de los folículos y a la hormona luteinizante (LH) la cual es necesaria para completar las últimas fases del crecimiento.<sup>12</sup> Al inicio del proestro las concentraciones de FSH son bajas y las de la hormona luteinizante (LH) por efecto del estradiol, han comenzado a incrementar su frecuencia de secreción. El estradiol estimula la formación de receptores para GnRH en la hipófisis y la secreción de GnRH por el hipotálamo, acelerando la secreción pulsátil de LH. Inicialmente la FSH estimula el crecimiento de las células de la granulosa y la actividad de la aromatasa, de forma que se incrementa la síntesis de estrógenos a partir de los andrógenos. La intensificación de los estrógenos induce entonces el aumento de sus propios receptores, así como los recetores para FSH. Esto sensibiliza a las células de la granulosa frente a ambas hormonas, produciendo un crecimiento folicular aún mayor y un nuevo impulso para la producción de estrógenos e inhibina.<sup>17</sup>

El incremento de estrógenos prepara el aparato reproductor de la oveja para su apareamiento, el útero crece de tamaño y se edematiza. En la vagina, el número de capas celulares se aumentan y las capas superficiales se vuelven más cornificadas.<sup>13</sup> El final del proestro coincide con el inicio de la receptibilidad sexual.<sup>12</sup>

## **Estro**

En esta fase la hembra tiene un comportamiento de actividad sexual, además sólo en esta etapa aceptará al macho (receptividad). La duración del estro en la mayoría de las ovejas varía de 24 a 36 horas, aunque en algunas puede durar hasta las 48 horas. Estas variaciones se deben principalmente a factores como la edad, raza, contacto con los machos y situación geográfica.<sup>18</sup> En esta etapa los folículos en desarrollo alcanzan su madurez y tamaño preovulatorio, llegando a las máximas concentraciones de estrógenos, provocando un aumento en la frecuencia de pulsos de GnRH/LH, estimulando la liberación de la oleada preovulatoria de LH (retroalimentación positiva), que produce cambios en la pared del folículo que llevan a su ruptura y a la liberación del óvulo, proceso conocido como ovulación.<sup>19</sup>

Los signos del estro son poco notorios en la oveja y difíciles de observar en ausencia del macho. Sin embargo, la vulva se observa edematosa y con una secreción de moco por la vagina.<sup>13</sup> El tipo y la consistencia del moco cambia a lo largo del ciclo estral, siendo al inicio del estro escaso y claro, después de 12-18 horas de transcurrido es opaco, y a partir de las 25-30 horas se hace más espeso y de consistencia cremosa.<sup>12</sup> Conductualmente la oveja presenta una búsqueda intensa del macho y frotamiento continuo con el mismo. Durante el estro la hembra se muestra inquieta, aunque en esta especie no es frecuente la

conducta homosexual. En presencia del macho, la hembra permanece inmóvil, orina mientras el macho le huele los genitales y la toca con los miembros anteriores, tratando de investigar si la hembra es receptiva. Por lo tanto, el único signo seguro de que se encuentre en estro es el “reflejo de quietud”, es decir, la hembra acepta y está quieta cuando un macho la monta.<sup>12,13,20</sup>

En las ovejas es durante el estro cuando ocurre la ovulación, la cual podría definirse como la liberación del ovocito debido a la ruptura del folículo maduro o folículo de Graff.<sup>14</sup> Las borregas presentan ovulación espontánea, es decir, que se presenta independientemente de si tienen o no contacto con un macho, entre las 24 horas y las 30 horas después de haberse iniciado el estro. El surgimiento de los folículos que crecen desde los 3 hasta los 5 mm ocurren en oleadas cada 4-6 días, que culminan con la formación del folículo maduro. La primera oleada puede iniciar en el día en que ocurre la ovulación, con la emergencia de un grupo de folículos antrales.<sup>21</sup> Un rango de dos a cinco ondas foliculares ocurren en cada ciclo interovulatorio, pero el patrón predominante es de tres ondas, una durante la fase folicular y dos durante la fase lútea.<sup>17</sup> Las fluctuaciones de la concentración séricas de FSH están íntimamente asociadas con la aparición de las ondas foliculares.<sup>22</sup>

## **Metaestro**

El metaestro inicia al terminar la receptibilidad sexual y concluye en el momento en que hay un cuerpo lúteo bien establecido, y dura en promedio 3 días. En esta etapa hay un incremento de LH en las células de la granulosa, lo que permite el inicio del proceso de luteinización folicular, provoca una disminución en la secreción de estrógenos e inhibina y un aumento en la producción de progesterona.<sup>12</sup>

El cuerpo lúteo inicia su proceso de formación después de que la pared del folículo se rompe y se pliega a consecuencia de la ovulación. La ruptura del folículo provoca una degradación de los tejidos que rodean a las células de la granulosa, particularmente los de la membrana propia y la liberación de la sangre de los vasos de la teca en el interior de la cavidad, formando el cuerpo hemorrágico.<sup>12,13</sup> Transcurridos 4-5 días, las células de la granulosa y de la teca inician su luteinización y diferenciación en células esteroideogénicas lúteas grandes y chicas formando el cuerpo lúteo, cuya principal función es la secreción de progesterona, que prepara al útero para el inicio y mantenimiento de la gestación.<sup>23</sup> Las células lúteas grandes liberan oxitocina y progesterona basal en forma continua, pero la secreción de progesterona mediada por LH es baja; por el contrario las células lúteas chicas no producen oxitocina y la progesterona basal que producen es muy poca, siendo sin embargo las encargadas de producir la progesterona mediada por LH. En sí el metaestro es definido como el periodo de etapa de formación del cuerpo lúteo.<sup>13,14</sup>

## **Diestro**

Es la fase del ciclo estral que tiene mayor duración, entre 9-12 días; se caracteriza por la plena funcionalidad del cuerpo lúteo y termina con la destrucción del mismo.<sup>12,13</sup>

Al formarse el cuerpo lúteo, la progesterona alcanza sus máximas concentraciones, por lo que ejerce un efecto de retroalimentación negativa sobre la secreción de LH, debido a que inhibe la formación de receptores hipofisarios a GnRH, así como la secreción de la misma. Adicionalmente, se observan repetidos incrementos en la secreción de FSH con el consecuente aumento en el desarrollo folicular y las concentraciones plasmáticas de

estradiol e inhibina. Sin embargo estos folículos no pueden seguir su maduración y sufren regresión.<sup>13,14</sup>

Durante el diestro, en los días 6 y 11 después de la ovulación, surgen la segunda y la tercera oleada folicular, respectivamente. El papel fisiológico de los folículos dominantes no ovulatorios en la fase lútea en el ciclo estral son inciertos. Sin embargo, se ha observado que la concentración de la progesterona circulante juega un rol importante en el patrón de las ondas foliculares.<sup>24</sup>

La progesterona es una hormona esteroidal, que estimula la actividad secretora del endometrio con la finalidad de albergar una posible gestación; adicionalmente, el cérvix se cierra y se reduce la secreción del moco cervical y vaginal, el cual adopta una apariencia pegajosa y opaca para impedir el paso de microorganismos al útero.<sup>14</sup>

Al término del diestro y al no llevarse a cabo la fertilización, la disminución de la progesterona circulante favorece la secreción tónica de LH, que a su vez estimula la síntesis de estrógenos. Por su parte, el estradiol de origen ovárico, proveniente de los folículos presentes durante la segunda mitad de la fase lútea, estimula la síntesis de receptores para oxitocina de origen lúteo e hipotalámico en el endometrio, lo que permite la unión de la oxitocina con sus receptores y desencadena la síntesis de  $\text{PGF}_2\alpha$  por el útero. Los receptores para oxitocina son reciclados después de su unión con la oxitocina tanto de origen lúteo como hipotalámico y como la recuperación de estos receptores tarda alrededor de 6 horas, los pulsos frecuentes de  $\text{PGF}_2\alpha$  suprimen la función del cuerpo lúteo y originan su destrucción.<sup>25-28</sup>

En diferentes trabajos se ha demostrado que la regresión prematura de los cuerpos lúteos es un fenómeno asociado normalmente a la superovulación, que origina una pobre o incluso nula recuperación de embriones.<sup>29,30</sup> También se conoce que con dosis altas de FSH se

induce estimulación ovárica que provoca tanto la persistencia de folículos anovulatorios, así como la regresión prematura de los cuerpos lúteos formados.<sup>30</sup> En las borregas domésticas es común la presentación de la ovulación seguida por la formación de un cuerpo lúteo de corta duración, no solamente en hembras superovuladas, sino también durante la primera ovulación puberal,<sup>31,32</sup> estacional, posparto, o cuando se induce ovulación sin pretratamiento con progesterona. En todos los casos, las ovulaciones seguidas por la formación de un cuerpo lúteo de corta duración son infértiles.<sup>33</sup> Este cuerpo lúteo de corta duración secreta elevaciones transitorias de progesterona, las cuales probablemente son necesarias para la manifestación completa del comportamiento estral y aseguran la función normal del cuerpo lúteo del ciclo posterior.<sup>34,35</sup>

## **Manipulación del ciclo estral**

### **Sincronización**

La sincronización del celo constituye la base primordial para la aplicación de técnicas reproductivas, como pueden ser la inseminación artificial y la transferencia de embriones. En forma casi paralela al desarrollo de las técnicas de inseminación artificial y para que las mismas resulten más efectivas, se han desarrollado diferentes métodos para lograr que grupos de hembras presenten el celo de manera simultánea.<sup>36</sup> Algunas de las ventajas que se obtienen son el adecuado control de la temporada de empadre y la ocurrencia de los partos en un menor tiempo o en los períodos más favorables del año, obteniendo crías uniformes en edad y desarrollo.<sup>37</sup> Una vez sincronizado el ciclo estral, se puede servir a las hembras por medio de la monta natural dirigida o inseminarlas artificialmente.<sup>12</sup>

La sincronización del estro se puede lograr a través de métodos naturales y

farmacológicos. Dentro de los farmacológicos que pueden ser utilizados casi en cualquier época del año, se encuentran la progesterona natural y sintética (progestágenos). Otros fármacos de acción luteolítica como la prostaglandina F2 alfa ( $\text{PGF}_2\alpha$ ), se utilizan exclusivamente en época de reproducción, ya que originan la destrucción del un cuerpo lúteo funcional.<sup>13</sup>

Diversos son los métodos usados para administrar la progesterona o sus análogos en la sincronización del celo y se utilizan actualmente en casi todas las especies domésticas. Entre éstos, el método de la esponja intravaginal impregnada de progestágeno ha sido utilizado con buenos resultados, siendo el más empleado el acetato de fluorogestona ( $17\alpha$ -acetoxo- $9\alpha$ -fluro- $11\beta$ -hydroxy-pregn-4-ene-3,20-dione).<sup>38</sup> Las esponjas se colocan en la vagina de la hembra durante 9 a 14 días, es decir, alrededor del número de días que dura la fase de diestro, siendo ésta en ovejas domésticas de alrededor de 10 días.<sup>18,39</sup> La administración de FGA simula la presencia de un cuerpo lúteo mediante la liberación lenta de progesterona y por retroalimentación negativa, provoca que se suprima la secreción de GnRH a nivel hipotalámico y produce una disminución en la secreción de las gonadotropinas hipofisarias, limitándose el desarrollo folicular.<sup>18</sup> Así, al retirar la esponja e interrumpirse la administración del progestágeno, cesa la retroalimentación negativa y la hipófisis incrementa la liberación de gonadotropinas, se estimula el crecimiento folicular por acción de la FSH y ocurre la ovulación por efecto de la LH en un lapso de 24 a 36 horas después de terminado el tratamiento.<sup>29</sup>

Dentro de la sincronización del ciclo estral por medio de fármacos también se ha empleado la  $\text{PGF}_2\alpha$ ; ésta es una sustancia orgánica que se produce en el útero a partir del ácido araquidónico,<sup>25</sup> y se libera en forma pulsátil para producir la lisis del cuerpo lúteo.<sup>40</sup> Cuando se administra  $\text{PGF}_2\alpha$  a partir del día 5 una vez que se presentó el celo de la

borrega, las células lúteas ya pueden responder a su acción, causando la lisis del cuerpo lúteo, la cual se completa entre 12 y 24 horas de aplicada, presentándose el estro entre 36 y 44 horas después de su administración. Este método de sincronización presenta varias limitantes, una es que no puede utilizarse antes del día 5 del ciclo porque no hay cuerpos lúteos funcionales.<sup>41</sup>

## **Superovulación**

El objetivo principal de los tratamientos superovulatorios es producir un gran número de ovulaciones y obtener el máximo número de embriones. Esta técnica es de gran utilidad para la producción de embriones genéticamente superiores.<sup>42</sup> Dentro de las hormonas utilizadas para lograr la ovulación múltiple se encuentran la FSH, y otras hormonas que en dosis altas tienen un efecto similar a la FSH, como es el caso de la gonadotropina coriónica equina (eCG) y la gonadotropina menopáusica humana (hMG).<sup>43,44</sup> La FSH es la responsable del crecimiento y de la selección del folículo destinado a ovular, y se conoce que su aplicación exógena causa que los folículos destinados a sufrir atresia, maduren hasta una etapa preovulatoria. Tanto la LH como la FSH tienen una importante repercusión sobre la actividad esteroidogénica del folículo, ya que cuando la LH se acopla a sus receptores en las células de la teca, los andrógenos son convertidos en estradiol en las células de la granulosa, por efecto de un proceso de aromatización estimulado por el acoplamiento de la FSH con sus receptores.<sup>44</sup> A su vez, los estrógenos producidos por el folículo actúan en forma sinérgica con la FSH, ya que junto a los niveles elevados de FSH exógena, estimulan la mitosis de las células de la granulosa y la síntesis de receptores para LH en estas células,

permitiendo que un continuo número de folículos maduren hasta el estado ovulatorio, originándose así la superovulación.<sup>45</sup>

Se prefiere utilizar la FSH para la superovulación en comparación con hormonas como la eCG, ya que resulta en un mayor número de ovulaciones, menor número de folículos anovulatorios y más embriones recuperados y de mejor calidad,<sup>46</sup> además de producir una respuesta lútea más aceptable y consistente.<sup>47</sup> Debido a que la FSH tiene una vida corta, requiere frecuentes aplicaciones parenterales, para mantener las concentraciones sanguíneas suficientes para afectar la respuesta ovárica. Para ello, se han ensayado una gran cantidad de esquemas de superovulación con FSH, en donde se administra intramuscularmente cada 12 horas, durante tres o cuatro días, en dosis constantes o decrecientes,<sup>44,48</sup> que varían entre 180 y 200 mg.<sup>49</sup> Algunas consecuencias comunes asociadas a la superovulación con FSH serían la formación de folículos anovulatorios y de cuerpos lúteos con lisis prematura, cuya consecuencia es la obtención de menos embriones.<sup>50,51</sup> No obstante, el uso de la eCG en pequeños rumiantes como tratamiento superovulatorio requiere de una sola aplicación de entre 750 a 1500 UI, no es del todo recomendable, ya que se produce un fuerte incremento en el número de ovocitos no fertilizados.<sup>52-54</sup> Otra desventaja que se ha observado al usar eCG, es que al tener una vida media muy larga continúa estimulando el desarrollo folicular durante varios días, lo cual ocasiona que a nivel ovárico se continúen desarrollando pequeños folículos después de ocurrida la superovulación.<sup>54</sup>

En condiciones en donde la dinámica folicular se ve alterada, como podría ser el caso de la superovulación, se conoce que el ambiente hiperestrogénico que provoca la superovulación, al estimular el desarrollo de un mayor número de folículos productores de estradiol, puede anticipar la secreción luteolítica de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  y originar la regresión prematura de los cuerpos lúteos formados debido a la acción de las gonadotropinas administradas exógenamente,

problema que parece ser más grave entre mayor sea la dosis de gonadotropina utilizada.<sup>22,55,56</sup>

### **Uso de microbombas osmóticas**

Diferentes esquemas de aplicación de FSH en dosis única han sido descritos, por ejemplo, el utilizado por Dattena *et al* (1994), consistió en la administrar de manera intramuscular una dosis única de FSH, disuelta en un vehículo de larga acción (polivinilpirrolidona), con el cual se obtuvieron resultados similares a los tratamientos tradicionales de varios días con dosis decrecientes, sigue siendo rutinaria la administración de FSH durante varios días, lo cual permite el ensayar otras vías para su aplicación.

En animales de laboratorio el empleo de microbombas osmóticas es común para la dosificación de diferentes sustancias, como la lidocaína y la indometacina, utilizadas por su efecto analgésico en modelos animales con dolor neuropático.<sup>58</sup> En el caso de los ungulados, las microbombas se han probado en ciervos rojos (*Cervus elaphus*) y en cabras domésticas (*Capra hircus*) o silvestres (*C. pyrenaica hispanica*),<sup>59</sup> intentando la superovulación de hembras cíclicas administrando FSH durante tres días. Esto ha permitido demostrar que su uso disminuye el estrés en los animales a superovular, ya que evita un manejo físico diario.<sup>60</sup> También las microbombas se han empleado en hembras de venados del Padre David (*Elaphurus davidianus*) para inducir la ovulación en hembras anéstricas.<sup>61</sup>

En el cuadro 1 se mencionan algunas características de las microbombas osmóticas modelo 1003D<sup>57</sup> utilizadas en el presente trabajo para la administración de FSH.

Cuadro 1.  
**CARACTERISTICAS DE MICROBOMBAS OSMÓTICAS ALZET®**

	Parámetros
Nivel de bombeo:	1.25 µl/ hr ( $\pm 0.15$ µl/ hr)
Duración del tiempo de liberación	72 horas
Volumen del depósito	90 µl ( $\pm 10$ µl)

### **Inseminación intrauterina mediante laparoscopia**

La inseminación intrauterina por laparoscopia tiene su mayor utilidad en programas de transferencia de embriones, en donde la utilización de otras técnicas como la inseminación vaginal o cervical, tienen algunas desventajas que son superadas cuando la deposición se hace a mayor profundidad en el aparato reproductor de la hembra,<sup>62</sup> ya que el semen depositado directamente dentro del lumen uterino, evita la barrera natural del cérvix y mejora de forma considerable la fertilidad. Este método ha tenido gran aceptación debido a los resultados obtenidos y a la consistencia de los mismos, lo que ha posibilitado en los ovinos, su aplicación en programas de mejoramiento genético a mayor escala. El tiempo tomado por hembra para la inseminación con esta técnica es de 1-2 minutos dependiendo de la habilidad del operador.<sup>63</sup> Quizá la razón por la cual no es una técnica muy difundida en nuestro país, es el alto costo del equipo y la necesidad de contar con técnicos capacitados.

## **Recolección de embriones mediante laparotomía media ventral**

Para la recolección de embriones por laparotomía media ventral, las ovejas son previamente dietadas entre 24 y 36 h para poder inducir las a anestesia general. Se realiza una incisión sobre la línea media de aproximadamente 4 cm de largo y 4 cm anterior a la ubre, que permite exteriorizar el útero y los ovarios, y conocer la respuesta a la superovulación. Se consideran animales superovulados aquellos que presentan más de tres cuerpos lúteos en ambos ovarios.<sup>50</sup> El útero se debe estar irrigando constantemente con solución salina fisiológica con la finalidad de evitar adherencias. Se lava por separado cada cuerno uterino mediante la inserción de un angiocatéter en la punta del cuerno uterino. Se introducen aproximadamente 40 a 60 ml de medio para embriones, compuesto por PBS (solución salina bufferada) y adicionado con un 4% de SFB (suero fetal bovino). Éste se recupera a través de una sonda de Foley (calibre 10 Fr) colocada en la base del cuerno, y es colectado en un filtro concentrador para la posterior búsqueda de los embriones. El útero se regresa a la cavidad abdominal y la incisión es suturada por planos.<sup>64</sup>

## Evaluación de embriones

Los embriones seleccionados para ser transferidos en fresco o congelados, se obtienen generalmente de los cuernos del útero entre los días 6-7 posteriores al estro, su grado de desarrollo corresponde al de mórula o blastocisto.<sup>65,66</sup> Una vez colectados, los embriones se evalúan morfológicamente con un microscopio estereoscópico y son clasificados con base en la metodología establecida por Elsdén *et al.* (1978), modificada por Linder *et al.* (1985) y avalada por la Sociedad Internacional de Transferencia de Embriones (IETS).<sup>65</sup> De manera estricta, se consideran como embriones transferibles, aquellos con un grado de desarrollo que corresponda al día en que son recolectados y con una calidad excelente o buena (Cuadro 2).

Cuadro 2.  
**CLASIFICACIÓN DE EMBRIONES DE ACUERDO AL GRADO DE DESARROLLO**

Clasificación	Grado de desarrollo
1	Ovocito (sin fertilizar)
2	2 a 12 células
3	Mórula temprana
4	Mórula
5	Blastocisto inicial o temprano
6	Blastocisto
7	Blastocisto expandido
8	Blastocisto maduro
9	Blastocisto maduro expandido

Fuente: IETS 2009

La calidad de los embriones se clasifica en cuatro categorías y se numeran del 1 al 4. (Cuadro 3). Se consideran como viables los embriones cuya calidad sea excelente (1) y buena (2), y como no transferibles el caso de los embriones cuya calidad sea regular (3) y degenerado (4).<sup>65,66</sup>

**Cuadro 3.  
CLASIFICACIÓN DE EMBRIONES DE ACUERDO A SU CALIDAD**

Clasificación	Calidad	Características
1	Excelente	Embriones compactos y esféricos; simétricos; células de tamaño, color y textura uniformes, sin gránulos en el citoplasma con pocas vesículas pequeñas y espacio perivitelino vacío.
2	Bueno	Embriones con ligera asimetría; algunos blastómeros extruídos y un ligero retardo en su desarrollo.
3	Regular	Ligero grado de degeneración; blastómeros esféricos dispares, poco compactos y de tamaño variable; retardo de 1 a 2 días en su desarrollo; masa celular aparentemente viable pero con grandes vesículas entre las células y superficie irregular; color muy claro o muy oscuro y material de desecho en el espacio perivitelino.
4	Degenerado	Embriones con zona pelúcida rota; blastocele no visible con grandes zonas de degeneración; poca cantidad de células y blastómeros sueltos de diferentes tamaños

Fuente: IETS 2009

## **HIPÓTESIS**

La superovulación mediante el uso de microbombas osmóticas en conjunto con la inseminación intrauterina permitirá la obtención de embriones en borregas domésticas.

## **OBJETIVO GENERAL**

Determinar si la obtención de embriones en borregas domésticas superovuladas mediante el uso microbombas osmóticas e inseminadas intrauterinamente, puede ser considerado como modelo para borregas silvestres Cimarrón.

## **OBJETIVOS PARTICULARES**

- a) Comparar entre tratamientos la respuesta a la superovulación por el número de cuerpos lúteos totales, número de cuerpos lúteos normales y número de cuerpos lúteos en regresión obtenidos.
- b) Comparar entre tratamientos el total de estructuras recolectadas, número de embriones y número de ovocitos.
- c) Comparar entre tratamientos el porcentaje de recuperación: número de estructuras recolectadas en relación al número de cuerpos lúteos.

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

### **Localización**

El estudio fue realizado en el Centro de Enseñanza, Práctica e Investigación en Producción y Salud Animal (CEPIPSA), de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia perteneciente a la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). El Centro se localiza en el Km. 28.5 de la Carretera Federal a Cuernavaca, en Avenida Cruz Blanca No. 486, en la localidad de San Miguel Topilejo, Delegación Tlalpan, C.P. 14500 México, D.F. El Centro se encuentra a una altura de 2760 metros sobre el nivel del mar, el clima de la región es c(w) b(ij) que corresponde a semifrío semihúmedo con lluvias en verano y con una precipitación pluvial de 800 a 1200 milímetros anuales y una temperatura promedio de 19 °C.<sup>67</sup>

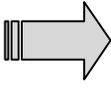
### **Animales**

Para la realización del trabajo se utilizaron 16 borregas adultas de raza Suffolk con edades de 4 a 6 años y una condición corporal entre 2.5 y 3, de acuerdo con una escala de 0 a 5, que a su vez fueron divididas aleatoriamente en dos grupos de 8 ovejas cada uno (grupo testigo TI y grupo tratado TII). Las borregas se manejaron en estabulación asignando un corral para cada tratamiento, siendo alimentadas con heno de avena, ensilado de maíz, concentrado comercial, alfalfa achicalada y agua a libre acceso.

## Tratamientos hormonales

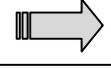
En el TI (n=8) las hembras se sincronizaron con esponjas vaginales de 20 mg de FGA (Chronogest, Intervet) durante 12 días, y se superovularon con 180 mg de FSH (Folltropin-V, Bioniche) en un esquema de administración decreciente durante los últimos 3 días (ver esquema 1).

Esquema 1

	Día 0			Día 10	Día 11	Día 12
Actividad	AM	PM		AM	PM	PM
Esponja FGA	Colocación ✓					Retiro ✗
Administración FSH				1.5ml = 30mg 2.0ml = 40mg	1.5ml = 30mg 1.5ml = 30mg	1.0ml = 20mg 1.5ml = 30mg

En el TII (n=8) las hembras se sincronizaron con esponjas vaginales de 20 mg de FGA durante 12 días, y fueron superovuladas con 180 mg de FSH totales, de los cuales 150 mg fueron administrados subcutáneamente mediante tres microbombas osmóticas (cada una con 50 mg) (MODELO 1003D, ALZET), más una inyección intramuscular de 30 mg el día de su colocación (ver esquema 2).

Esquema 2

	Día 0		Día 10	Día 11	Día 12
Actividad					
Esponja FGA	Colocación ✓				Retiro ✗
Administración de FSH (0.09ml = 50 mg, por microbomba)			AM 1.5ml = 30mg IM 		

**Preparación y carga de las microbombas osmóticas.** Para preparar la hormona, a cada frasco con una pastilla de 400 mg de FSH liofilizada, se le agregó 0.72 ml del diluyente estéril, para

así tener 50 mg por cada 0.09 ml de la solución. Cada bomba de 90  $\mu$ l (0.09 ml) fue completamente cargada utilizando una jeringa de 1.0 ml, sin aguja, acoplada al tubo de llenado. Primeramente se colocó la bomba en posición vertical, con la abertura hacia arriba, se introdujo el tubo de llenado hasta el fondo de la bomba, luego de forma lenta para evitar la formación de burbujas de aire dentro del depósito, se vertió la solución hasta que estuvo llena. Posteriormente se retiró la jeringa con el tubo de llenado y se insertó el regulador de flujo, alineándolo con el borde superior de la microbomba.<sup>57</sup>

**Implante de las microbombas osmóticas.** Las microbombas fueron colocadas subcutáneamente en la región de la axila, entre el tercero y cuarto espacio intercostal a nivel de la articulación escapulo-humeral, siguiendo las especificaciones de higiene y asepsia requeridas para cualquier procedimiento quirúrgico. Se eligió colocarlas en este sitio por ser un lugar desprovisto de lana y de fácil acceso. Las ovejas fueron inmovilizadas mediante la inyección intramuscular de xilazina\* a una dosis de 0.45 mg/kg de PV y ketamina<sup>x</sup> a una dosis de 1 mg/kg de PV. Posteriormente, fueron colocadas decúbito lateral y se procedió a lavar, afeitar y desinfectar la zona. Después se aplicó anestesia local mediante la inyección de lidocaína<sup>^</sup>. A continuación, se hizo una incisión de 1 cm de largo. Posteriormente, con la ayuda de una sonda canalada se separó el tejido subcutáneo, formando una bolsa en la cual se colocaron las bombas con el regulador de flujo orientado hacia el dorso de la oveja. Finalmente, se suturo la incisión y se procedió a la administración intramuscular de antibiótico de amplio espectro<sup>⊙</sup>.<sup>39</sup>

---

\*Xilacina. Procin<sup>®</sup> 2%. Pisa Agropecuaria. México

<sup>x</sup>Ketamina. Anesket<sup>®</sup>. Pisa Agropecuaria. México

<sup>^</sup>Lidocaína; Servacaína, Intervet México

<sup>⊙</sup>Emicina LA<sup>®</sup> Pfizer. Salud Animal. México

## **Obtención del Semen**

Para la colección del semen se utilizó una vagina artificial, el semen se evaluó en cuanto a su volumen, motilidad y concentración, se le agregó diluyente suficiente para la obtención de pajillas con una concentración de  $100 \times 10^6$  espermatozoides en 0.25 ml.

## **Detección del estro e inseminación artificial**

La detección de estro se realizó con machos enteros cubiertos hasta que el 100% de las borregas presentaron estro, iniciando 24 horas después de retirar la esponja vaginal, y se repitió cada 6 horas. Las borregas que presentaron celo conductual fueron inseminadas mediante el uso de la técnica de laparoscopia, alrededor de 12 horas después de detectarse en celo conductual. Las borregas fueron dietadas previamente sin alimento ni agua 24 horas antes, y se anestesiaron de forma disociativa mediante la aplicación de xilacina\* (0.45 mg/kg/PV) y ketamina<sup>x</sup> (1.0 mg/kg/PV), posteriormente se hicieron 2 incisiones de 1 cm de longitud a 5 cm anteriores a la ubre y a 6 cm de la línea media para introducir el trocar, el laparoscopio y el aplicador. El semen fresco se depositó en la curvatura mayor del cuerno uterino, aplicando una dosis de 0.25 ml en cada uno de los cuernos a una concentración de  $100 \times 10^6$  espermatozoides. Una vez finalizada la inseminación se administró penicilina<sup>~</sup> durante 7 días, y meglumina de flunixin<sup>^</sup> (2.2 mg/kg/PV) al terminar el procedimiento quirúrgico.

---

\*Xilacina. Procin<sup>®</sup> 2%. Pisa Agropecuaria. México

<sup>x</sup>Ketamina. Anesket<sup>®</sup>. Pisa Agropecuaria. México

<sup>~</sup>Penimox L.A. Bayer. México.

<sup>^</sup>Napzin. Pisa Agropecuaria S.A. de C.V. México

## **Recolección y evaluación de embriones**

La recolección de los embriones se llevó a cabo mediante laparotomía medio ventral el día 7 posterior a la inseminación.<sup>68</sup> Para la recolección, las hembras se inmovilizaron mediante la inyección intramuscular de xilacina\* (0.45 mg/kg de PV) y la aplicación endovenosa de ketamina<sup>x</sup> (2 mg/kg de PV). Para llevar a cabo la recolección se colocó a la borrega en una camilla de cirugía en decúbito dorsal y se lavó, afeitó y desinfectó la región abdominal. A continuación, se realizó una incisión de aproximadamente 4 cm de largo y 4 cm anterior a la ubre sobre la línea media para entrar a la cavidad abdominal. Posteriormente la camilla se inclinó 45° para facilitar la visualización y exteriorización del útero. Una vez exteriorizados los cuernos uterinos y los ovarios, se determinó la respuesta a la superovulación contando el número de cuerpos lúteos y verificando su calidad, con el fin de estimar el número de embriones a obtener. Aquellas hembras que presentaron 3 o menos cuerpos lúteos (CL) no se consideraron superovuladas.<sup>29,69</sup> La calidad de los CL se evaluó con base en su tamaño y color, con lo que se estableció si eran normales o si se encontraban en regresión prematura. Se consideraron normales a los que presentaron una coloración rojo brillante y que además sobresalían de la superficie del ovario, y en regresión prematura a los CL que se observaron color rosa pálido o blancos.<sup>70</sup> Cuando se estableció que la hembra había respondido a la superovulación, los ovarios se regresaron a la cavidad y se procedió a lavar cada uno de los cuernos del útero por separado. Para realizar este procedimiento, se efectuó una punción con un catéter intravenoso (14G x 5½) en la base del cuerno uterino y se introdujo una sonda Foley (calibre 10 Fr) \*. A través de otro catéter intravenoso (18G x 1¼) insertado en la punta del cuerno uterino, se administraron 40 ml de medio de lavado compuesto por PBS (solución salina bufferada) y adicionado con un 4% de SFB (suero

fetal bovino) <sup>x</sup> el cual se colectó en un filtro concentrador. <sup>‡</sup> Concluida la recolección de los embriones, el útero se regresó a la cavidad abdominal y se suturó la incisión. <sup>71</sup> Las microbombas osmóticas implantadas fueron retiradas al finalizar el procedimiento de recolección de embriones. Finalmente se aplicó Prostaglandina F2 $\alpha$  <sup>§</sup> con una dosis de 0.125 mg /kg de PV y se administró antibiótico de amplio espectro <sup>⊛</sup>. Los embriones recolectados fueron conservados en una solución de mantenimiento <sup>‡</sup> y evaluados morfológicamente en un microscopio estereoscópico, clasificándose de acuerdo a su grado de desarrollo y calidad. <sup>65,66,72</sup> (Ver Cuadro 2 y Cuadro 3).

---

\*Xilacina. Procin <sup>®</sup> 2%. Pisa Agropecuaria. México

xKetamina. Anesket <sup>®</sup>. Pisa Agropecuaria. México

‡Sonda Foley Adex <sup>®</sup>. Sonda de látex estéril tipo Foley de 2 vías. Adex. México.

‡Vigro Complete Flush Solution <sup>®</sup>. Solución de lavado. AB Technology. USA.

‡Filtro Em Con <sup>®</sup>. Concentrador de embriones irradiado. Immunsystems Inc. USA.

‡Vigro Holding Plus <sup>®</sup>. Medio de mantenimiento. AB Technology. USA.

§Prosolvin. Prostaglandina F2 alpha. Intervet México

⊛Emicina LA <sup>®</sup> Pfizer. Salud Animal. México

### **Análisis estadístico.**

Para comparar la superovulación, las variables dependientes que se tomaron en cuenta fueron: cuerpos lúteos totales (CLT), cuerpos lúteos normales (CLN) y cuerpos lúteos en regresión (CLR), así como las estructuras recolectadas totales (ESTOT), embriones (EMB) y ovocitos (OVO). Para las variables CLT, CLN y EMB se realizó una prueba de ANOVA y para las variables CLR, OVO y ESTOT se realizó una prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, debido a que, éstas variables, no presentaron distribución normal de probabilidades.

El porcentaje de recuperación (% REC) fue cotejado mediante ANOVA. El análisis estadístico se realizó en la versión 8.2 de SAS/STAT.<sup>73,74</sup>

## RESULTADOS

### Respuesta a la sincronización

Para comparar la respuesta a la sincronización, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para un diseño completamente al azar, contemplando el efecto del tratamiento como variable independiente. Se consideraron como variables dependientes la proporción de ovejas que manifestaron estro conductual (% ESTRO) y el tiempo de presentación del estro (HRS PRES).

En la respuesta a la sincronización, el porcentaje de hembras que manifestaron estro conductual y en cuanto al tiempo de presentación del mismo, no se reportaron diferencias significativas ( $P>0.05$ ), ya que la utilización del progestágeno (FGA) por 12 días, no alteró la presentación de celo, puesto que el 100% de las borregas de cada tratamiento experimental, presentaron estro conductual dentro de las 24 a 36 horas posteriores al retiro del progestágeno, que es el tiempo habitual de su presentación.<sup>29</sup> (Cuadro 4).

Cuadro 4.  
**RESPUESTA DE BORREGAS DOMÉSTICAS CON UN MISMO ESQUEMA DE SINCRONIZACIÓN CON FGA (20 mg)**

Tratamiento	% ESTRO	HRS PRES*
I	8/8=100	30± 8.48
II	8/8=100	24±0

% ESTRO= Porcentaje de ovejas que presentaron estro conductual;

HRS PRES= Tiempo de presentación de estro conductual.

\*Promedio ± e e.

No se encontraron diferencias significativas ( $P<0.05$ )

La respuesta a la superovulación se presenta en el cuadro 5. Estadísticamente no se encontraron diferencias significativas entre grupos ( $P>0.05$ ).

Cuadro 5.  
**RESPUESTA A LA SUPEROVULACIÓN**

Grupo	CLT	CLN	CLR	ESTOT	EMB	OVO
TI (n=8)	14.75±2.10	12.63±2.60	2.13±1.46	8.88±1.83	6.63±2.01	2.25±1.01
TII (n=8)	10.13±1.46	10.13±1.46	0.00	4.88±1.36	4.88±1.36	0.00

Variables: CLT, Cuerpos lúteos totales; CLN, Cuerpos lúteos normales; CLR, Cuerpos lúteos en regresión; ESTOT, Estructuras recolectadas totales; EMB, Embriones; OVO, Ovocitos.  
No se encontraron diferencias significativas en los valores de las variables estudiadas ( $P>0.05$ ).

En el porcentaje de recuperación (proporción de estructuras totales recolectadas con respecto al número de cuerpos lúteos totales observados) se presenta en el cuadro 6. Se encontraron diferencias significativas entre tratamientos. ( $P<0.05$ ).

Cuadro 6.  
**PORCENTAJE DE RECUPERACIÓN DE EMBRIONES**

Tratamiento	CLT	ESTOT	% REC
I	108	71	65.74 <sup>a</sup>
II	81	39	48.15 <sup>b</sup>

CLT= Cuerpos lúteos totales; ESTOT= Estructuras recolectadas totales; % REC= Porcentaje de recuperación.  
a,b, para una determinada variable, literales diferentes indican diferencias significativas ( $P<0.05$ )

## DISCUSIÓN

En cualquier especie animal, doméstica o silvestre, cuando se aplica un tratamiento de superovulación, el número de embriones recolectados se considera como el más importante de los resultados, ya que con ello se puede determinar la efectividad del tratamiento. Se busca que la respuesta ovárica al tratamiento se manifieste con un elevado número de cuerpos lúteos totales, una moderada cantidad de cuerpos lúteos en regresión y un considerable número de embriones recuperados.

Uno de los principales problemas en la superovulación es la presencia de cuerpos lúteos en regresión al momento de la colección embrionaria, los cuales ocasionan una disminución en el número de embriones que se recolectan. En este trabajo se observaron cuerpos lúteos en regresión en 3 borregas del Tratamiento I cuyas ovejas fueron superovuladas con 180 mg de FSH utilizando el protocolo rutinario mediante la aplicación parenteral cada 12 horas durante 3 días.

Diversos autores como Torres *et al.* (1984),<sup>77</sup> Scudamore *et al.* (1993)<sup>29</sup> y Cueto *et al.* (2004),<sup>78</sup> han realizado investigaciones sobre tratamientos habituales de superovulación con FSH en ovejas domésticas de diferentes razas, y han obtenido un promedio de embriones recolectados de 6.1, 4.1 y 5.3, respectivamente, lo obtenido por Mejía *et al.* (2000)<sup>50</sup> en un esquema convencional mediante la utilización de esponjas intravaginales de FGA y la aplicación de FSH de manera decreciente para la superovulación, se obtuvo un promedio de embriones recolectados de 7.66, a pesar de ello, lo obtenido en este trabajo fue de 6.63, lo cual nos indica que el resultado es similar.

En lo referente al promedio de embriones obtenidos en este trabajo, en el TI fue mayor en relación al TII, aunque no se encontraron diferencias estadísticamente significativas. Al

haberse empleado en ambos tratamientos FGA durante 12 días, se puede considerar que existió una menor respuesta a la superovulación con las microbombas osmóticas. Sin embargo, el uso de las microbombas, también resulta en la recuperación de un número aceptable de embriones al ser una metodología que requiere menos manejo de los animales (en comparación con la superovulación tradicional), gracias a que se disminuye el número de veces en las que hay que someter físicamente al animal para dosificar la FSH y a su vez también se reduce el estrés originado por el constante manejo, lo que en un animal silvestre debe contemplarse como prioridad.

Pérez (2007)<sup>79</sup> al sincronizar borregas domésticas mediante el uso de esponjas vaginales con 40 mg de FGA por 16 días y la aplicación intramuscular de 200 UI de eCG al momento de retirar la esponja y superovular utilizando una dosis total de 200 mg de FSH administrando 150 mg por medio de 3 microbombas osmóticas (50 mg c/u) implantadas los 3 últimos días más 50 mg dividido en 30 mg y 20 mg mediante su aplicación intramuscular los días 14 y 16 respectivamente, encontró como resultado la obtención de un promedio de 5.2 embriones, y en el presente trabajo se obtuvo un promedio de 4.88. Respecto al porcentaje de recuperación en el presente trabajo, en TII mediante el uso de microbombas osmóticas, se obtuvo un resultado de 48.15%, mientras que lo informado por Pérez (2007)<sup>79</sup> fue de 53.06% y al comparar ambos estudios podemos considerar los resultados como favorables.

## **CONCLUSIONES**

Tanto la superovulación con microbombas osmóticas como la inseminación intrauterina permiten la obtención de embriones en ovejas domésticas y esta metodología, podría contemplarse para obtener embriones en borregas Cimarrón.

## REFERENCIAS

1. Guerrero I, Tovar I, Álvarez S. Factores que afectan la distribución espacial del borrego cimarrón (*Ovis canadensis weemsi*) en la Sierra del Mechudo, BCS México. Anales del Instituto Nacional de Biología, UNAM. Serie Zoología 2003; 74 (1): 83-98.
2. Gross J, Singer-Francis J, Moses. Effects of disease, dispersal, and area on bighorn sheep restoration. Restoration Ecology 2000; 8:25-37.
3. Gross E. Evaluating effects of an expanding mountain goat population on native bighorn sheep: a simulation model of competition and disease. Natural Resource Ecology Laboratory, Colorado State University, Fort Collins, USA. Biological Conservation 2000; 101: 171-185.
4. Nowak M. Artiodactyla: Bovidae. In: Walker's Mammals of the World Vol II. 5<sup>a</sup> ed. The Johns Hopkins. Baltimore & London 1991: 1494-1499.
5. Ayala S, Martínez R. Determinación de los niveles de hormonas esteroidales (P,E,T) en excretas de la población de borrego cimarrón (*O.c. cremnobates*) en la Sierra de San Pedro Mártir en Baja California, México. (tesis de maestría). Facultad de Ciencias, UABC. México 1997.
6. Wild D, Monfort S, Donghue A, Johnston L, Howard J, 1992. Embryogenesis in conservation biology-or, how to make an endangered species embryo. Theriogenology. 37, 161-184.
7. Rancho la Reforma.com [homepage on the Internet]. México: Xoles Consultores c2005-2007. <http://www.rancholareforma.com>

8. Bunch T, Foote W, Whitaker B. Interspecies ovum transfer to propagate wild sheep. *J Wild Manag* 1977; 41: 726-730.
9. Bunch T, Workman G. Hybridization of desert Bighorn and Argali-Mouflon wild sheep. *Desert Bighorn Counc Trans* 1988; 32:16-18.
10. Heredia M. Ovulación múltiple y transplante de embriones en ovinos. Conducta estral y detección de estros. Curso teórico-práctico. Universidad Autónoma de Yucatán. México: 1998.
11. Quintal J. Ovulación múltiple y transplante de embriones en ovinos. Perfiles endocrinos asociados con el ciclo estral de los rumiantes. Curso teórico-práctico. Universidad Autónoma de Yucatán. México: 1998.
12. Evans G, Maxwell M. Inseminación Artificial de ovejas y cabras. España: Acribia, 1990.
13. Hafez E. Reproducción e Inseminación Artificial en Animales. 7ª ed. España: Mc Graw Hill, 2000.
14. Mc. Donald LA. Reproducción y Endocrinología Veterinaria, 4ª edición. Ed. Interamericana. México. 1989
15. Prieto B. Fisiología de la reproducción: hormona liberadora de gonadotropinas. *Mediografic*. 2002. 45(6): 252-257.
16. Bittman EL. Role of the pineal gland in ovine photoperiodism: regulation of seasonal breeding and negative feedback effects of estradiol upon luteinizing hormone secretion. *Endocrinology*. 1983. 113: 329-336.
17. Genuth S. Fisiología celular. 3ª edición. Ed. Doyma libros. España. 2003.
18. Vaillancourt D. La gestion de la reproduction chez les petits ruminants: le contrôle du cycle œstral. *Le Médecine Vétérinaire du Québec* 2003 3; 33(1-2): 43-49. 2003

19. Clarke J. The temporal relationship between gonadotropin releasing hormone (GnRH) and luteinizing hormone (LH) secretion in ovariectomized ewes. *Endocrinology*. 1982 3(5): 1137-1139.
20. Hernández J. Inseminación artificial y transferencia de embriones en pequeños rumiantes. *Memorias de Manejo Reproductivo e Inseminación Artificial en Pequeños Rumiantes. Curso Teórico Práctico. México (DF) Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1997.*
21. Evans ACO, Duffy P, Hynes N, Boland MP. Waves of follicle development During the estrous cycle in the sheep. *Theriogenology*. 2000. 53: 699-715.
22. Baird DT. Inhibin and estradiol in the control of FSH secretion in the sheep. *J Reprod Fert*. 1991 43(Suppl): 125-138.
23. Evans ACO, Characteristics of ovarian follicle development in domestic animals. *Reprod Domestic Anim*. 2003 38: 240-246.
24. Viñoles C, Banchemo G, Rubianes E. Follicular wave pattern and progesterone concentrations in cycling ewes with high and low body condition score. *Theriogenology*. 1999 51:437(abstract)
25. McCracken A, Schams W, Okulicz C. Hormone receptors control of pulsatile secretion of PGF<sub>2</sub> $\alpha$  from the ovine uterus during luteolysis and its abrogation during early pregnancy *Anim Reprod Sci* 1984; 7:31-55.
26. Battye M, Fairclough J, Cameron W, Trounson O. Evidence for prostaglandin involvement in early luteal regression of the superovulated nanny goat (*Capra hircus*). *J Reprod Fertil* 1988: 84:425-430.
27. Thatcher W, Hansen J, Gross S, Helmer D, Plante C, Bazer W. Antiluteolytic effects of bovine trophoblast protein-1. *J Reprod Fertil* 1989; 37Suppl 1: 91-99.

28. Sheldrick L. Oxitocin and luteal maintenance in the ewe. *J Reprod Fertil Suppl.* 43:105-107 1991.
29. Scudamore C, Robinson J, Aitken R, Robertson I. The effect of method of oestrous synchronization on the response of ewes to superovulation with porcine follicle stimulating hormone. *Anim Rep Sci*1993; 34(2): 127-133.
30. Cerbón J. Recuperación de embriones en ovejas superovuladas inseminadas intrauterinamente o por monta natural. (tesis de licenciatura). Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (DF) México: UNAM, 1995.
31. Rodríguez R. Efecto de la suplementación sobre el inicio de la actividad reproductiva de la oveja tabasco o pelibuey. (tesis de doctorado en Producción Animal). Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (DF) México: UNAM, 1991.
32. Balcázar A. Efecto de la suplementación alimenticia sobre la eficiencia reproductiva de corderas pelibuey inducidas a la pubertad con acetato de melengestrol. (tesis de licenciatura). Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (DF) México: UNAM, 1992.
33. Balcázar A. Efecto de la administración de líquido folicular equino sobre el desarrollo folicular, duración de la fase lútea y fertilidad de ovejas inducidas a ovular mediante la administración de hCG. (tesis de maestría). Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. (DF) Mexico: UNAM, 1995.
34. Berardinelli G, Dailey A, Butcher L, Inskoop K. Source of circulating progesterone in pre-puberal ewes. *Biol Reprod* 1980; 22:233-236.

35. McLeod J, Haresing W. Evidence that progesterone may influence subsequent luteal function in the ewe by modulating preovulatory follicle development. *J Reprod Fertil* 1984 65: 223-230.
36. Quispe T, Zarco L, Valencia J, Ortiz A. Estrus synchronization with melengestrol acetate in cycle ewes. Insemination with fresh or frozen semen during the first or second estrus post treatment. *Theriogenology* 1994; 41:1385-1392.
37. Porras A, Galina H. Inducción y sincronización de estros utilizando progestágenos. *Memorias del Curso Internacional de Reproducción Bovina*. México DF. 1990; 126-142.
38. Crempien CH, Rojas C, Avendaño J. Efecto del tratamiento con progestágeno sintético sobre la sincronización de estros, concentración de partos y eficiencia reproductiva de ovinos. *Agricultura Técnica* 1984; 44:347-351.
39. Quirke F. Regulation of pubertal reproduction in female lambs: A review. *Livestock Production Science* 1981; 8: 37-53.
40. Zarco L, Bradford E, Kindahl H. Modification of prostaglandin  $F_2\alpha$  and the timing of events associated with luteolysis in ewes with oestrus cycle of different lengths. *J. Reprod Fertil*. 1988; 83:517-526
41. Herrera H, Feldman S, Zarco L, Valencia M, Ortiz H, Ángeles C. Evaluación del efecto luteolítico de la prostaglandina  $F_2\alpha$  en diferentes días del ciclo estral de la borrega. *Vet. Méx.* 1990; 21: 143-147.
42. Maxwell M, Butler LG. Intrauterine insemination of ewes with frozen semen *J Agric Sci Camb* 1984; 102:233-235.
43. Wollen S, Shultz H, Newkirk L. Use and Handling of drugs and biologicals in embryo transfer. *Theriogenology* 1985; 23:31-43.

44. Driancurt A, Fry C. Effect of superovulation with pFSH or PMSG on growth and maturation of the ovulatory follicles in sheep. *Anim Reprod Sci* 1992; 27: 279-292.
45. Newman A. Development of follicles in the mammalian ovary. *International Review of Ovology* 1991; 124:44-101.
46. Cognie Y, Chupin D, Saumande J. Comparison of two treatment schedules to induce superovulation in ewes. *Theriogenology* 1985; 23:185.
47. Schiewe C, Howard G, Goodrowe L, Stuart D, Wildt E. Human menopausal gonadotropin induces ovulation in sheep, but embryo recovery after PF<sub>2</sub> $\alpha$  synchronization is compromised by premature luteal regression. *Theriogenology* 1990; 34:3.
48. Buckrell C, Gartley J, Mehren G, Goodrowe L. Superovulation in Dall's sheep. *Theriogenology* 1990; 33:201.
49. Hawk W, Cooper S, Conley H. Inhibition of sperm transport and fertilization in superovulation ewes. *Theriogenology* 1987; 28:139-153.
50. Mejía O, Murcia C, Valencia J, Espinosa F. Administración postmonta de acetato de fluorogestona en ovejas donadoras de embriones. *Veterinaria México* 2000; 31: 129-135.
51. Cervantes J, Juárez L, Mejía O, Berruecos M, Vera R, Valencia J. Use of fluorogestone acetate after breeding to reduce the effect premature luteal regression in dairy goats when superovulation is induced with FSH. *Anim Reprod Sci* 2007; 97: 47-54.
52. Rainio V. PMSG-dose in Finn sheep embryo production. *Theriogenology* 1991; 35:261.
53. Ungerfeld R. Gonadotropina Coriónica Equina: Caracterización y utilización.

Center for Reproductive Biology, Swedish University of Agricultural Sciences.  
Suecia: 1998.

54. Luyando C, Mejía O, Balcázar A, Valencia J, Zarco L, Caballero V. Respuesta ovárica y recuperación de embriones ovinos utilizando dos dosis de pFSH. Memorias de la Reunión Nacional de Investigación Pecuaria. UNAM Vet Méx noviembre 1995; 26 (Supl): 2.
55. Saharrea A, Valencia J, Balcazar A, Mejia O, Cerbon J, Caballero V. Premature regression in goats superovulated with PMSG: Effect of hCG OR GnRH administration during early luteal phase. Theriogenology 1998; 50: 1039-1052.
56. Carson S, Findlay K, Burger G, Trounson O. Estradiol, testosterone and androstenedione in ovine follicular fluid during growth and atresia of ovarian follicles. Biol. Reprod. 1981; 24: 105-113.
57. Alza Corporation. Instruction and specification sheet, ALZET<sup>®</sup> micro-osmotic pump, model 1003D. USA: 1996.
58. Smith J, Shih A, Miletic G, Miletic V. La infusión sistémica continua de lidocaína proporciona analgesia en un modelo animal de dolor neuropático. Rev Soc Esp Dolor 2002; 9 (7):432-440.
59. Fernandez-Arias A, Folch J, Alabart L, Ramón J. Successful interspecific embryo transfer between Spanish Ibex (*Capra pyrenaica*) and domestic goat (*Capra hircus*) using micro-osmotic pumps for FSH administration. Theriogenology 45: 247 1996.
60. Haigh J, Waldham S. 1990. Artificial breeding. The Biology of Deer. Mississippi State Press.

61. Brinklow B, McLeod B, Loudon A, Curlewis J. 1990. Induction of ovulation in Père David`s deer hinds at two stages of seasonal anestrus. *The Biology of Deer*. Mississippi State Press.
62. Quezada, C. A., Pérez, U. D. J. 2004. Sincronización del estro en ovejas mediante esponjas con progesterona + estradiol y fluorogestona, además de ecg. XXVIII Congreso Nacional de Buiatria Morelia, Michoacán, México. Agosto. p. 286.
63. Mejía, G. P. y Hernández, O. G. 1996. "Curso Teórico-Práctico sobre Reproducción Aplicada en Pequeños Rumiantes". Universidad Nacional Autónoma de México. Noviembre. p. 28-43.
64. Mejía O, Balcazar A, Luyando C, Valencia J, Rojas S, Saharrea A, Caballero V, Cerbón J. Implementacion de la transferencia de embriones en pequeños rumiantes. *Memorias de la Reunión Nacional de Investigación Pecuaria 1995*. Noviembre 1995. 21-22.
65. Elsdén P. Freezing bovine embryos: causes of damage. *Embryo transfer*. 1987 2: 1-6.
66. Trejo A. Control de la reproducción caprina y ovina en la producción de pequeños rumiantes. México: AGT Editor SA, 1996.
67. FMVZ.unam.mx México DF: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia; 1997-2009. (Localización de CEPIPSA).
68. Galina C, Valencia J. Reproducción de animales domésticos. 2ª ed. México: Limusa, 2006.
69. Schiwe C, Fitz A, Brown L, Stuart D, Wildt E. Relationship of oestrus synchronization method, circulating hormones, luteinizing hormone and

- prostaglandin  $F_2\alpha$  receptors and luteal progesterone concentration to premature luteal regression in superovulated sheep. 1991; 93: 19-30.
70. Ruttle J, Lucero S, Key D, Daniels M, Rodriguez F, Yim HS. Ovine estrus synchronization and superovulation using norgestone B and follicle stimulating hormone-pituitary. *Theriogenology* 1988; 30: 421-427.
71. Baril G, Brebion P, Chesné P. Manual de Información práctica para el trasplante de embriones en ovejas y cabras. Roma: FAO, 1995.
72. Witenberger-Torrés S, Sevellec C. Atlas du développement embryonnaire précoce chez les ovins. INRA Publ Versailles 1987; 51.
73. Daniel W. Bioestadística, base para el análisis de las ciencias de la salud. 4ª ed. México, DF: LIMUSA, 2004.
74. SAS/STAT (computer program) versión 8.2. Cary (NC): SAS Institute Inc, 2004.
75. Menchaca A, Rubianes E. New treatments Associated with timed artificial insemination in small ruminants. *Rep Fert Dev* 2004; 16: 403-413.
76. Evans O. Ovarian follicle growth and consequences for fertility in sheep. *Anim Rep Sci* 2003; 78: 289-306.
77. Torrés S, Cognié Y. Superovulation and egg transfer in the ewe. *Rep Nutr Dev* 1984; 24(5A): 623-631.
78. Cueto M, Gibbons A. Transferencia de embriones en ovinos. IDIA XXI, INTA Buenos Aires 2004 A. 4(7): 79-82.
79. Pérez M. Esquemas de sincronización y superovulación con microbombas osmóticas en ovejas domésticas como modelo para hembras cimarrón. (Tesis de licenciatura). FMVZ, UNAM. México 2007.