

**UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
“ANTONIO NARRO”
DIVISION DE CIENCIA ANIMAL**



Transferencia de Embriones en Ovinos.

Por:

Edgar Alonso Ruiz Hernández.

MONOGRAFIA

Presenta como Requisito Parcial para Obtener

el Título de:

Ingeniero Agrónomo Zootecnista.

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. Febrero del 2019

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA

“ANTONIO NARRO”

DIVISION DE CIENCIA ANIMAL

Transferencia de Embriones en Ovinos.

Por:

Edgar Alonso Ruiz Hernández.

MONOGRAFIA

Que se somete a consideración del H. Jurado examinador, como requisito parcial para obtener el título de:

Ingeniero Agrónomo Zootecnista.

Presidente del Jurado.

Aprobada.

Dr. Fernando Ruiz Zarate

Asesor principal.

M.C. Raquel Olivas Salazar

Sinodal.

Dr. Ramiro López Trujillo

Sinodal.

Dr. Roberto García Elizondo

Sinodal.

Dr. José Dueñez Alanís

Coordinador de la División de Ciencia Animal.



Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. Febrero del 2019

AGRADECIMIENTOS.

A **Dios**, por haberme dado la oportunidad de cumplir una meta más en mi vida, brindarme salud y sobre todo por darme la fortaleza de aguantar estos años fuera de casa y lejos de los seres que más amo en este mundo.

A mi **Alma Mater**, por haberme acogido durante mi estancia, brindarme sus instalaciones y maestros que contribuyeron en mi formación profesional.

Al **Dr. Fernando Ruiz Zarate**, por su paciencia, confianza y apoyo brindado para la realización de este trabajo, además de contribuir en mi formación profesional estando al frente como un excelente maestro.

AL **Dr. Ramiro López Trujillo**, por su apoyo, dedicación y por aceptar ayudarme en la elaboración de este trabajo, también por haber sido un excelente profesor estando al frente del grupo en mi formación profesional.

A la **Mc. Raquel Olivas Salazar**, por haber aceptado de manera muy amable en contribuir en la realización de este trabajo, además de su paciencia y apoyo constante.

Al **Dr. Roberto García Elizondo**, por haber aceptado de manera muy amable en contribuir en la realización de este trabajo, además de contribuir en mi formación profesional estando al frente como un excelente maestro.

A **Mis maestros**, que durante toda mi estancia contribuyeron a mi formación profesional.

Al **Ing. Roberto Cepeda**, por ser un gran coach y amigo además guiarme por el buen camino durante mi estancia en la universidad, así como su incondicional apoyo.

DEDICATORIAS.

A mis padres.

Sr. Edgar Ruiz Ruiz, por confiar en mí y darme la oportunidad de superarme profesionalmente, además darme la libertad de elegir mi vocación, por enseñarme tantas cosas de la vida, también por saber guiarme por el buen camino y enseñarme todos los valores que ahora poseo, gracias papá.

Sra. Adla Hernández Coutiño, primeramente agradecerte por regalarme la vida, tenerme paciencia, y enseñarme a no rendirme ante las adversidades de la vida, gracias por todo el apoyo que me brindo durante mi estancia en la universidad, saber guiarme por el bien y sobre todo por darme tanto amor durante toda la vida.

A mi esposa.

Sra. Diana Hernández de la Torre, gracias por apoyarme y estar conmigo en los momentos más difíciles, por tenerme mucha paciencia, por demostrarme mucho amor y sobre todo por haberme dado el regalo más hermoso del mundo, nuestra pequeña hija.

A mi hija.

Grecia Ruiz Hernández, por ser mi principal motivación de superarme, por ser tan tierna y unir a la familia que ahora derrocha mucha felicidad, por ser el más hermoso regalo que dios me pudo haber dado.

A mis hermanos.

Alexa, Bibí, Raquel y Naomi, por apoyarme en los momentos más difíciles, también por todo el sacrificio que han hecho para que esto logro fuera posible.

A mis suegros.

Sr. Cein Hernández y Sra. María de la Torre, por su incondicional apoyo y por la confianza que me brindaron durante mi estancia en la universidad.

A mi tía.

Sra. Camelia Domínguez Ocaña, por haberme ayudado mucho durante toda la vida y ver por mí desde pequeño, por la paciencia y los buenos consejos, gracias tía.

A toda mi familia, Silvano, Lupita Montero, Alonso, Elda, Raquel, Esmeralda, Melina, Julio, Luis, Mario, Karen, Chelita, Jorge, Adriana, Jovita, Romeo, Lupita Llaven, Oralia, Gerson, Gisel, Julissa, por su incondicional apoyo en los momentos de mucha nostalgia y tristeza, además de hacerme sentir muy bien cuando más los necesite.

Una disculpa si olvido mencionar a alguien pero gracias a todos que de una u otra manera contribuyó en este logro.

INDICE.

| | |
|---|-----|
| AGRADECIMIENTOS..... | III |
| DEDICATORIAS..... | V |
| INDICE DE CUADROS..... | X |
| INDICE DE FIGURAS..... | XI |
| RESUMEN..... | 12 |
| INTRODUCCION..... | 13 |
| OBJETIVOS..... | 14 |
| Objetivo general..... | 14 |
| Objetivos específicos..... | 14 |
| METODOLOGIA..... | 15 |
| REVISION DE LITERATURA..... | 16 |
| Antecedentes de la transferencia de embriones..... | 16 |
| Anatomía del tracto reproductivo de la oveja..... | 17 |
| Ovario:..... | 18 |
| Oviducto:..... | 18 |
| Útero..... | 18 |
| Cuello uterino..... | 19 |
| Vagina:..... | 19 |
| Vulva:..... | 20 |
| Madurez reproductiva..... | 20 |
| Ciclo estral de la oveja..... | 20 |
| Fisiología reproductiva de la oveja..... | 21 |
| Control hormonal del ciclo estral en ovinos..... | 22 |
| Estacionalidad en ovinos..... | 24 |
| Fines de usos de la Transferencia de embriones (TE)..... | 25 |
| Mejoramiento genético..... | 25 |
| Bioseguridad..... | 26 |
| Uso de otras técnicas reproductivas..... | 26 |
| Transporte de germoplasma..... | 26 |
| Conservación del material genético..... | 26 |
| Hembras donantes..... | 27 |
| Criterios para seleccionar a hembras donantes..... | 27 |
| Hembras receptoras..... | 28 |
| Criterios para seleccionar a hembras receptoras..... | 28 |
| Preparación general y mantenimiento de hembras donantes y receptoras..... | 28 |
| Identificación:..... | 29 |

| | |
|--|----|
| Agrupamiento | 29 |
| Tratamiento parasitario | 29 |
| Alimentación | 30 |
| Cuidados del parto | 30 |
| Sincronización de celo en la transferencia de embriones..... | 30 |
| Métodos de sincronización de celo..... | 31 |
| Sincronización de celo con prostaglandinas F2 α | 31 |
| Sincronización de celo con progestágenos..... | 31 |
| Superovulación..... | 34 |
| Superovulación con PMSG o eCG..... | 35 |
| Superovulación con FSH..... | 36 |
| Superovulación con PMSG + FSH..... | 38 |
| Fecundación de la hembra donante..... | 39 |
| Monta natural | 39 |
| Inseminación cervical | 40 |
| Inseminación artificial intrauterina por laparoscopia..... | 41 |
| Momento de la fecundación de la hembra donante..... | 43 |
| Colección de embriones..... | 44 |
| Procedimiento de la intervención quirúrgica..... | 45 |
| Búsqueda y recuperación de los embriones..... | 49 |
| Clasificación de los embriones..... | 49 |
| Clasificación por estadio o edad | 50 |
| Clasificación por calidad embrionaria | 51 |
| Manejo del embrión..... | 53 |
| Criopreservación de embriones..... | 54 |
| Congelamiento..... | 55 |
| Descongelamiento..... | 56 |
| Transferencia de embriones..... | 56 |
| DISCUSION..... | 60 |
| ¿Qué tan común es la transferencia de embriones a nivel mundial? | 60 |
| ¿Qué tan común es la transferencia de embriones en México? | 60 |
| ¿Qué tipo de productor practica la transferencia de embriones? | 60 |
| ¿Qué se pretende producir cuando se practica? | 61 |
| CONCLUSIONES..... | 62 |
| LITERATURA CITADA..... | 64 |

INDICE DE CUADROS.

| | |
|--|-------------------------------|
| Cuadro 1.- Ciclo estral de la oveja, dividida por fases y mostrando los principales eventos ocurridos. | 21 |
| Cuadro 2.- Duración del anestro estacional en diferentes razas ovinas..... | 25 |
| Cuadro 3.- Presentaciones y concentraciones de los progestágenos más comunes utilizados en los ovinos..... | ¡Error! Marcador no definido. |
| Cuadro 4.- Preparados comerciales de FSH según su origen (ovino o porcino)..... | 36 |
| Cuadro 5.- Promedio de ovulaciones de la oveja en función de la modalidad de administración de la FSH porcina | 37 |
| Cuadro 6.- Efecto de la dosis de FSH en el número de ovulaciones y embriones por donante | 38 |
| Cuadro 7.- Estadios del embrión de la oveja colectados en diferentes días después del inicio del celo | 45 |
| Cuadro 8.- Códigos numéricos de clasificación embrionaria por estadio de acuerdo al grado de avance de división celular..... | 51 |
| Cuadro 9.- Grados de calidad embrionaria de acuerdo a sus características morfológicas . | 52 |
| Cuadro 10.- Preparación del medio mPBS | 54 |
| Cuadro 11.- Programa de sincronización de celos, superovulación y fertilización de hembra donante y receptora. | 59 |

INDICE DE FIGURAS.

| | |
|--|----|
| Figura 1.- Tracto reproductivo de la oveja. | 17 |
| Figura 2.- Cambios hormonales durante el ciclo estral de la oveja. | 23 |
| Figura 3.-. Animal perfectamente identificado con arete claramente legible..... | 29 |
| Figura 4.- Dispositivos intravaginales y esponjas de espuma de (poliuretano) respectivamente. | 32 |
| Figura 5.- Colocación de esponja vaginal impregnada con progesterona..... | 33 |
| Figura 6.- Inseminación artificial por vía vaginal..... | 41 |
| Figura 7.- Inseminación por laparoscopia..... | 43 |
| Figura 8. Aplicación de anestesia mediante inyección intravenosa de tiopental sódico..... | 47 |
| Figura 9. Colocación de hembra en una mesa de sujeción..... | 47 |
| Figura 10. Preparación del campo operatorio..... | 47 |
| Figura 11.- Incisión del abdomen a nivel de la línea blanca..... | 48 |
| Figura 12.- Exteriorización de los cuernos uterinos y ovarios..... | 48 |
| Figura 13.- Punción la región útero-tubarica..... | 48 |
| Figura 14.- Punción para la inyección de 20 cc de PBS..... | 48 |

RESUMEN.

El presente documento está elaborado con una amplia recopilación de información de revistas científicas, libros, folletos, páginas webs y manuales, entre otros. La información con la que este trabajo se realizó es tanto antigua como actualizada, y se elaboró con la finalidad de dar a conocer información sobre la transferencia de embriones en los ovinos, es decir, mostrar la metodología para poder llevarla a cabo, parámetros a considerar y ¿cuáles son las ventajas y desventajas? de utilizar esta técnica en ovinos, ya que es una biotecnología reproductiva muy buena para hacer mejoramiento genético y aprovechar al máximo el potencial genético de hembras sobresalientes. Sin embargo también posee inconvenientes, los cuales se tienen que considerar atentamente para poder llevar a cabo una transferencia de embriones de manera exitosa.

El trabajo fue realizado siempre con la supervisión de los asesores, con una constante y detallada revisión, para que la información presentada fuera muy bien estructurada, entendible y desarrollada para facilitar al lector la comprensión de la misma y pueda ser usada de guía para la elaboración de nuevos trabajos prácticos como teóricos.

Palabras claves: Transferencia, embriones, ovejas, biotecnología y ovinos.

INTRODUCCION.

Actualmente la investigación en temas de carácter científico juega un papel muy importante en el sector pecuario, en especial en temas reproductivos ya que contribuyen de manera importante en la rentabilidad de una empresa ganadera. Es por ello que hablar de tecnologías de índole reproductivo pueden ayudar a muchos productores a tener una explotación realmente rentable, claro sin dejar por un lado aspectos como sanidad, ambiente, genética y buenas prácticas de manejo.

La transferencia de embriones (TE) es un método de reproducción artificial que consiste en la obtención de varios embriones generados por una hembra donante, y que posteriormente serán inoculados en hembras receptoras.

Desde los orígenes de la domesticación animal, los ganaderos han tratado de mantener la renovación de sus plantales a partir de individuos de la más alta calidad genética, a fin de incrementar la productividad de su ganado. El objetivo de la selección animal, es pues, de orden económico. Para racionalizar la selección y difundir reproductores con las mejores condiciones genéticas, se han elaborado métodos de selección y reproducción más complejos (Baril y Brebion, 1995).

Para lograr este objetivo es necesario contar con un número elevado de embriones transferibles (Cabodevilia y Torquati, 1984).

El interés principal del trasplante de embriones es aumentar la descendencia de las hembras que se consideran mejores desde el punto de vista zootécnico (Baril, *et al.*, 1995).

OBJETIVOS.

Objetivo general.

El objetivo de este trabajo es recopilar información en el tema de Transferencia de Embriones en Ovinos y publicarla para que los estudiantes, productores, profesionistas, y aquellas personas interesadas tengan acceso y sirva de guía en sus trabajos.

Objetivos específicos.

- Proporcionar la metodología para realización de esta biotecnología.
- Parámetros a considerar para llevar a cabo una transferencia de embriones.
- Proporcionar cuales son las ventajas y desventajas de hacer una transferencia de embriones en ovinos.

METODOLOGIA.

Para la realización de este trabajo se llevó a cabo en tres etapas como se mencionan a continuación.

- **Primera etapa:** Se identificaron temas de interés para realizar este trabajo y se hizo una amplia recopilación de información en libros, revistas científicas, publicaciones, folletos, manuales, sitios webs, publicaciones de dependencias gubernamentales, publicaciones de investigadores entre otras.
- **Segunda etapa:** En esta etapa se analizó, interpretó y se organizó toda la información recabada, para ello siempre se contó con el apoyo de los asesores con una constante revisión y corrección del trabajo.
- **Tercera etapa:** La tercera etapa final se llevó a cabo la redacción y revisión del trabajo, el cual fue revisado por los asesores, realizando las correcciones correspondientes para su documentación, presentación y posteriormente su publicación.

REVISION DE LITERATURA.

Antecedentes de la transferencia de embriones.

Los ovinos (*Ovis aries*) son considerados dentro de las primeras especies domesticadas por el hombre, y han contribuido de manera importante con la producción de alimento y lana para la creciente población mundial (Shelthon, 1995; citado por Barceló, *et al.*, S/F).

La primera transferencia de embriones data del año 1880, cuando Heape transfirió embriones de una coneja a otra, pero fue hasta 1933, Warwick y Berry utilizaron la técnica por primera vez en ovejas, obteniendo un cordero (Baril, *et al.*, 1995).

La primer transferencia de embriones se reportó por Warwick *et al* (1934). Posteriormente, Hunter (1995) transfirió 19 embriones de 2 a 16 células de estadio embrionario a 18 receptoras, de las cuales nacieron 8. More y Rowson (1960) en Australia, Tervit y Havick (1976) en Nueva Zelanda, realizaron otros trabajos que cimentaron las bases y condiciones para hacer posible el desarrollo de la (TE) (Barceló, *et al.*, S/F).

Un autor sostuvo que “la laparotomía se utilizó para la observación de los ovarios en 1961 por Lamond y Urguhart, sin embargo esta provocaba adherencias que interferían con la posterior fertilidad de los animales”. Roberts en 1968 describió una técnica laparoscópica en ovejas y desde entonces esta técnica ha ido adquiriendo una creciente importancia (Paves y Correa, 1988).

Anatomía del tracto reproductivo de la oveja.

Los órganos reproductivos femeninos que se observan en la figura 1 y que pertenecen a los mamíferos constan de los ovarios y luego de las porciones en forma de tubo llamados oviductos, útero, cuello uterino, vagina, y vulva (Anónimo, 2008).

La porción craneal del ligamento ancho se une al ovario y le sirve de soporte, esta porción se denomina ligamento mesovario. El oviducto está cubierto y suspendido por una parte del ligamento ancho, quien también brinda soporte y se denomina mesosalpinx. El mesometrio, la parte más caudal del ligamento ancho, sirve de soporte a los cuernos uterinos, el útero y el cuello uterino (Porrás, *et al.*, 2003).

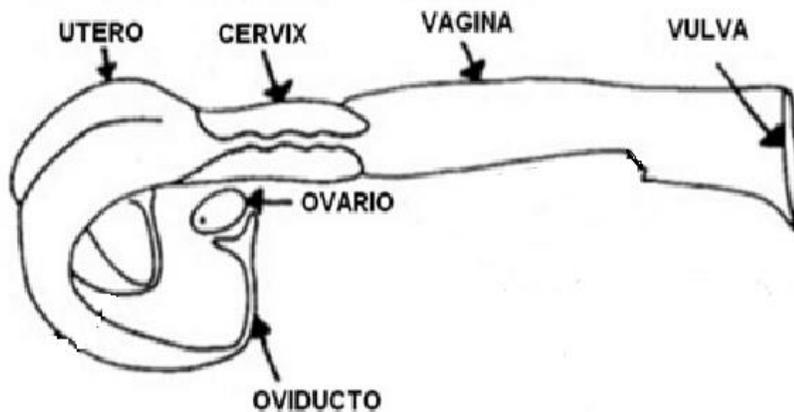


Figura 1.- Tracto reproductivo de la oveja.

Ovario: El ovario posee funciones exocrinas (liberación de óvulos) y endocrinas (formación de esteroides hormonales). En ovejas el ovario tiene forma de almendra y miden entre 1,3 a 1,9 cm. Está constituido por medula y corteza, la corteza ovárica contiene los folículos ováricos (que se desarrollan hasta liberar los óvulos), los cuerpos lúteos (responsables de mantener la gestación), o ambos, en diferentes etapas de formación o regresión. En ovejas el ovario descansa en una bolsa ovárica ancha y abierta (Anónimo, 2008).

Oviducto: Los oviductos están suspendidos en la mesosalpinx que es un pliegue peritoneal derivado de la parte lateral del ligamento ancho. El oviducto tiene una superficie de 6 a 10 cm² y este se divide en cuatro segmentos funcionales: la fimbria; el infundíbulo; la ámpula o ampolla; y el istmo. El oviducto cumple con la función de dar paso a los óvulos y a los espermatozoides en direcciones opuestas, para completar el encuentro de estos. El oviducto proporciona un medio óptimo para la unión de los gametos y para el desarrollo embrionario temprano otorgando nutrición, como protector del esperma, ovocito y embrión subsecuente; además permite la capacitación espermática, la fecundación y desarrollo de la implantación temprana. Los embriones luego de formados permanecen en el oviducto por pocos días antes de ser transportados al útero (Anónimo, 2008).

Útero: El útero consta de dos cuernos que miden alrededor de 10 a 12 cm, un cuerpo y un cérvix (cuello). En ovejas el útero es de tipo bipartido, donde existe un tabique que separa los dos cuernos y cuerpo uterino prominente. En el cuerpo del útero se pueden reconocer dos capas: endometrio y miometrio. El útero desempeña varias funciones. El endometrio y los líquidos juegan un papel importante en el

proceso de la reproducción: transporte de espermatozoides desde el sitio de eyaculación al sitio de fecundación del oviducto; regulación de la función del cuerpo lúteo (para mantener la gestación); e iniciación de la implantación, preñez y parto. Durante el apareamiento la contracción del miometrio es esencial para el transporte de espermatozoides desde el sitio de la eyaculación al sitio de fecundación (Anónimo, 2008).

Cuello uterino: El cuello es una estructura tipo esfínter que se proyecta en sentido caudal hacia dentro de la vagina. Es un órgano fibroso de tejido conjuntivo y un poco de tejido muscular liso. En rumiantes tiene forma de bordes transversales o espirales alternados llamados anillos. Esta estructura anatómica normalmente se encuentra cerrada, excepto durante el estro, momento en el que se relaja ligeramente y permite que el espermatozoide penetre el útero. En la oveja mide 2,5 a 5,0 cm de largo. El extremo vaginal del cérvix se ubica centralmente en el trasfondo vaginal presentando distintas formas, lo que junto con su estrechez hace ser la principal dificultad en la inseminación artificial cervical de ovinos (Anónimo, 2008).

Vagina: La vagina mide de 10 – 12 cm. Su pared consta de un epitelio superficial, una capa muscular y una capa cerosa. La vagina desempeña varias funciones en la reproducción. Es el órgano copulatorio en el que el semen se deposita y coagula hasta que los espermatozoides son transportados por medio de las macromoléculas del moco cervical hacia el útero y posteriormente a los oviductos. La vagina sirve como conducto excretor de las secreciones del cuello uterino, endometrio y oviducto; también sirve de vía de salida del feto durante el parto (Anónimo, 2008).

Vulva: Se compone de vestíbulo, labios mayores, labios menores, clítoris y glándulas vestibulares. La unión de la vagina y el vestíbulo está marcada por el orificio uretral externo y con frecuencia por un borde (vestigio del himen) (Anónimo, 2008).

Madurez reproductiva.

El inicio de la actividad fisiológica del sistema reproductor tiene lugar cuando los animales han logrado un determinado desarrollo corporal, variable entre razas, especies, edad al nacimiento, etc. El momento en el cual se inicia la actividad reproductiva se le denomina “pubertad”. Por lo tanto puede definirse como el momento en el que el animal puede producir y liberar gametos, así como manifestar secuencias completas de comportamiento sexual (Mantecón, *et al.*, 1997).

Ciclo estral de la oveja.

Se denomina ciclo estral el periodo transcurrido entre celos. En la estación reproductiva las ovejas presentan ciclos estrales o celos cada 17 días. El **proestro** tarda 2 días, que es el periodo en el que el aparato reproductivo se prepara para las manifestaciones del estro o calor, se puede ver edema en la vulva y las glándulas comienzan a producir mucus. El **estro** o calor dura de 24 a 36 horas y en él influye la raza, edad y presencia del macho. El **metaestro** también dura 2 días y es el periodo que sigue al estro, momento en que se inicia el desarrollo del cuerpo amarillo o cuerpo lúteo que es una estructura que se forma en el ovario responsable de la producción de una hormona llamada progesterona, que es la responsable de mantener la gestación. El **diestro** o periodo del cuerpo amarillo, tarda alrededor de

11 días y es donde prevalece el efecto de la hormona progesterona, aunque puede ser variable, según la raza, edad, etapa de la estación reproductiva, y condiciones del medio ambiente (Anónimo, 2008).

Para su estudio podemos dividir el ciclo estral de la borrega en una fase folicular y una fase lútea, como se muestra a continuación en el cuadro 1.

Cuadro 1.- Ciclo estral de la oveja, dividida por fases y mostrando los principales eventos ocurridos (Anónimo, 2008).

| FASE FOLICULAR | | FASE LUTEA | |
|---------------------------------|--|--|---|
| PROESTRO | ESTRO | METAESTRO | DIESTRO |
| Desarrollo folicular (3-4 días) | Receptividad sexual y ovulación final (1/2 día). | Desarrollo inicial del cuerpo lúteo (2 días) | Fase madura del cuerpo lúteo (11-13 días) |

Fisiología reproductiva de la oveja.

La aptitud reproductiva de las hembras de mamíferos se establece durante un periodo concreto de su vida, iniciándose con la pubertad y la madurez sexual y terminando mucho antes del final de sus funciones vitales (López, *et al.*, 1993).

A pesar de este periodo limitado de capacidad de gestación, el sistema endocrino que soporta la responsabilidad del control de las funciones sexuales y reproductivas es activo a lo largo de toda la vida reproductiva de la hembra, incluso en periodo fetal (López, *et al.*, 1993).

La fisiología reproductiva de la oveja está determinada por factores exógenos (alimentación, clima, fotoperiodo), y endógenos (gestación, lactación, condición corporal). Estos factores estimulan o inhiben la capacidad de control del sistema endocrino sobre la elaboración de gametos funcionales y capacidad de gestación (López, *et al.*, 1993).

Control hormonal del ciclo estral en ovinos.

Los eventos endocrinos presentes durante el ciclo estral son regulados por el hipotálamo (mediante la secreción de GnRH), la hipófisis (secreción de LH y FSH), el folículo (secreta estrógenos e inhibina), el cuerpo lúteo (secreta progesterona) y el útero (productor de prostaglandina F2 α). En el proestro una rápida disminución en los niveles de progesterona plasmática precede al estro, causada por la liberación de prostaglandina F2 α desde el endometrio. La disminución en las concentraciones de progesterona permite al folículo ovulatorio crecer y secretar estradiol; la captación de estradiol plasmático por receptores específicos en el hipotálamo puede “disparar” el mecanismo neural que permite los cambios de comportamiento asociados con el inicio del celo. Durante el estro la hembra es receptiva al macho y permite la cópula. Un pico en las concentraciones de estradiol aparece después del inicio del estro e induce la descarga preovulatoria de LH. Ésta induce la ovulación e inicia el proceso de luteinización de las células de la teca y la granulosa. Durante el metaestro, se desarrolla un nuevo cuerpo lúteo, las concentraciones de progesterona inician su elevación hasta que, en el diestro, el cuerpo lúteo termina su proceso de maduración. Si existe un embrión viable en el útero, este enviara señales de reconocimiento materno que frenara el proceso de

luteólisis, evitando que el animal inicie un nuevo ciclo estral y mantenga así la vida del cuerpo lúteo durante toda la gestación (Atuesta y Gonella, 2011).

En la figura 2, podemos observar los cambios hormonales que surgen durante el ciclo estral, de esta forma, para el estudio podemos tener un panorama amplio de que es lo que ocurre en cada día del ciclo.

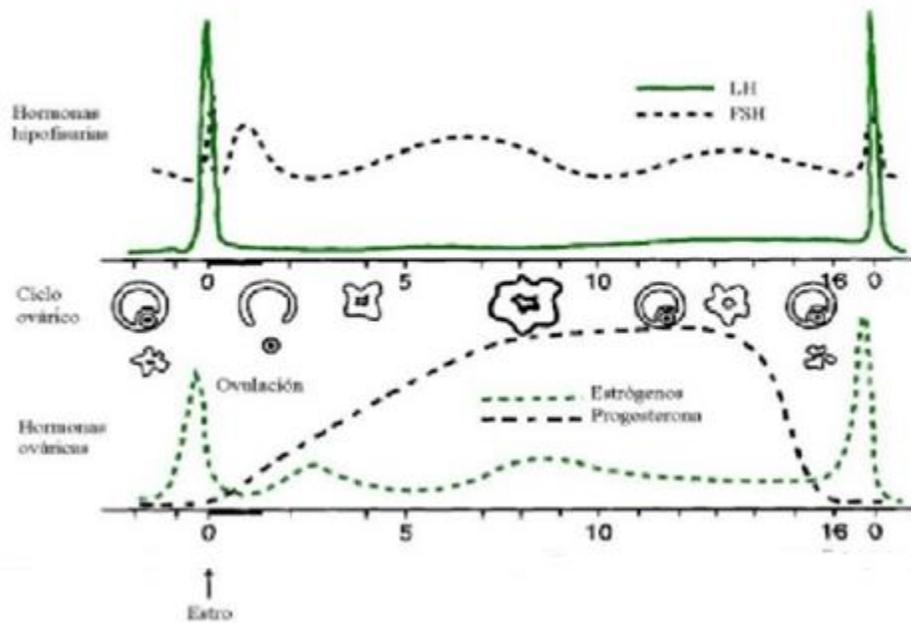


Figura 2.- Cambios hormonales durante el ciclo estral de la oveja (Haman, 2011).

Estacionalidad en ovinos.

La actividad reproductiva de la oveja es poliéstrica estacional caracterizada por una época al año en que la mayoría de las hembras presenta cíclicamente estros o celos (estación sexual) y otra época del año en que un porcentaje variable de las mismas -según la raza- presenta inactividad sexual (anestro) (Gibbons, *et al.*, 1995).

La mayor cantidad reproductiva se presenta en el periodo otoño-invernal, estimulada por el acortamiento del periodo diario de luz solar. A comienzos de la estación reproductiva, las ovejas presentan generalmente una ovulación, no acompañada por su comportamiento sexual característico (celo silente), debido a la ausencia de un cuerpo lúteo previo. En algunos animales se presentan celos de una duración más corta de lo normal, como consecuencia de una regresión prematura de cuerpo lúteo. Por ambos motivos, el lapso de tiempo transcurrido entre los primeros celos que se manifiestan al inicio de estación de cría, es variable. El celo o estro es el periodo fértil que se presenta en la oveja a intervalos regulares de 17 días \pm 1 día, a menos que haya quedado preñada (Gibbons, *et al.*, 1995).

En general, es común que las razas ovinas originarias de latitudes extremas ($\approx 35^\circ$ de latitud norte o sur) tengan un anestro estacional superior a los cinco meses de duración y en ocasiones de ocho meses (cuadro 2), mientras que en las razas de latitudes bajas (menores a 35°) este periodo no suele superar los tres meses (Porras, *et al.*, 2003).

Cuadro 2.- Duración del anestro estacional en diferentes razas ovinas (Porras, et al., 2003)

| Referencia | Lugar | Latitud | Raza | Periodo de anestro (mes) | | | | | | | | | | | | Duración del anestro (años)- |
|--------------------------------|-------------------------|----------|--------------------------------|--------------------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|------------------------------|
| | | | | E | F | M | A | M | J | J | A | S | O | N | D | |
| Dýrmondsson (1978) | Islandia (Hvanneyri) | 64°34' N | Ovejas nativas | [Barra de anestro: meses 4-10] | | | | | | | | | | | | 219 |
| Wheeler y Land (1977) | Escocia (Roslin) | ~ 56° N | Finnish - Landrace | [Barra de anestro: meses 4-10] | | | | | | | | | | | | 166 |
| | | | Tasmania - Merino | [Barra de anestro: meses 4-10] | | | | | | | | | | | | 181 |
| | | | Scottish - Blackface | [Barra de anestro: meses 4-10] | | | | | | | | | | | | 235 |
| Land et al (1973) | Francia (Nouzilly) | 47°30' N | Romanov Solognote | [Barra de anestro: meses 4-10] | | | | | | | | | | | | 164 |
| Thimoner y Mauleón (1969) | Francia (Jouy-en Josas) | 48°30' N | Ile - de - France Préalpes | [Barra de anestro: meses 4-10] | | | | | | | | | | | | 179 |
| | | | | [Barra de anestro: meses 4-10] | | | | | | | | | | | | 114 |
| Rawlings et al (1977) | E.U.A. (South Caroline) | ~33° N | Western Whiteface | [Barra de anestro: meses 4-10] | | | | | | | | | | | | ~ 91.5 |
| Webstery Haresing (1983) | Inglaterra (Nottingham) | ~ 53° N | Dorset - Horn Welsh - Mountain | [Barra de anestro: meses 4-10] | | | | | | | | | | | | 100 |
| | | | | [Barra de anestro: meses 4-10] | | | | | | | | | | | | 183 |
| Amir y Gacitua (1985) | Israel (Bet -Dagan) | ~ 32° N | Finn - cross | [Barra de anestro: meses 4-10] | | | | | | | | | | | | 152 |
| Saiz et al (1980) | España (Madrid) | ~ 40° N | Manchega | [Barra de anestro: meses 4-10] | | | | | | | | | | | | 114 |
| Gonzalez et al. (1980) | España (Badajoz) | ~ 39° N | Merino | [Barra de anestro: meses 4-10] | | | | | | | | | | | | 97 |
| Ammar Khodja y Brudieux (1982) | Argelia - Alger | 36°30' N | Tamid | [Barra de anestro: meses 4-10] | | | | | | | | | | | | ~ 91.5 |
| | | | | [Barra de anestro: meses 4-10] | | | | | | | | | | | | 52 |

Fines de usos de la Transferencia de embriones (TE).

A pesar de que la TE en ovinos presenta algunas dificultades, es una técnica que se ha empleado en una forma creciente en los últimos años, ya que proporciona ventajas en mejoramiento genético, bioseguridad, uso de tecnologías reproductivas, transporte de germoplasma y conservación de material genético (Barceló, et al., S/F).

Mejoramiento genético: Convencionalmente se han utilizado la selección y apareamientos planeados para incrementar la producción de leche, carne y lana; para lo cual se ha puesto principal énfasis en el macho, ignorando el potencial de la hembra. La TE es una herramienta de gran utilidad que permite utilizar al máximo

la capacidad reproductiva de las hembras de alto valor genético, ya que permite incrementar la intensidad de selección de las hembras destinadas a la producción de machos superiores, al disponer de un mayor número de crías por hembra; y además, permite acortar el intervalo generacional al evaluar a los animales a través de grupos grandes de hermanos, en lugar de hacerlo a través de su progenie (Barceló, *et al.*, S/F).

Bioseguridad: La TE reduce el riesgo de transmisión de agentes patógenos y, por ende, la transmisión de enfermedades, ya que la zona pelúcida del embrión antes de la extrusión constituye una barrera natural en contra de agentes patógenos. Se ha demostrado que en ovinos es posible obtener embriones sin riesgos sanitarios de enfermedades como son: brucelosis, fiebre aftosa, entre otras, por lo que con la TE puede lograr la producción de rebaños libre de enfermedades (Barceló, *et al.*, S/F).

Uso de otras técnicas reproductivas: En la producción de embriones se puede usar semen fresco o criopreservado, así como el semen sexado. También se puede complementar con la micromanipulación embrionaria, en donde por medio de la bipartición, se incrementa la tasa de gemelos idénticos (Barceló, *et al.*, S/F).

Transporte de germoplasma: Permite la fácil movilización de germoplasma, con menor costo de envío, menos requerimientos de cuarentena y menor potencial de riesgos sanitarios, en comparación con el movimiento de animales, lo que facilita la comercialización de material genético entre países o regiones (Barceló, *et al.*, S/F).

Conservación del material genético: A través de la criopreservación se pueden conservar embriones por tiempo indefinido en nitrógeno líquido; esto permite la

formación de bancos de germoplasma para el resguardo de genes y genotipos de interés para la conservación de razas o especies (Barceló, *et al.*, S/F).

Hembras donantes.

Los animales donantes son los que son seleccionados por tener un alto valor genético. Donantes y receptoras deberán satisfacer los criterios fisiológicos y patológicos que condicionan el éxito de las operaciones (Baril, *et al.*, 1995).

Criterios para seleccionar a hembras donantes.

- Animales de alto valor genético, con criterios superiores a las de su raza (Gibbons, *et al.*, 1995).
- Buena condición corporal (2, es apropiado en una escala del 1 al 5) (Barceló, *et al.*, S/F).
- Evitar animales obesos generalmente dan resultados negativos o inferiores al promedio (Barceló, *et al.*, S/F).
- Buen estado reproductivo, las hembras deben haber tenido al menos una cría y se debe de considerar un mínimo de 2 meses post-parto antes de comenzar los tratamientos hormonales. Acortar esos tiempos puede repercutir en una pobre fertilidad (Gibbons, *et al.*, 1995).
- Buen estado sanitario (libre de enfermedades) (Gibbons, *et al.*, 1995).
- Dar al animal un periodo de adaptación en el lugar donde se va a manejar para evitar el mayor estrés posible (Barceló, *et al.*, S/F).
- Si son animales de lana, deben estar esquiladas para estar limpias al momento de hacer la intervención quirúrgica (Barceló, *et al.*, S/F).

Hembras receptoras.

Son aquellos animales que cuyas características anatómicas y fisiológicas son aptas para recibir un embrión de una hembra donadora dentro de su útero y tener la facultad de que este se desarrolle de una excelente forma, llevando al embrión hasta el parto y posteriormente su crecimiento mediante la buena habilidad materna.

No se tiene ninguna exigencia a ese tipo de selección (animales de alto valor genético) en receptoras (Baril, *et al.*, 1995).

Criterios para seleccionar a hembras receptoras.

- Condición corporal entre 2 y 3, en una escala de 1 a 5 (Barceló, *et al.*, S/F).
- Excelente salud libre de brucelosis, tuberculosis, neumonía progresiva ovina, mastitis entre otras (Barceló, *et al.*, S/F).
- Constar al menos 60 días post-parto (Barceló, *et al.*, S/F).
- Seleccionar a las hembras por lo menos 4 a 8 semanas antes de la sincronización con un periodo mínimo de adaptación (Barceló, *et al.*, S/F).
- Utilizar preferentemente hembras adultas, con al menos un parto, y con historial de ser buenas madres (Barceló, *et al.*, S/F).

Preparación general y mantenimiento de hembras donantes y receptoras.

Antes de comenzar con un programa de transferencia de embriones existe un protocolo de preparación y mantenimiento que debemos seguir muy atentamente para obtener los mejores resultados posibles.

Identificación: La identificación de los animales debe ser lo suficientemente clara y permanente (a este efecto la utilización de lápices marcadores es insuficiente), la identificación deberá ser suficientemente perceptible para evitar toda manipulación inútil (Baril, *et al.*, 1995). Así pues la identificación deberá estar complementada por un collar, placa o arete en la oreja que se distinga a distancia, como se observa en la figura 3.



Figura 3.- Animal perfectamente identificado con arete claramente legible (Baril, *et al.*, 1995).

Agrupamiento: Los animales seleccionados se agruparán siempre que sea posible, en un mismo sitio para facilitar el manejo en las diversas intervenciones. El estrés propio a la adaptación a un nuevo entorno así como la instauración de una jerarquía dentro de un nuevo grupo puede perjudicar gravemente el éxito de las operaciones. Es necesario, por tanto, llevar a cabo la agrupación tanto en las donantes como las receptoras al menos dos meses antes de iniciar con los tratamientos (Baril, *et al.*, 1995).

Tratamiento parasitario: Las donantes y receptoras juntas pueden recibir un tratamiento sistemático a largo plazo al menos un mes antes del inicio de los

tratamientos. En el caso de exámenes coprológicos positivos, el tratamiento deberá estar especialmente dirigido a la infestación observada (Baril, *et al.*, 1995).

Alimentación: Las deficiencias proteicas, energéticas y de minerales o vitaminas, o cualquier otro desequilibrio en la alimentación, son factores bien identificados que originan problemas en la reproducción. El aumento del nivel energético alimentario durante las tres semanas que preceden a la puesta de reproducción (flushing) provoca en los ovinos un incremento en la tasa de ovulación y una disminución de luteolisis prematura en las inducidas a superovulación. Se recomienda, pues, la práctica del “flushing” tanto en las donantes como receptoras (Baril, *et al.*, 1995).

Cuidados del parto: En el momento del parto, el eficaz cuidado de las hembras contribuye a minimizar la mortalidad perinatal y los errores de filiación. Para que el rendimiento del trasplante de embriones no disminuya por negligencia en esta fase, la atención al parto deberá ser objeto de cuidado especial (Baril, *et al.*, 1995).

Sincronización de celo en la transferencia de embriones.

La sincronización del estro de las receptoras mediante el tratamiento progestacional (esponjas intravaginales, MAP o FGA), se realiza en forma conjunta con las hembras donantes. El objetivo es disponer de un similar estado fisiológico sexual entre donante y receptora al momento de realizar la transferencia de embriones para que estos tengan ambientes similares al pasar de un animal a otro permitiendo así la sobrevivencia del mismo (Gibbons, *et al.*, 1995).

Métodos de sincronización de celo.

Los métodos para sincronizar celos se pueden clasificar como naturales (efecto de macho tratado) o farmacológicos. Los métodos naturales son menos efectivos que los farmacológicos. Los métodos hormonales buscan replicar los cambios hormonales de un ciclo estral y dentro de estos métodos se pueden citar el empleo de las siguientes hormonas (Anónimo, 2008).

Sincronización de celo con prostaglandinas F2 α .

Este método básicamente se basa en la regresión del cuerpo lúteo. Su administración es por inyección vía (intramuscular) durante la fase luteal del ciclo resulta en la regresión del cuerpo lúteo cerca de 48 horas después. Este tratamiento es muy dependiente de la época reproductiva, así que no puede usarse para la inducción temprana de la actividad cíclica. El éxito de esta técnica depende de que la oveja tenga un cuerpo lúteo activo y también varía la eficacia según el periodo del ciclo. Poca o nula respuesta se espera con tratamientos durante los 5 días después del estro. Para solucionar estas limitaciones del estado del ciclo es común que en el tratamiento consista de 2 inyecciones separadas por 10 días (Anónimo, 2008).

Sincronización de celo con progestágenos.

Estas son progesteronas sintéticas. Existen tres tipos de progestágenos en el mercado usados comercialmente, la progesterona (hormona natural) y dos análogos mas (medroxy-progesteronacetato y la fluorogestona acetato) (Anónimo, 2008).

Estas son progesteronas sintéticas.

Dispositivo vaginal; que son cilindros de esponjas de espuma (poliuretano), impregnados con progesterona o dispositivos intravaginales que hacen la misma función ver (figura 4). En el (cuadro 3) se muestran presentaciones y concentraciones más comunes de los progestágenos más utilizados en los ovinos.

Estos métodos son mucho más prácticos en ovinos (Anónimo, 2008).

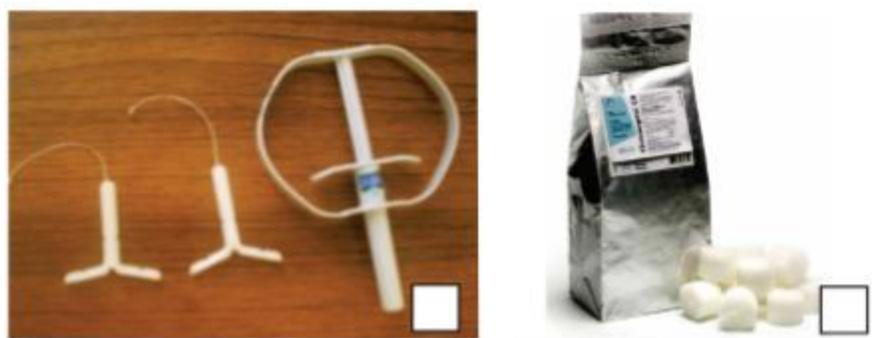


Figura 4.- Dispositivos intravaginales y esponjas de espuma de (poliuretano) respectivamente (Barceló, et al., S/F).

Cuadro 3.- Presentaciones y concentraciones de los progestágenos más comunes utilizados en los ovinos (Barceló, et al., S/F).

| Progestágeno | Concentración óptima | Dispositivo | Marca |
|--------------------------------------|-----------------------------|---------------------|--------------|
| Acetato de fluorogestona (FGA) | 30 a 40 mg | Esponja vaginal | Chronogest® |
| Acetato de medroxiprogesterona (MAP) | 50 a 60 mg | Esponja vaginal | Repromap® |
| Norgestomet | 2 a 6 mg | Implante auricular | CRESTAR® |
| Progesterona natural | 0.3 g | Dispositivo vaginal | CIDR-G® |

Tratamientos con esponjas; los tratamientos tradicionales para sincronizar celos consisten en la inserción de una esponja durante 12-14 días (Manes y Ungerfelt, 2015).

Las esponjas con 40 mg de FGA se recomiendan para las ovejas y las corderas en un periodo de reproducción. La colocación de estas esponjas se efectúa con un aplicador apropiado ver (figura 5). Deben adoptarse precauciones para evitar posible infecciones tras la aplicación. Para ello se espolvorea un antibiótico (por ejemplo: pulsauréo, Rhone-Merieux) en el contorno de la esponja y se desinfecta el aplicador (Barceló, *et al.*, S/F).



Figura 5.- Colocación de esponja vaginal impregnada con progesterona (González, S/F).

En general se inserta la esponja con progestágenos que deberá permanecer al menos 14 días, a fin de detener la actividad ovárica. Al retirar la esponja los ovarios de la oveja reinician su actividad en una forma pareja y entran en celo simultáneamente, si se pretende inducir a la ovulación múltiple inmediatamente del retiro de la esponja es el momento oportuno para aplicar PMSG (González, S/F).

Tratamiento con implantes subcutáneos: el tratamiento progestativo puede realizarse también por implantes subcutáneos impregnados con 30 mg de Repromap, que se colocan bajo la piel a nivel de la superficie externa de la oreja la eficacia de esta vía de administración es prácticamente la misma que la de las esponjas vaginales (Ainsworth y Wolynetz, 1982; Bretzlaff y Madrid, 1989; citado por Baril, *et al.*, 1995).

La aplicación y duración del implante en el organismo del animal es prácticamente la misma que en el caso de la esponja, con la desventaja que al animal tiene un mayor estrés al momento de poner y retirar el implante.

Superovulación.

Es el término que se utiliza cuando sometemos a una hembra donante a tratamientos hormonales para que el ovario produzca más de un ovulo, y al momento de inseminar al animal se obtenga un número alto de embriones transferibles.

El protocolo de administración de gonadotropinas en la superovulación de donantes es un factor importante en el resultado final de programas de transferencia de embriones en ganado ovino (Cocero, *et al.*, 2001).

La estimulación del crecimiento folicular por medio de la inducción a la superovulación (de las donantes) o de la ovulación (de las receptoras) tiene lugar normalmente al final del tratamiento progresivo (sincronización de celo) y se realiza mediante la aplicación de gonadotropinas coriónicas (PMSG) o hipofisarias (FSH/LH) (Baril, *et al.*, 1995).

La mayoría de razas de ovejas son capaces de mantener una camada de dos crías, pero el tamaño de camada de muchas razas de ovejas es menor de dos. Esto representa una pérdida del potencial reproductivo pero se puede solucionar estimulando el índice de ovulación con diferentes técnicas en hembras de alto valor genético (Córdova, *et al.*, 2008).

Existen diferentes métodos para inducir al ovario a tener una ovulación múltiple y podemos usar el que mejor nos convenga.

Superovulación con PMSG o eCG.

La placenta equina es una estructura endocrinológicamente activa que sintetiza y secreta PMSG. Entre los días 35 y 40 de gestación las concentraciones de estrógenos aumentan 2 a 3 veces conjuntamente con el inicio de secreción de PMSG, manteniéndose concentraciones elevadas hasta el día 70 de gestación (Espejel, *et al.*, 1988).

Esta hormona gonadotropina coriónica equina (PMSG O eCG, por sus siglas en ingles), se puede aplicar un día antes de terminar el tratamiento de sincronización de celo, en una sola dosis, ya sea intramuscular o subcutánea en solución salina o agua estéril en una concentración de 300-400 U.I. por animal (Barceló, *et al.*, S/F).

Los tratamientos con PMSG dan resultados inferiores a los obtenidos con FSH, debido a que por su elevado peso molecular, tiene una vida larga (21 horas) y provoca un crecimiento folicular disperso, induce la formación de folículos anovulatorios y luteinización folicular prematura, y reduce la fertilidad con

disminución de la calidad y la recuperación embrionaria (Armstrong y Evans, 1983; Armstrong *et al.*, 1983; More *et al.*, 1985; Tsunoda y Sugie, 1989; Walker, *et al.*, 1989; citado por Gibbons, *et al.*, 1995).

Superovulación con FSH.

Esta hormona es la que más frecuentemente se emplea para inducir a la superovulación en los pequeños rumiantes. Los preparados de FSH de origen porcino u ovino actualmente comercializados ver (cuadro 3), proceden de los extractos hipofisarios parcialmente purificados (Baril, *et al.*, 1995).

Cuadro 4.- Preparados comerciales de FSH según su origen (ovino o porcino) (Baril, et al., 1995).

| Origen | Denominación comercial | Firma |
|---------|------------------------|--|
| Ovino | EMBRYO-S | Embryo Plus; Australia |
| Ovino | OVAGEN | Inmuno-chemicals Products; Nueva Zelanda |
| Porcino | FSH-P | Schering; USA |
| Porcino | FOLLTROPIN | Vetrepharm; Canadá |
| Porcino | STIMUFOL | Rhône-Mérieux; Francia |
| Porcino | SUPER-OV | Ausa International; USA |

La superovulación con la administración de dosis repetidas hormona folículo estimulante lleva al desarrollo folicular y ovulación de hasta 20 ovocitos contra 1 a 3 que se forman normalmente (Barceló, *et al.*, S/F).

El tratamiento más aceptado para provocar la ovulación múltiple en ovinos es la aplicación de 16 mg totales de FSH. La administración se realiza vía intramuscular

o subcutánea, teniendo mejor respuesta en la aplicación intramuscular ver (cuadro 4) en dosis decrecientes (5, 4, 3, 2, 2 mg) cada 12 horas a partir del día 12 de haber colocada la esponja intravaginal con prostageno. Las esponjas se retiran en la cuarta aplicación de progestágenos (Barceló, *et al.*, S/F).

Cuadro 5.- Promedio de ovulaciones de la oveja en función de la modalidad de administración de la FSH porcina (Sharpe, *et al.*, 1986; citado por Baril, *et al.*, 1995.)

| | Modalidad de administración de FSH | |
|--|--------------------------------------|----------------------------------|
| | Inyección intramuscular ¹ | Implante subcutáneo ² |
| Promedio de ovulaciones/oveja (promedio ± sem) | 9,9 ± 1,2 | 6,5 ± 1,2 |
| Número de ovejas | 20 | 20 |

¹ Administración intramuscular de 12 mg: primera inyección de 3 mg y después 6 de 1,5 mg

² Administración de 12 mg: una inyección de 3 mg a la colocación de la bomba osmótica con un contenido de 9 mg de FSH.

En el cuadro 6, podemos observar el efecto de la dosis de FSH en el número de ovulaciones y embriones por donante (según Smith, *et al.*, 1984; citado por Baril, *et al.*, 1995).

Cuadro 6.- Efecto de la dosis de FSH en el número de ovulaciones y embriones por donante (según Smith, et al., 1984; Baril, et al., 1995).

| FSH (mg Armour) | Número de ovulaciones ¹ | Número de Embriones ¹ |
|-----------------|------------------------------------|----------------------------------|
| 0 | 1,9 ± 2,5 | 1,1 ± 2,5 |
| 12.0 | 6,7 ± 3,8 | 1,3 ± 3,9 |
| 14.5 | 6,7 ± 3,8 | 3,3 ± 3,9 |
| 17.0 | 8,4 ± 1,7 | 5,9 ± 1,7 |
| 19.5 | 12,1 ± 1,6 | 7,7 ± 1,6 |
| 22.0 | 14,4 ± 1,6 | 8,8 ± 1,6 |
| 30.0 | 10,7 ± 1,7 | 7,9 ± 1,7 |

¹ Promedio ± sem. FSH-P Burns Biotec, n = 79 ovejas de raza Tarhee.

Superovulación con PMSG + FSH.

Mediante este tipo de tratamiento combinado, se ha reportado un porcentaje mayor de ovejas con respuesta multiovulatoria a la dosis una de PMSG o FSH y con una tasa elevada de embriones transferibles (87%) (Ryan, *et al.*, 1993; citado por Gibbons, *et al.*, 1995).

Tanto en ovinos como caprinos se realice un tratamiento combinado de FSH en dosis decrecientes (dosis total: 12 mg, en 6 aplicaciones de 3, 3, 2 ,2 ,1 ,1 mg, distanciadas entre si cada 12 horas), junto con una administración única de PMSG (400 a 800 U.I.), 48 horas antes de retirar las esponjas con progestágenos (Gibbons, *et al.*, 1995).

En resumen (Gibbons, *et al.*, 1995) recomienda que debemos tener presente los siguientes conceptos al momento de iniciar la ovulación múltiple.

- La superovulación debe realizarse al final del tratamiento de sincronización de estros.
- La duración de la estimulación es semejante al crecimiento folicular terminal (3 días).
- Se recomienda el empleo de dosis combinadas de PMSG y FSH.

Fecundación de la hembra donante.

La fecundación de las hembras donantes puede realizarse mediante servicio natural, a corral o mediante inseminación artificial (IA), con semen fresco o congelado (Gibbons, *et al.*, 1995).

Monta natural: La utilización de la monta natural para la producción de embriones está limitada de hecho por el reparto geográfico de los machos de alto valor genético. Cuando el entorno permite la utilización de este método puede resultar interesante para la fecundación de hembras donantes de embriones (Gibbons, *et al.*, 1995).

En la monta libre, machos y hembras se dejan libres durante el periodo estimado de celos, a razón de un macho por 3-4 hembras (Gibbons, *et al.*, 1995).

En la monta controlada, el macho solo se presenta a las hembras en momentos estratégicos cada hembra debe ser cubierta al menos dos veces con 12 horas de intervalo durante el celo. Las montas más eficaces son sin duda las realizadas 12 y 24 horas después de haber aparecido el celo, la monta controlada permite el mejor

aprovechamiento del macho, evitando sobre todo las montas ineficaces al inicio del estro (Gibbons, *et al.*, 1995).

Inseminación cervical: La inseminación cervical puede llevarse a cabo mediante una pistola de inseminación multidosis, que permite mediante un embolo dentado, inseminar varias ovejas una vez cargado el semen, así como graduar el volumen de la dosis de inseminación (Gibbons y Cueto S/F)

Para realizar la inseminación cervical, las hembras se presentan inclinadas con la cabeza asía a bajo, con los cuartos traseros montados sobre una baranda o riel. Se limpia la vulva con una toalla y se aplica una muy pequeña cantidad de vaselina para facilitar la introducción del vaginoscopio. Este se introduce lentamente hasta el final de la vagina, donde se localiza el orificio de entrada al útero el (cérvix). Se solicita a un auxiliar la pistola de semen previamente cargada y es introducida mediante suaves movimientos giratorios hasta poder pasar el cervix como se presenta en la figura 6 (Gibbons y Cueto, S/F).

Los porcentajes de preñes logrados en inseminación cervical con semen fresco, varían entre el 60 y 70 % (Gibbons y Cueto, S/F), que si bien se ha mostrado que la inseminación cervical se puede penetrar el cervix el 87 % de los casos y tal porcentaje no coincide con las tasa de gestación (Hunter, 1991; Sharkey, *et al.*, 2001; citado por Gibbons, *et al.*, 1995).

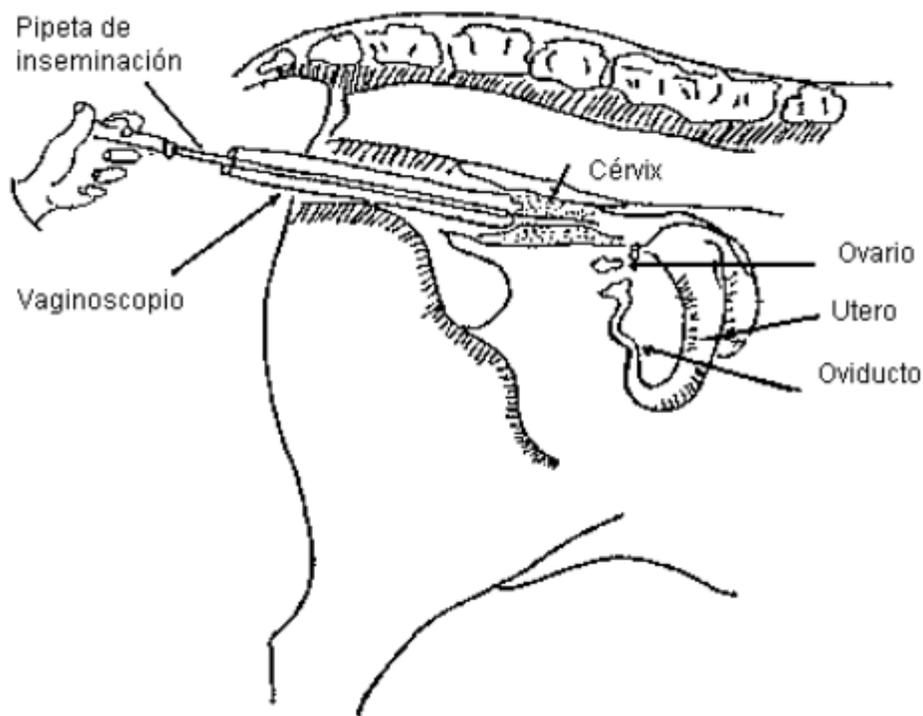


Figura 6.- Inseminación artificial por vía vaginal (Gibbons y Cueto, S/F).

Inseminación artificial intrauterina por laparoscopia: La inseminación intrauterina por laparoscopia es especialmente efectiva en donadoras con alta respuesta ovulatoria, y debe realizarse a la mitad del periodo de estro (Walker, *et al.*, 1996; citado por Barceló, *et al.*, S/F), ya que ahorra el transporte espermático a través del cérvix, y provee un método útil para incrementar la tasa de fertilización (Baril, *et al.*, 2000; citado por Barceló, *et al.*, S/F).

Procedimiento de inseminación intrauterina por laparoscopia: Se ponen a las ovejas en ayunas de 48 horas de alimento y 24 horas de agua. Esto reduce el contenido del rumen, facilitando la localización del aparato reproductor evitando además la regurgitación durante la laparoscopia. Las hembras son aseguradas en una camilla

donde se les esquila y lava el abdomen con jabón neutro. El animal se presenta al inseminador con los cuartos hacia arriba, en una inclinación de 45° (Gibbons y Cueto, S/F).

El material de laparoscopia (endoscopio, trócares 5 y 7 mm y cánulas correspondientes) se colocan en una bandeja con una solución desinfectante de amonio cuaternario (DG6), y será devuelto a la bandeja entre inseminación e inseminación (Gibbons y Cueto, S/F).

- Ingresar aire a la cavidad abdominal lo que facilita la visualización de los órganos internos (Gibbons y Cueto, S/F).
- Se introduce un trocar de 7 mm y cánula a la izquierda de la línea media de la oveja y a 5 cm de la ubre (Gibbons y Cueto, S/F).
- Reemplazar el trocar de 7 mm por el laparoscopio y examinar la cavidad abdominal para localizar los cuernos uterinos (Gibbons y Cueto, S/F).
- A través de la cánula de 5 mm se introduce el transcap con la vaina o aspic de inseminación y con la dosis correspondiente de semen (ver figura 7) (Gibbons y Cueto, S/F).
- La inseminación de la dosis de semen se realiza mediante la inyección en el tercio medio y en dorsal de los dos cuernos uterinos, depositándolo lentamente (Gibbons y Cueto, S/F).
- Se retira la vaina de inseminación y el laparoscopio permitiendo la salida del aire (Gibbons y Cueto, S/F).
- Se suturan las dos intervenciones (Gibbons y Cueto, S/F).

La inseminación laparoscópica se puede realizar con semen fresco (dosis = 80 millones de espermatozoides) o semen congelado (dosis=100 millones de espermatozoides) (Barceló, *et al.*, S/F).

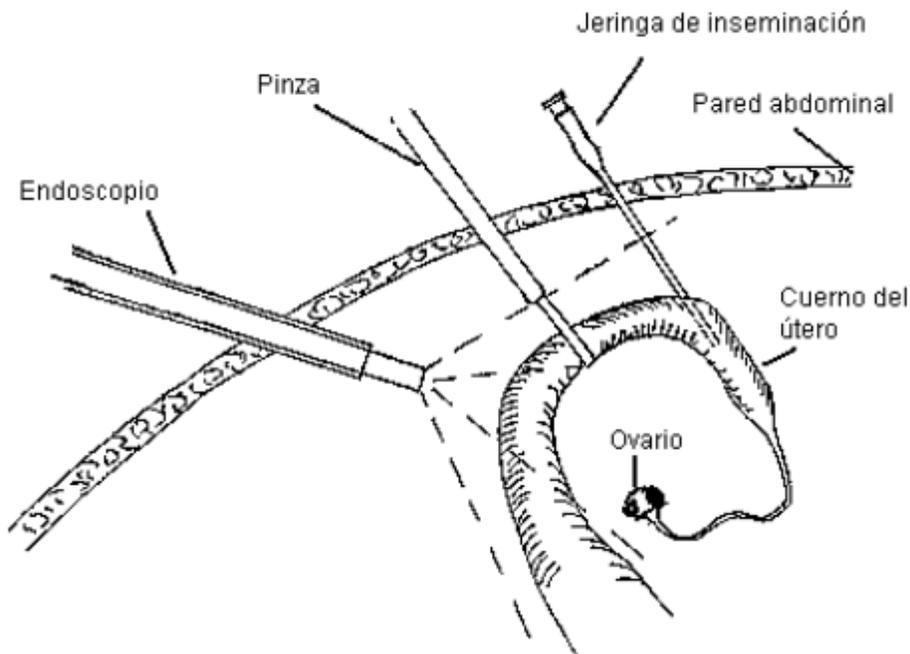


Figura 7.- Inseminación por laparoscopia (Gibbons y Cueto, S/F).

Momento de la fecundación de la hembra donante.

De acuerdo al método de sincronización de estros que se haya utilizado, la inseminación se realizará en forma sistemática o posterior a la detección del celo. Cuando se utilizan esponjas intravaginales en combinación con PMSG, la mayoría de las ovejas presentan celo 48 horas después del retiro de las esponjas, ovulando a las 60 horas. La inseminación cervical se realiza alrededor de 12 horas antes de la ovulación o sea entre las 48 y 59 post-tratamiento hormonal; mientras que la inseminación intrauterina, se realiza al momento de la ovulación, o sea entre 58 y 66 horas post-tratamiento (Gibbons y Cueto, S/F).

En ovinos mediante la inseminación artificial, se han obtenido tasas de fertilización del 77% y 93% en la inseminación cervical e intrauterina por laparoscopia respectivamente (Bebion, *et al.*, 1988; citado por Gibbons, *et al.*, 1995).

Colección de embriones.

Los embriones en pequeños rumiantes se pueden recuperar por vía quirúrgica (endoscopia y laparoscopia), bajo anestesia total. El proceso no quirúrgico no es recomendable en ovinos ya que el cérvix es muy difícil de penetrar, especialmente 6 a 7 días después del estro (Barceló, *et al.*, S/F).

La colección de embriones se realiza típicamente 6 a 7 días después de la fertilización o en el día 5 a 7 posterior al estro ver (cuadro 7) (Barceló, *et al.*, S/F).

Las razones por que hacerla en este tiempo son las siguientes:

- Los embriones se encuentran en el tercio superior de los cuernos uterinos suspendidos en una pequeña cantidad del líquido (Barceló, *et al.*, S/F).
- Los embriones presentan zona pelúcida, la cual es una barrera sanitaria indispensable (Barceló, *et al.*, S/F).
- La conservación y criopreservación se realiza en estado de mórula compacta o blastocito (Barceló, *et al.*, S/F).

Cuadro 7.- Estadios del embrión de la oveja colectados en diferentes días después del inicio del celo (Moore, 1980; Barceló, et al., S/F).

| Día de colección | Estadio embrionario |
|-------------------------|--|
| 2 | 2 a 4 células |
| 3 | 8 células |
| 4 | 8 a 20 células |
| 5 | Mórula temprana |
| 6 | Mórula compacta y blastocisto temprano |
| 7 | Blastocisto expandido y extruído |
| 8 | Blastocisto extruído o eclosionado |

Procedimiento de la intervención quirúrgica.

El material debe ser estéril (gasas, guantes, campos, etc.) y el equipo utilizado (instrumental y laparoscopio) debe ser desinfectado con yodo de espuma (Barceló, *et al.*, S/F).

La anestesia general se consigue mediante una inyección intravenosa (imagen 8) de 8 a 10 mg de tiopental sódico por kg de peso vivo (Baril, *et al.*, 1995).

- Se ubica a la hembra en una mesa de sujeción y en un plano inclinado ver (figura 9) (en una camilla con la cabeza hacia abajo) (Gibbons, *et al.*, 1995).
- Se rasura y se desinfecta el campo operatorio (imagen 10) (Gibbons, *et al.*, 1995).
- Se realiza una incisión a nivel de la línea media abdominal de a 7 cm, y 3 cm por delante de la ubre (imagen 11) (Gibbons, *et al.*, 1995).
- Se realiza la exteriorización de los cuernos uterinos y ovarios (imagen 12), para determinar la respuesta ovulatoria (número de cuerpos lúteos) (Gibbons, *et al.*, 1995).

- Se coloca una sonda (K33) que en su extremo dispone de una aguja (50/20) con punta no traumática y con perforaciones laterales y una central (Gibbons, *et al.*, 1995).
- Se realiza una punción la región útero-tubarica y se enhebra la sonda al interior del cuerno uterino (1cm) (imagen 13) (Gibbons, *et al.*, 1995).
- A 2 cm aproximadamente de la bifurcación de los cuernos uterinos, se realiza una segunda punción ver (imagen 14) para la inyección de 20 cc de PBS (La Solución Salina Amortiguada por Fosfatos) a 37°C. (de esta manera se produce una corriente de arrastre que fluye hacia el oviducto y que sale por la sonda hasta un Erlenmeyer de colecta previamente entibiado) (Gibbons, *et al.*, 1995).
- Se procede a suturar el peritoneo (Gibbons, *et al.*, 1995).
- Se aplica un antibiótico para prevenir cualquier infección (Gibbons, *et al.*, 1995).

El medio recuperado es volcado en cajas de Petri cuadrículadas para proceder a la búsqueda de embriones bajo lupa (10 x) (Gibbons *et al.*, 1995).

Esta técnica permite la recuperación del 70 % de los embriones. Torres y Sevellec (1987) obtuvieron eficiencias de recuperación de 88%, 52% y 24%, para el 1er, 2da y 3er intervención (Gibbons, *et al.*, 1995).



Figura 8. Aplicación de anestesia mediante inyección intravenosa de tiopental sódico (Baril, *et al.*, 1995).

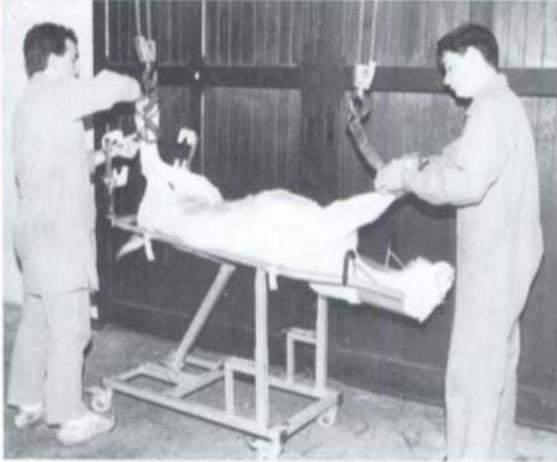


Figura 9. Colocación de hembra en una mesa de sujeción (Baril, *et al.*, 1995).



Figura 10. Preparación del campo operatorio (Baril, *et al.*, 1995).



Figura 11.- Incisión del abdomen a nivel de la línea blanca (Baril, et al., 1995).



Figura 12.- Exteriorización de los cuernos uterinos y ovarios (Baril, et al., 1995).



Figura 13.- Punción la región útero-tubarica (Baril, et al., 1995).



Figura 14.- Punción para la inyección de 20 cc de PBS (Baril, et al., 1995).

Búsqueda y recuperación de los embriones.

Una vez recuperado el fluido de lavado, se procede a la búsqueda y recuperación de los embriones en el laboratorio o área asignada para este propósito (cerrada, sin luz solar, sin corrientes de aire y temperatura de 22 a 25 °C) (Barceló, *et al.*, S/F).

Los procedimientos para hacer la recuperación de los embriones son las siguientes:

- Verter el medio el medio recuperado del lavado y enjuagar el recipiente y la sonda con PBS en una caja de Petri cuadrículada 100 x 15 mm (Barceló, *et al.*, S/F).
- Buscar los embriones en el fluido de lavado utilizando un microscopio estereoscópico (10 a 40X), una vez localizados hay que tomarlos y colocarlos en una caja de Petri pequeña (35 x 10 mm) con un medio de manejo limpio (PBS) (Barceló, *et al.*, S/F).
- Una vez finalizada la búsqueda se clasifican los embriones por estadio y calidad, de acuerdo con el manual de la sociedad internacional de transferencia de embriones (IETS por sus siglas en inglés) (Barceló, *et al.*, S/F).

Clasificación de los embriones.

La clasificación de los embriones se realiza en base a sus aspectos morfológicos.

Durante la recuperación embrionaria. Se debe observar la integridad de la membrana pelúcida y su esfericidad. El embrión debe tener un desarrollo acorde con el día de colecta; se tolera hasta máximo 48 horas de retraso de desarrollo (Gibbons, *et al.*, 1995).

Durante la recuperación embrionaria se pueden encontrar ovocitos degenerados y embriones de diferente calidad y estadio por lo que se debe conocer su clasificación. La IETS ha estandarizado códigos con los que se pueden descubrir el grado de (calidad) y el estadio de desarrollo (edad) del embrión los cuales deben ser indicados en el certificado de transferencia de embriones (Gibbons, *et al.*, 1995).

Clasificación por estadio o edad: Se debe considerar que el embrión debe tener un desarrollo acorde con el día de recolección. En el día 6 o 7 de colección se deben descartar ovocitos y embriones de menos de 32 células. Al evaluar ovocitos o embriones colectados se les da una calificación subjetiva de 1 al 8, según los códigos de ITES (ver cuadro 8) (Stringfellow y Seidel, 2000; citado por Barceló, *et al.*, S/F).

El efecto del estadio del desarrollo del embrión de ovino y su subsecuente sobrevivencia ha sido investigado. Un estudio encontró una mayor tasa de sobrevivencia para los embriones transferidos en el estadio de mórula compacta y blastocitos comparados comparada con la de mórula temprana (Baril, *et al.*, 2000; citado por Barceló, *et al.*, S/F).

Cuadro 8.- Códigos numéricos de clasificación embrionaria por estadio de acuerdo al grado de avance de división celular (Manual de la Sociedad Internacional de Transferencia de Embriones; 2000; Barceló, *et al.*, S/F).

| Código numérico | Estadio de desarrollo | Apariencia |
|-----------------|------------------------------------|---|
| 1 | Ovocito no fecundado |  |
| 2 | Embrión 2 a 12 células |  |
| 3 | Mórula temprana |  |
| 4 | Mórula compacta |  |
| 5 | Blastocisto temprano |  |
| 6 | Blastocisto (50% blastocele) |  |
| 7 | Blastocisto expandido |  |
| 8 | Blastocisto extruido o eclosionado |  |

Clasificación por calidad embrionaria: El embrión se califica con el grado de 1 (excelente) a 4 (malo o muerto), de acuerdo con sus características morfológicas, según los códigos de la ITES (cuadro 9) (Stringfellow y Seidel, 2000; citado por Barceló, *et al.*, S/F).

Cuadro 9.- Grados de calidad embrionaria de acuerdo a sus características morfológicas (Manual de la Sociedad Internacional de Transferencia de Embriones; 2000; Barceló, et al., S/F).

| Grado | Características |
|-----------------------------------|--|
| I (Excelente) | Ideal, esférico y simétrico Células de color, tamaño y textura uniforme Desarrollo embrionario corresponde al día de recolección |
| II (Bueno) | Algunas imperfecciones Forma ligeramente irregular Blastómeros desprendidos de la masa celular y/o posee una pequeña cantidad de vesículas |
| III (Regular) | Defectos definidos: forma irregular, detritus celular, color muy claro o muy oscuro y/o ligero agrietamiento de zona pelúcida Blastómeros desprendidos de la masa celular y/o posee una pequeña cantidad de vesículas y pocas células degeneradas |
| IV (Malo, muerto o degenerado) | Defectos severos (defectos del grado III, mas desarrollo retardado) Forma muy asimétrica Ruptura de zona pelúcida (embrión puede estar fuera de la misma) Blastómeros con degeneración y vacuolización No transferibles |

De acuerdo con regulaciones internacionales, solo embriones calidad 1 pueden ser utilizados para exportación. Cuando son miembros de uso local, los grado 1 y 2 se usan para criopresevación y los grado 3 se pueden usar para trasplante directo. Dependiendo del proyecto final o destino final de los embriones, estos se pueden transferir en fresco o congelar para su transporte, almacenamiento y posterior transferencia (Barceló, *et al.*, S/F).

Manejo del embrión.

Los embriones se deben tener viables en una solución nutritiva entre el periodo de colección de la donadora y transferencia a la receptora y/o criopreservación los factores que pueden afectar su viabilidad durante este periodo corto de cultivo son:

Temperatura: Los embriones se deben tener a tu temperatura de 37°C o a temperatura ambiente (15 a 25°C) (Barceló, *et al.*, S/F).

Medio de manejo: El medio debe ser buferado para tener un pH fisiológico (7.2 a 7). Los medios deben contener un surfactante que evita que los embriones se adhieran a los recipientes. Tradicionalmente se utiliza el medio llamado “Solución salina fosfatada buferada Dulbecco’s modificada (mPBS, por sus siglas en inglés), el cual puede ser utilizado para el lavado uterino durante la colección embrionaria, como medio de manejo durante la búsqueda y evaluación de embriones, y como base criopreservación (ver cuadro 10) (Barceló, *et al.*, S/F).

Si no pudiéramos preparar el medio mPBS en el mercado existen una gran cantidad de medios para manejar los embriones colectados.

Cuadro 10.- Preparación del medio mPBS (Barceló, et al., S/F).

| SOLUCIONES | INGREDIENTES | CANTIDAD (g/ Litro) | Notas: |
|-------------------|--|------------------------|---|
| Solución A | NaCl | 8.000 | Pueden ser pesados con anterioridad y refrigerados de manera indefinida |
| | KCl | 0.200 | |
| | Na ₂ HPO ₄ - 7H ₂ O | 2.170 | |
| | KH ₂ PO ₄ | 0.200 | |
| | Glucosa | 1.000 | |
| | Estreptomicina | 0.050 | |
| | Piruvato de Na | 0.036 | |
| | Penicilina G Na | 1x10 ⁵ UI | |
| Solución B | CaCl ₂ - 2H ₂ O | 0.132 | Pueden ser pesados con anterioridad y refrigerarse por 1 mes |
| | MgSO ₄ - 7H ₂ O | 0.121 | |

Antes de utilizarse (para preparar 1 L):

- 1.- Diluir solución A en 0.8 L de agua desionizada o destilada
- 2.- Disolver la solución B en 0.2 L de agua desionizada o destilada
- 3.- Cuando las sales de la solución B están completamente disueltas, mezclar con solución A. Si no se realiza así, se precipitarán sales y se tendrá que descartar
- 4.- Adicionar el surfactante
- 5.- Revisar pH (~7.3) y osmolaridad (300 a 310 mOsm/kg).
- 6.- Esterilizar la solución utilizando filtro con membrana con poros de 0.22 μ m

Criopreservación de embriones.

La posibilidad de conservación de los embriones facilita la difusión del material de alto valor genético a nivel local o regional (Gibbons, *et al.*, 1995).

La criobiología constituye una rama de la biología cuyo objetivo principal es la conservación de células vivas mediante la utilización de bajas temperaturas, logrando detener los procesos de envejecimiento y degeneración celular (Vázquez, *et al.*, 1998; citado por Cabrera y Fernández, 2007).

La criopreservación tiene como finalidad mantener al embrión en un estado de motivación suspendida, deteniendo todos los procesos biológicos incluyendo la actividad enzimática celular, la respiración celular, su metabolismo, además del

crecimiento y multiplicación de la célula logrando ser reanimado después de un largo o corto periodo y sin perder su capacidad de desarrollarse y nacer vivo (Cabrera y Fernández, 2007).

El procedimiento consiste en someter las células embrionarias a cambios osmóticos y a la incorporación de medios crioprotectores. Estos compuestos (polialcholes) son capaces de penetrar a las células por difusión simple y su función es retardar la formación de los cristales de agua por el descenso de del punto de congelación (Gibbons. *et al.*, 1995).

Congelamiento: Una vez recuperado los embriones éstos se seleccionan y colocan durante 10 minutos en soluciones crecientes de etilenglicol (.5M, 1M, 1.5 M) en PBS a 20-25°C. Finalizada esta etapa se colocan en pajuelas de .25 cc (pajuelas para semen). Los embriones van adicionados con PBS en la pajuela, separado a ambos extremos por un espacio de aire y una columna de PBS. A continuación, se sella la pajuela con alcohol polivinílico (Gibbons, *et al.*, 1995).

Las pajuelas se disponen en el congelador programable o bien se puede utilizar un congelamiento manual. Para este es necesario disponer de un cilindro de acero, donde se ubican las pajuelas y el sensor del termómetro unido a un vástago agujerada (con barra T) que permita graduar el descenso del conjunto en la boca del termo de nitrógeno. El tiempo de colecta y congelamiento no debe superar los 40 minutos (Gibbons, *et al.*, 1995).

El descenso de la temperatura se realiza a razón de 1°C a 3°C por minuto hasta los -7°C. A los 30 segundos de permanencia en esta temperatura, se procede a

realizar el seeding (inducción de la cristalización). Posteriormente la temperatura se mantiene a -7°C durante 10 minutos (tiempo de equilibramiento), al término de los cuales, se continúa con el descenso térmico a razón de $.3^{\circ}\text{C}$ por minuto hasta llegar a -35°C . El tiempo de estabilización a -35°C es de 15 minutos. Luego las pajuelas se transfieren al termo de nitrógeno líquido y se sumergen a este medio a -196°C (Gibbons, *et al.*, 1995).

Descongelamiento: El descongelamiento se realiza en agua a 37°C , durante 30 segundos. Posteriormente, se realiza la extracción progresiva del crioprotector en etapas sucesivas (5 a 10 minutos cada una) sumergiendo a los embriones en placas con concentraciones decrecientes de etilenglicol (1 M, .05 M), y luego se les pasa aun a placa con PBS. En seguida se realizan las evaluaciones morfológicas por daño que sufren en el congelamiento/descongelamiento. Como valor de referencia se acepta entre un 10% y 30% de embriones dañados (Gibbons, *et al.*, 1995).

En la especie ovina los porcentajes de embriones viables post descongelamiento son superiores para los blastocitos respecto a las mórulas (67% vs 31%) (de Paz, *et al.*, 1994; citado por Gibbons, *et al.*, 1995).

Transferencia de embriones.

La transferencia de embriones propiamente dicha se refiere a la colocación de un embrión, o embriones dentro del útero u oviducto de la receptora por medio quirúrgico o no quirúrgico, que este último no es recomendable en pequeños rumiantes. La laparoscopia es una técnica ampliamente utilizada parece ser un método seguro y poco invasivo, con altos porcentajes de preñez y se recomienda

como la técnica de transferencia de embriones en pequeños rumiantes (Stefani, *et al*, 1990; citado por Barceló, *et al.*, S/F). Consiste en evaluar el cuerpo lúteo y localizar el oviducto ipsilateral de la receptora con el laparoscopio, y apoyado con unas pinzas quirúrgicas no traumáticas se exterioriza el oviducto con una pequeña incisión, por lo que la técnica es poco invasiva (Baril, *et al*, 2000; citado por Barceló, *et al.*, S/F).

Se pueden transferir de 1 a 5 embriones por receptora pero estudios experimentales indican que 1 a 2 proporcionan resultados aceptables. La transferencia de 2 embriones lleva al incremento de partos gemelares, y más del 80% de las receptoras que se le transfieren 2 embriones llevan la gestación a término, y 66% de los partos son gemelares (Ishwar y Memo, 1996; citado por Barceló, *et al.*, S/F).

La sincronía de la edad embrionaria y receptora es de vital importancia para la obtención de resultados óptimos de sobrevivencia embrionaria (Shelton y Moore, 1996; citado por Barceló, *et al.*, S/F). Sin embargo, hay estudios que demuestran que la asincronía entre el ciclo estral de la receptora y donadora es bien tolerada en borregas, ya que cuando existe una asincronía de hasta 48 horas, disminuye muy poco la tasa de preñez en comparación con transferencias embrionarias realizadas de ± 12 horas (Barceló, *et al.*, S/F).

Se debe de tener las siguientes consideraciones previas a la transferencia de embriones:

- Es indispensable que los animales no consuman alimento durante 48 horas, ni agua durante 24 horas previas a la intervención quirúrgica (Barceló, *et al.*, S/F).
- La intervención para la TE en ovinos utilizando anestesia local (lidocaína) o sedación (xilacina) (Barceló, *et al.*, S/F).

La transferencia de embriones mediante la laparoscopia se realiza de la siguiente manera:

- Se coloca y se sujeta a la hembra receptora en una camilla o mesa de cirugía en un ángulo de 40° (Barceló, *et al.*, S/F).
- Se rasura un área de 10 x 10 cm con un rastrillo o navaja doble filo y se desinfecta el área abdominal con yodo (Barceló, *et al.*, S/F).
- Se infiltra la analgesia (Barceló, *et al.*, S/F).
- Se coloca un trocar en el abdomen inferior izquierdo y se introduce el laparoscopio, y se realiza una pequeña incisión al lado derecho de la ubre (2-3 cm) (Barceló, *et al.*, S/F).
- Se introducen unas pinzas atraumáticas a través de la incisión en pared abdominal y realiza la exploración de los ovarios de la receptora para evaluar la respuesta ovárica, buscando la presencia y el lado de uno o más cuerpos lúteos (Barceló, *et al.*, S/F).
- Se extrae el cuerno uterino ipsilateral al ovario que contiene uno más cuerpos lúteos normales, con la pinza atraumática guiada por el laparoscopio, ya estando afuera se sujeta el cuerno con los dedos utilizando una gasa húmeda impregnada con una solución salina para evitar que se

deshidrate y dañe (Barceló, *et al.*, S/F). En el cuadro 11 (Barceló, *et al.*, S/F) presenta un programa de sincronización de celos, superovulación y fertilización de hembra donante y receptora.

Cuadro 11.- Programa de sincronización de celos, superovulación y fertilización de hembra donante y receptora (Barceló, *et al.*, S/F).

| | | DIA | | | | | | | |
|---|-----------------------|--|--|--|---|--|---|---|--|
| | | 0 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14* | 19 | 20 |
| D O N A D O R A | M A Ñ A | | (9:00 am) Aplicar: 30 mg pFSH (Folltropin® 1.5 mL) | (9:00 am) Aplicar: 20 mg pFSH (Folltropin® 1 mL) | (9:00 am) Aplicar: 20 mg pFSH (Folltropin® 1 mL) | (9:00 am) Aplicar: 14 mg pFSH (Folltropin® 0.7 mL) | (9:00 am) Detectar celos y Empadre | Dietar ovejas (agua y alimento) | |
| | T A R D E | (12:00 pm) Colocar: Dispositivo (CIDR®) Aplicar: Vit E-Se (MuSe® 1 mL) | (9:00 pm) Aplicar: 30 mg pFSH (Folltropin® 1.5 mL) | (9:00 pm) Aplicar: 20 mg pFSH (Folltropin® 1 mL) | (12:00 pm) Retirar: Dispositivo (CIDR®) (9:00 pm) Aplicar: 20 mg pFSH (Folltropin® 1 mL) | (9:00 pm) Aplicar: 10 mg pFSH (Folltropin® 0.5 mL) | (12:00 pm) Detectar celos y Empadre (3:00 pm) Detectar celos y Empadre | Limpieza y --- de laboratorio Rasurar ovejas | (12:00 pm) Iniciar lavado Aplicar: 15 mg PGF2α (Prosolvín® 2 mL) |
| R E C E P T O R A | M A Ñ A | | | | (9:00 pm) Aplicar: 300 UI eCG (Folligon® 1.66 mL) | | (9:00 am) Detectar celos | Dietar ovejas (agua y alimento) | (12:30 am) Iniciar Transferencia |
| | T A R D E | (12:00 pm) Colocar: Dispositivo (CIDR®) Aplicar: Vit E-Se (MuSe® 1 mL) | | | (3:00 pm) Retirar: Dispositivo (CIDR®) | | (12:00 pm) Detectar celos (3:00 pm) Detectar celos | Rasurar ovejas | |

* La donadora debe recibir 5 montas y/o ser inseminada.

DISCUSION.

¿Qué tan común es la transferencia de embriones a nivel mundial?

La movilización de ganado de un país a otro conlleva a la posibilidad de propagar masivamente enfermedades, es por ello que esta técnica es muy utilizada para poder importar y exportar material genético a diversas partes del mundo ya que si se realiza correctamente con las medidas sanitarias correspondientes podemos disminuir el riesgo de propagar enfermedades. También al igual que México muchos países han optado por esta biotecnología para hacer mejoramiento genético, por lo tanto en el mundo se utiliza con frecuencia.

¿Qué tan común es la transferencia de embriones en México?

Investigando por internet, existen diversos centros de mejoramiento genético particulares que ofrecen Transferencia de Embriones como uno de sus servicios, propiamente el Organismo de la Unidad Nacional de Ovinocultores, implementan programas de mejoramiento genético haciendo uso de esta técnica reproductiva, lo que nos lleva a decir que se está trabajando constantemente en el país con esta técnica.

¿Qué tipo de productor practica la transferencia de embriones?

Generalmente esta biotecnología es practicada por los productores que se dedican a la producción de pie de cría y que cuentan con animales de alta calidad genética.

¿Qué se pretende producir cuando se practica?

Se pretende producir animales con características productivas superiores a las que normalmente se cuentan en el rebaño, o simplemente producir animales con características físicas deseables por el ganadero y/o la que el mercado demande.

CONCLUSIONES.

En México la demanda de carne ovina es muy alta y el país no es autosuficiente en la producción de esta carne, es por ello que existen grandes oportunidades de producción a nivel nacional, utilizar este tipo de herramientas biotecnológicas (TE) sin duda incrementa el potencial productivo de las explotaciones. El mejoramiento genético es una herramienta la cual nos permite incrementar la productividad de los animales de tal forma que se vuelven mucho más eficientes y esto repercute en mayores ingresos en explotaciones ganaderas.

La transferencia de embriones posee grandes bondades como a su vez desventajas respectivamente; permite el mayor aprovechamiento genético de las hembras, mayor velocidad de avance genético, conservación y transporte de material genético, reduce los riesgos de transmisión de agentes patógenos en tanto sus desventajas son; inversión en equipos y productos veterinarios, costo elevado del producto (corderos), se requiere de conocimientos para practicarlo y/o personal especializado, altos costos que implica desarrollar la técnica.

Por otro lado, también, la transferencia de embriones en contraste con la inseminación artificial o monta natural, permite el aprovechamiento reproductivo de hembras de alto valor genético, por ejemplo para hacer mejoramiento genético con monta natural o inseminación artificial en los rebaños la mayor parte de la responsabilidad cae en los machos al ser los que cubren el total de las hembras, todas las crías del hato o rebaño tienen la mitad de información genética de su padre y la otra mitad de su madre.

Las hembras ovinas naturalmente están limitadas a tener una o dos crías por año como máximo, pero por otra parte aplicando la transferencia de embriones incrementamos ese número de crías considerablemente, lo que nos lleva a verdaderamente utilizar el potencial genético de las hembras sobresalientes.

LITERATURA CITADA.

1. Anónimo., (2008). **Manual de Producción Ovina.**
<https://www.indap.gob.cl/docs/default-source/default-document-library/manual-de-producci%C3%B3n-ovina-para-extensionistas.pdf?sfvrsn=0>.
2. Atuesta, J. E., Gonella. D. A. M., (2011). **Control hormonal en el ciclo estral en ovinos y bovinos.** Bucaramanga (Colombia).
Revista Spei Domus. Vol. VII., N°14.
3. Barceló, F. M., Rodríguez A. F., Anchondo G. A., **Manual para la Transferencia de Embriones en Ovinos.** Universidad Autónoma de Chihuahua. Facultad de Zootecnia y Ecología.
https://www.cofupro.org.mx/cofupro/images/contenidoweb/indice/publicaciones-fpchihuahua/pdf/manual_embryones_ovinos.pdf
4. Baril, G., Brebion, p., (1995). **Manual de formación práctica para el trasplante de embriones en ovejas y cabras.** Roma: FAO.
5. Cabodevilla, J., Torquati. S., (1984). **Superovulación**
6. Cabrera, P., Fernández, A., (2007) **Criopreservación de embriones: Una Herramienta Básica de la Reproducción Asistida.** Venezuela.
7. Haman., (2011). Ciclo estral de la oveja.
<https://es.slideshare.net/federicohamann/ciclo-de-la-oveja-322>
8. Cocero, M. J., Olivera. J. M., Alabart., J. L., Alcaide. V., Arrese. F., Beltrán. I., (2001). **Efecto de le eCG en la superovulación de**

ovejas con dosis decrecientes de FSH ovina. Madrid. (España)

Unidad de Tecn. en Prod. Animal.

9. Córdova, I., A. Córdova. J. M. S., Córdova. J. C. A., Guerra. L. J. E., (2008). **Procedimientos para aumentar el potencial reproductivo en ovejas y cabras.** México. CONACYT

10. Espejel. D. A., Damián. B. E., Santos. R. R., (1988). **Efecto de la**

fuerza PMSG en la sincronización de celos en oveja katahdin.

11. Gibbons, A. E., Cueto, M. I., (1995). **Transferencia de embriones en ovinos y caprinos.** Bariloche. INTA.

12. Gibbons, A. E., Cueto, M. I., **Manual de inseminación artificial en la especie ovina.** Bariloche. INTA.

https://www.researchgate.net/publication/267180031_MANUAL_DE_INSEMINACION_ARTIFICIAL_EN_LA_ESPECIE_OVINA

13. González, T. A., **Inducción y sincronización de celos por medios hormonales, ovejas.**

14. López, A. Z., Santiago, M. J., De Bulnes, A. G., García, L. M., (1993).

Some aspects of the reproductive physiology of the ewes. Madrid

(España). Departamento de Producción Animal, Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias, REVISTA CIENTÍFICA, FVS-LUZ / Vol. III., N° 2.

15. Manes. J., Ungerfeld. R., (2015). **Sincronización de celos en ovejas y cabras con dispositivos intravaginales liberadores de progestágenos: alteraciones en su ambiente vaginal y su**

relación con la fertilidad. Balcarce (Argentina). Revista Bras.

Reprod. Animal. V. 39

16. Mantecón, A. R., Giráldez, F.J., Hervás G., Lavín, P., (1997). **Curso para Profesionales y Técnicos en Producción Ovina.** León (España)

17. Paves M.V., Correa, M.V., (1988). **Estudio laparoscópico seriado del aparato reproductivo de la oveja a través del ciclo estral y gestación temprana.** Chile. Valdivia.

18. Porras, A. A., Zarco. Q. L., Valencia. M. J., (2003). **Estacionalidad Reproductiva en Ovejas.** México. CONACYT.