

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA

ANTONIO NARRO

UNIDAD LAGUNA

DIVISION DE CIENCIA ANAMAL



**EFFECTO COMPARATIVO DEL SEMEN SEXADO Y NO SEXADO SOBRE LA
TASA DE FERTILIZACION EN VACAS HOLSTEIN, EN PROGRAMAS DE
TRANSFERENCIA DE EMBRIONES.**

TESIS

QUE PRESENTA

FEDERICO ANTONIO MARTINEZ TOLEDO

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TITULO DE:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Torreón Coahuila

Noviembre del 2009

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

Efecto comparativo del semen sexado y no sexado sobre la tasa de fertilización
en vacas Holstein, en programas de transferencia de embriones.

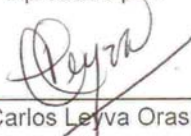
Por:

Federico Antonio Martínez Toledo

Tesis que se somete a consideración del H. jurado examinador y aprobada
como requisito parcial para obtener el grado de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

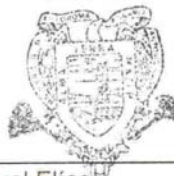
Aprobado por:



Dr. Carlos Leyva Orasma

Asesor

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
"ANTONIO NARRO"
UNIDAD LAGUNA



MC. José Luis Francisco Sandoval Elías

COORDINACIÓN DE LA DIVISIÓN
REGIONAL
CIENCIA ANIMAL

COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

Torreón, Coahuila, México

Noviembre 2009

Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna

División de Ciencia Animal

Efecto comparativo del semen sexado y no sexado sobre la tasa de fertilización en vacas Holstein, en programas de transferencia de embriones.

Tesis

Federico Antonio Martínez Toledo

Tesis elaborada bajo la supervisión del comité particular de asesoría y aprobada como requisito parcial para obtener el grado de:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

COMITÉ PARTICULAR

Presidente :


DR. Carlos Leyva Orasma

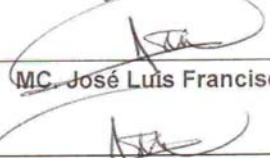
Vocal:



MC. Juan Luis Morales Cruz

Vocal:


DR. Francisco Gerardo Veliz Deras

Vocal Suplente:


MC. José Luis Francisco Sandoval Elías


MC. José Luis Francisco Sandoval Elías
COORDINADOR DE LA DIVISION REGIONAL
DE CIENCIA ANIMAL



COORDINACIÓN DE LA DIVISION
REGIONAL
CIENCIA ANIMAL

AGRADECIMIENTOS

A DIOS NUESTRO SEÑOR

Gracias por darme la oportunidad de vivir, estar siempre con migo, darme la capacidad de salir adelante en mi carrera profesional, y permitirme poder realizar mis metas y objetivos.

A MI ALMA, TERRA MATER:

Por ser una universidad que me permitió seguir con mis estudios profesionales por esto y más gracias.

A MI ASESOR DR. CARLOS LEYVA ORASMA:

Por la con fianza depositada en mi y dejarme trabajar en este proyecto, por la paciencia, enseñanza de sus conocimientos transmitido, por ser un buen profesor y ejemplo a seguir mil gracias.

AL M. C. JUAN LUIS MORALES CRUZ:

Por ser un gran profesor, un gran amigo, por su enseñanza por su paciencia y por haber depositado una confianza en mi durante mi carrera por eso y más gracias.

A MI JURADO

Dr. Carlos Leyva Orasma, M.C. Juan Luis Morales cruz, Dr.fco Gerardo veliz Deraz, MC. José Luis Francisco Sandoval Elías. Por el apoyo y dedicación durante la elaboración de este trabajo.

A MIS AMIGOS:

Refugio, consuelo, Leonardo Sánchez Arreola, Luis Alberto Lorenzo rodríguez, Israel Toledo Hernández, Johnny rusi Mejía López, Adelfo Iván López Pérez, Delmar Aguilar Meléndez, cesar Castelán Morelos, José guzmán salas, Oliver cuevas Ocampo, ulber morales Vásquez y los no mencionados.

Por su amistad, Por todo su apoyo incondicional, momentos de diversión y estar en los momentos difíciles gracias.

A TODA MI FAMILIA Y DEMAS AMISTADES:

Gracias por su apoyo brindado de alguna u otra manera, gracias.

DEDICATORIAS

A MIS ABUELOS:

María Elena Aguilar García q.e.p.d.

Benigno Toledo Espinoza

María de los ángeles Vásquez Magaña q.e.p.d.

Manuel de Jesús Martínez Santiago q.e.p.d

Por los consejos maravillosos, amor y estar aun con migo. Que dios nuestro señor los bendiga.

A MIS PADRES:

A ellos me encontrare eternamente agradecido Por darme la vida, enseñanzas, ejemplos, principios, amor, por ser unas personas de gran valía, ejemplo a seguir, por apoyarme siempre en esos momentos difíciles, por creer y depositar su confianza en mí, por esos consejos dichos en su momento que significan mucho para mí, por ser como son los amare siempre, mi carrera es el mejor regalo que pudieron darme gracias y este trabajo es dedicado a ustedes así como mi ser por siempre.

A MIS HERMANOS:

Por ser una familia fuerte, luchadora, por enseñarme tantas cosas, por el cariño que nos tenemos, apoyo incondicional y confianza depositada en mí gracias.

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar la concentración espermática del semen sexado sobre la producción y calidad embrionaria. El estudio se realizó en un establo lechero de la comarca lagunera, en este estudio se utilizaron dos vacas Holstein-friesian de entre 60-90 días postparto. Durante el desarrollo del trabajo experimental las vacas se sometieron a un proceso de superovulación, inseminando una vaca con semen no sexado y otra con semen sexado, comparando los resultados de tasa de fertilización, porcentajes de embriones transferibles y la tasa de gestación, haciendo una comparación de proporciones por el método de Chi cuadrada (X^2). En las variables analizadas no se encontraron diferencias estadísticas para semen no sexado y sexado respectivamente (tasa de fertilización; 84.66vs80.00, embriones transferibles; 84.61vs100%, tasa de gestación 27.27vs100%). Por lo que se puede concluir que, las concentraciones de semen sexado utilizadas en este estudio, fueron suficientes para fertilizar la mayoría de los ovocitos liberados en la superovulación y no afectó la calidad embrionaria.

Palabras claves: concentración espermática, sincronización, superovulación, transferencia de embriones, semen sexado.

TABLA DE CONTENIDO

Resumen.....	IV
Índice de tablas.....	VII
Introducción.....	1
1.1 objetivo general.....	3
1.2 objetivo específico.....	3
Hipótesis	3
II. Revisión de literatura.....	3
2.1 Historia y situación actual del semen sexado en los programas de reproducción bovina.....	3
2.2 Ventajas y desventajas del semen sexado.	5
2.2.1 Efectividad del semen sexado en la producción de embriones in-vitro	6
2.3 Factores de variación en la tasa de fertilización ovocitaria en hembras bovinas.	8
2.4 Dinámica folicular de la vaca.....	10
2.5 Factores a considerar en la superovulación.....	11
2.6 Hormonas utilizadas en un programa de transferencia de embriones. ..	13
2.6.1 Prostaglandinas.	14

2.6.2 Progesterona.....	16
2.6.3 FSH.....	17
2.6.4 Estrógenos.....	18
III. Materiales y métodos.....	20
3.1 Localización del trabajo experimental.....	20
3.2 Animales experimentales.....	21
3.3 Manejo y tratamiento de los animales.....	21
3.4 Detección de celo.....	23
3.5 Recuperación y clasificación embrionaria.....	23
3.6 Análisis estadístico.....	24
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	25
V. CONCLUSION.....	30
VI. LITERATURA CITADA	31

INDICE DE TABLAS

Contenido	páginas
Tabla 1.- Respuesta superovulatoria, ovocitos, calidad y porcentaje de embriones obtenidos por lavado en cada una de las vacas inseminadas con semen no sexado y sexado	25
Tabla 2.- Clasificación y porcentaje de embriones transferibles y no transferibles obtenidos en cada una de las vacas superovuladas e inseminadas con semen no sexado y sexado.....	25
Tabla 3.- tasa de gestación de las hembras receptoras de acuerdo al tipo de embrión recibido (no sexado y sexado).....	26

I.- INTRODUCCION

Uno de los principales problemas que enfrenta nuestro país es la alimentación ya que nos encontramos entre uno de los países con deficiencia referente a la nutrición, sobretodo, en concepto como son proteínas, carbohidratos y grasas, una de las principales fuentes de este nutrimento lo representa la carne y leche del ganado bovino de las diferentes razas que están adaptadas a diferentes ecosistemas que existen en nuestro planeta. Nuestro país padece de altos rezagos en el concepto de nutrición. Los estados que comprenden el norte centro y sur del país tienen altos índices de migración por la consecuencia de la nutrición. Para solucionar esta problemática en la producción pecuaria se requiere de tecnologías avanzadas, que muchos países, sobre todo los que están en vías de desarrollo, no tienen al alcance. Es por esto que las grandes potencias mundiales invierten en investigación y transferencia de nuevas tecnologías para aumentar la productividad agrícola y pecuaria. Una de las herramientas para aumentar y optimizar la producción en los animales es con el uso de biotecnologías reproductivas, como el manejo de semen, la transferencia y manipulación de embriones, y material genético en general. El uso de las diferentes biotecnologías aplicadas a la producción animal, es de suma importancia no solo nacional sino a nivel internacional, ya que diversos investigadores pronostican una catástrofe mundial en la producción de alimentos para la humanidad, sin el uso de biotecnologías, aunado al daño que se le hace al medio ambiente, con lo agresivo de los sistemas de explotación. Es por esto que es necesario implementar prácticas que ayuden a aumentar la producción, sin la necesidad de extenderse en el número de animales, sino por el contrario, aumentar la producción de cada uno de estos (Pineda, 2008).

La transferencia de embriones es una de las biotecnologías aplicadas al mejoramiento genético en el ganado, que puede ayudar a la producción de reemplazos y que consiste en la obtención de ovocitos fertilizados, después de provocar una superovulación e inseminar a una hembra llamada donadora y transferirlos a otra hembra llamada receptora, la que se encargara de su desarrollo (*Leyva, 1999*). En las últimas décadas los conocimientos de esta práctica se han incrementado y acelerado, además de que cada día se ve aumentado el interés entre los ganaderos de América Latina y de México en particular, por la aplicación de la transferencia de embriones en su producción animal, con objetivos variados como; Mejoramiento genético, generar utilidades por venta de pies de crías, mejorar la eficiencia en la producción animal, como para el control de enfermedades en los mamíferos (*Zizlavsky, 2002*). Específicamente, en la Comarca Lagunera, existe el problema de la deficiencia en la producción de reemplazos lecheros, contribuyendo a esto, las bajas tasas de concepción que existen, aunado al nacimiento de crías machos en prácticamente la mitad de los partos y es precisamente en este punto en donde la transferencia de embriones podría ayudar a reducir esta deficiencia, además de fijar caracteres deseados en las granjas si se utiliza combinada con la utilización de semen sexado.

El uso de semen sexado en los hatos lecheros está encaminado básicamente a las novillas que llegan a los primeros servicios, teniendo como ventaja que el sexo de las crías nacidas productos de estas gestaciones en un 90% son hembras, incrementado así el número de los reemplazos. Es por esto que al utilizar el semen sexado en una vaca donadora obviamente superovulada, con óptima condición de salud general y reproductiva podría esperarse una buena tasa de fertilización y con ello la producción de embriones hembras de alto valor genético. El semen sexado con la transferencia de embriones en hatos lecheros perpetuará los genes

deseables en la producción, además de mejorar la calidad genética de las crías y asegurar que los nacimientos sean la gran mayoría hembras. El semen sexado para espermatozoides con cromosoma "X" es una herramienta que hoy es una realidad comercial, utilizado correctamente debería de tener éxito en la fertilización de los ovocitos liberados mediante la técnica de superovulación.

1.1 Objetivo General

El objetivo de este estudio fue evaluar la efectividad del semen sexado comercial sobre la producción y calidad embrionaria.

1.2 Objetivo Especifico

Evaluar el uso del semen sexado en la tasa de fertilización y en la calidad de embriones.

1.3 Hipótesis

La concentración del semen sexado es suficiente para fertilizar ovocitos liberados durante la superovulación y producir embriones de buena calidad.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1.- Historia y situación actual del semen sexado en los programas de reproducción bovina.

El semen sexado se obtiene mediante un proceso conocido como citometría de flujo y tiene como base fundamental las diferencias existentes en el porcentaje de ADN entre los cromosomas X (hembra) y Y (macho). En el

caso preciso de los bovinos, el cromosoma X tiene 3.8% más de ADN que el cromosoma Y. (*Overton., 2009*)

La clasificación de los espermatozoides por citometría de flujo separa los espermatozoides con una precisión tan alta como 90% o más. Esta tecnología ofrece a la industria ganadera el potencial de casi duplicar la productividad, mediante la producción de semen sexado para optimizar los programas de mejoramiento genético (*Xu y Chaubal., 2009*)

Hasta ahora se ha demostrado que la reducción de la fertilidad del semen sexado es causada por la baja concentración de espermatozoides en las dosis que se ocupan para la IA (*mullaarta et al., 2009*)

Históricamente el semen sexado se ha utilizado en vaquillas, ya que se ha encontrado que la fertilidad en vacas es más baja, sin embargo al tener buenos resultados en vaquillas, podría ser posible la fertilización de ovocitos liberados en la superovulación en vacas, en la que podríamos esperar una buena tasa de fertilización y con ello la producción de embriones hembras de alto valor genético (*Seidel et tal., 1999*)

La fecundación in vitro es factible y es un medio eficaz para aumentar la fertilización y eficiencia de espermatozoides sexados en el ganado bovino (*Xu y chaubal., 2009*) por esto podría pensarse que en programas de transferencia de embriones el semen sexado podría funcionar satisfactoriamente.

El uso del semen sexado en la inseminación artificial y colecta de embriones, supone un gran avance en la ganadería bovina toda vez que nos permite obtener un alto porcentaje de crías hembras, que le dan continuidad inmediata al programa de mejoramiento genético u obtención de raza que se haya trazado en la finca. Cuando el objetivo de nuestra ganadería es obtener hembras de remplazo mejoradas (*Serrano., 2009*)

2.2 Ventajas y desventajas al usar semen sexado

En la actualidad el semen sexado se ha utilizado con éxitos y fracasos dependiendo de diferentes factores por las cuales aún no se ha logrado una comercialización exitosa, las principales razones son: los altos costos, es una técnica compleja para llevarse a la práctica, y bajos porcentajes de fertilidad (*Seidel., 2005*)

Las ventajas del uso de semen sexado son el mejoramiento genético en las que se pueden programar los remplazos lecheros o de aptitud cárnica con base en inseminar las mejores vacas de la media hacia arriba, preferentemente con semen sexado; supone esto que existe un avance genético en la becerra que nazca (*Seidel., 2005*)

En cuanto a su ventaja en el uso reproductivo, es que puede disminuirse la incidencia de partos distócicos, sobretodo en vaquillas, en razón de que el peso de la mayoría de las crías que nazcan, hembras, es menor que el de los machos. El costo de reposición, hasta hoy en día la alta incidencia en la rentabilidad de la empresa lechera, se vería reducida en la mayor oferta de vaquillas en el mercado. Como es obvio esto mejoraría la productividad de la empresa (*Velasco., 2008*)

Dentro de las limitantes de esta biotecnología es que se obtiene entre el 15 y 20 % menos en la tasa de preñez. La separación de espermatozoides (de un sexo determinado) con un 90% de seguridad es lenta, porque cada espermatozoide debe ser contado individualmente, este hecho de contar (segregar) cada espermatozoide se somete a estrés y es un daño para la célula durante el proceso. (*López., 2005*)

Otra desventaja es el costo elevado ya que cada máquina para el sexado de semen tiene un costo de 280 mil dólares y se requieren varias para trabajar en una escala comercial. Por lo tanto el precio a pagar por una dosis de semen

sexado, es mucho más elevado que el que se paga actualmente por el semen comercial de una alta calidad genética (López., 2005)

2.2.1 Efectividad del semen sexado en la producción de embriones in vitro.

La producción de embriones in vitro se ha convertido en realidad debido al reciente desarrollo de tecnología, el término in vitro (en vidrio) se utiliza para aquellos procedimientos que se llevan a cabo fuera del organismo vivo, y en este caso se refiere a una serie de manipulaciones que se realizan en condiciones de laboratorio. De esta forma el concepto de producción de embriones in vitro se puede definir como una técnica que hace posible que los óvulos no fertilizados se puedan madurar, fertilizar y desarrollar bajo condiciones de laboratorio. (Aréchiga et al., 2002) la producción in vitro se manejan en tres áreas íntimamente relacionadas:

- 1) Maduración de óvulos in vitro. En la actualidad el porcentaje de óvulos que se logran desarrollar in vitro, desde su obtención hasta la etapa de maduración previa a la fertilización es de aproximadamente 45 %.
- 2) Fertilización in vitro. Esta técnica incluye un proceso para capacitar a los espermatozoides y posteriormente otro para fertilizar a los óvulos, todo esto completamente in vitro. En la actualidad los porcentajes de fertilización que se obtiene en condiciones de laboratorio llegan a ser hasta de 70 u 80% en ganado bovino.
- 3) Desarrollo de embriones in vitro. recientemente el uso de nuevos medios de cultivo ha mejorado el desarrollo de los embriones bovinos hasta la etapa de blastocisto, lográndose porcentajes de gestación relativamente altos (50%) después de la transferencia.

La utilización del semen sexado en programas de transferencias embrionaria y fertilización in vitro reduce significativamente el costo y tiempo de

producción. Los resultados sobre más de 1,000 vaquillas en distintas provincias argentinas demostraron un 52.5 % promedio de preñez y más del 90% de hembras nacidas. En transferencia embrionaria los resultados de embriones obtenidos y porcentaje de preñez no fueron diferentes al obtenido con semen convencional y con más del 90% de acierto para el sexo elegido (*López., 2005*)

Las investigaciones que se han llevado a cabo en los Estados Unidos en los últimos años, utilizando novillas vírgenes, la compañía XY en colorado obtuvieron que la tasa promedio de preñez con semen no sexado fue de 74% a los 33 días después de la inseminación. Por otra parte, la tasa de preñez con semen sexado variaron de 48% a 55%, mientras que los efectos de concentración espermática fue de 3.0 millones en pajillas de 1.5 y el lugar donde se colocó el semen fue en el cuerpo uterino y cuerno uterino lo que no tuvieron diferencia (*Weigel., 2004*)

La producción de embriones in vitro para trasplante es la que se podría ver beneficiada con esta tecnología tal como se encuentra en este momento. Por ejemplo cerca de 2 millones de espermatozoides por unidad (pajilla) se necesitan para inseminar una novilla in vivo mientras que menos de 100.000 espermatozoides se necesitan para fertilizar 100 óvulos en un programa de producción in vitro de embriones para trasplante. En cuanto a la relación de machos y hembras obtenidos con semen sexado, en un experimento con semen sexado para cromosoma X, el 87.8 % fueron hembras, mientras que 92.1% cuando se sexo para cromosoma Y. por su parte cuando no se utilizó semen sexado, el porcentaje de machos fue de 49.2 por ciento (*Tubman et tal., 2004*)

La recomendación de uso de semen sexado es aplicable en vaquillas, con tasas de concepción sobre el promedio. En la evaluación de 7 lecherías del sur de Chile se obtuvo entre el 45 y 71% de preñez, con un promedio de 64% lo

que nos indica que el índice de concepción en general se aproxima al 50%(*Muhlenbrock., 2007*)

La tasa de preñez en transferencia de embriones alcanza niveles de 45 a 50%. En el caso de transferencia de embriones congelados se logra de un 25 a 40%(*Correa., 2007*)

2.3.- Factores de variación en la tasa de fertilización ovocitaria en hembras bovinas.

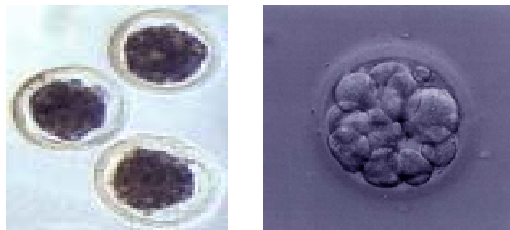
En la mayoría de las especies mamíferos, el de tiempo de transporte del cigoto a través del oviducto es de 4 a 5 días. Este tiempo es dependiente de la musculatura del oviducto, de las secreciones oviductuales, del balance hormonal entre la progesterona y estradiol durante los siguientes días a la ovulación y además, en ellos participan factores de crecimiento así como PGs (*Hernández., 2002*)

Aproximadamente 24 horas después de la fertilización, se produce la primera división o segmentación del cigoto, dando origen al embrión de dos células que continúan dividiéndose en el oviducto para pasar por los estadios de 4, 8, 16 y 32 células, cuando se les conoce como mórula temprana. Entonces, alrededor del día 5 después del celo, pasa por la unión utero-tubarica y en el cuerno uterino continúa su desarrollo a mórula compacta, la mórula continúa su crecimiento hasta que se transforma en blastocisto (día 7) en el que ya se pueden diferenciar dos grupos de células. Uno de ellos a partir del cual se desarrollará el embrión y otro del que se diferenciara la placenta (trofoblasto). Hasta este momento, el embrión todavía se encuentra rodeado por la zona pelucida que se pierde en el día 8 (eclosión) como consecuencia de un adelgazamiento y un aumento en la masa celular. Después de la eclosión el

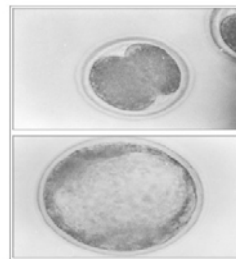
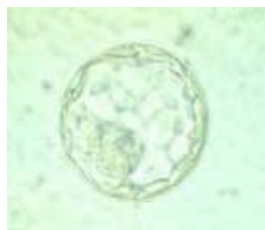
embrión experimenta un crecimiento acelerado y la relación madre-embrión será más compleja y dinámica (Hernández., 2002)

Si la recolección de embriones se realiza entre el día 6 y el 8 después del estro de la donadora los estadios normales de desarrollo van de la mórula compacta a la blástula expandida (Gorlach., 1999; Leyva et al 1999) La evaluación embrionaria se clasifica de acuerdo con dos criterios: grado de desarrollo y calidad para poder ser transferibles, entre los embriones transferibles se encuentran los siguientes:

- 1) Mórula compacta. Debido a la compactación, las uniones de los blastómeros han formado una masa celular, de manera que ya no se aprecian los blastómeros individuales. El embrión ocupa de 60 a 70% del espacio perivitelino.



- 2) Blastocisto temprano. En la masa celular aparece una pequeña cavidad llena de líquido llamado blastocelo. Aquí las células empiezan a diferenciarse. El embrión ocupa de 70 a 80% del espacio perivitelino.



- 3) Blastocisto maduro. La diferenciación continua, observándose las células del tabique embrionario o disco embrionario, que origina al embrión y a las células del trofoblasto. El embrión tiene apariencia de anillo y ocupa 90% del espacio perivitelino.



2.4 Dinámica folicular en la vaca.

Se conoce como dinámica folicular al proceso de crecimiento y regresión de folículos antrales, que conducen al desarrollo de folículos preovulatorios (*Becaluba et tal., 2007*)

Diversos investigadores confirmaron la presencia de ondas de crecimiento folicular. Una onda de crecimiento folicular está caracterizada por presentar las fases de reclutamiento, selección, dominancia y atresia folicular. Esta última se presenta solo en aquellos folículos no ovulatorios (*sunderland y col., 1994*)

La fase de reclutamiento está dada por el desarrollo de una cohorte de folículos que comienzan a madurar bajo un aporte adecuado de gonadotrofinas que le permitan avanzar hacia la ovulación. Durante el reclutamiento los folículos primordiales son reclutados como grupo los cuales reciben una señal

que les permite continuar con su crecimiento y desarrollo. Esto se debe principalmente a la elevación de la hormona folículo estimulante (FSH) en la sangre. Se ha reportado que ligeras elevaciones de FSH crean una segunda y tercera oleada folicular durante el ciclo estral cada ola se caracteriza por un pico transitorio de la hormona folículo estimulante (FSH) que estimula el crecimiento de alrededor de cinco folículos de diámetro entre 4 y 5 mm; este periodo se le conoce como reclutamiento folicular (*Rosales y Guzmán., 2008*)

La fase de selección es el proceso por el cual un folículo evita la atresia con la posibilidad de llegar a la ovulación. Una etapa de selección, en la cual uno de estos folículos es elegido para continuar creciendo (folículo dominante) y por último, la dominancia que ejerce este folículo sobre el crecimiento de los folículos que comenzaron a crecer con el (folículo subordinado). Todos los folículos que no son seleccionados como dominante, sufren un proceso degenerativo conocido como atresia folicular, mediante el cual son eliminados de los ovarios (*Rosales y Guzmán., 2008*)

La fase de dominancia es el proceso por el cual el folículo seleccionado ejerce un proceso inhibitorio sobre el reclutamiento de una nueva cohorte de folículos. Este folículo dominante alcanza un tamaño marcadamente superior a los demás es responsable de la mayor secreción de estradiol y adquiere la capacidad de continuar su desarrollo en un medio hormonal adverso para el resto de los folículos (*Murphy y pescador., 1997*)

2.5 Factores a considerar en la superovulacion

El objetivo principal de la superovulacion en el ganado bovino es producir un gran número de ovulaciones y obtener el máximo número de embriones transferibles que resulten en una alta probabilidad de preñez, ya que las hembras bovinas son animales uníparos por lo que generalmente liberan un

solo ovulo durante el ciclo estral, sin embargo con la incorporación de hormonales y métodos para la estimulación ovárica dentro de los programas de tratamiento estimulador que se ha podido incrementar la obtención de material germinal (ovocitos o embriones) y reducir la variabilidad que existe en los animales tratados en diferentes fases del desarrollo folicular, Sin embargo, la respuesta a estos tratamientos es muy variable y difícil de predecir (*Becaluba., 2007; Adams, 1994*)

La superovulación constituye uno de los factores más importantes, la eficiencia de su aplicación práctica, depende la producción de embriones transferibles que se obtenga de cada hembra superovulada. En la actualidad la superovulación en la vaca se basa en la administración exógena de gonadotropinas, encontrándose entre las más utilizadas la eCG y la FSH-p (*Leyva et al., 1999*)

Para poder llevar a cabo la superovulación en una vaca debe de cumplir con ciertos caracteres genéticos, debe ser un animal sobresaliente en cuanto a producción de leche y/o carne, evaluando esto tanto con base en su propia producción como las de su descendencia. No debe descuidarse el aspecto del tipo del animal ya que muchas veces es lo que da mayor valor comercial a las crías. Además debe ser un animal con buenos antecedentes reproductivos, presentando ciclos estrales de duración normal, con buena fertilidad (cargándose con uno o dos servicios o en un máximo de dos empadres) sin defectos anatómicos en el aparato reproductor (*Crespo 1987; Di-Bella rincón 2002; B.Hafez 2002; Gorlach A., 1999*)

En el estado sanitario, deberán estar libres de enfermedades, especialmente de aquellas que afectan la función reproductiva; según la región, deberá estar sometida a un estricto calendario de vacunación y desparasitación para garantizar un buen estado de salud. Deberá estar en perfectas condiciones

físicas para obtener los resultados esperados, por lo que se recomienda periódicamente hacer la calificación de la condición corporal de los animales (Gorlach., 1999; Cabodevila., 2001)

En cuanto a los tratamientos hormonales se debe de considerar el tipo de hormona, ya que existen diferentes preparados como son los preparados de FSH equina, porcina y caprina.

2.6 Hormonas utilizadas en un programa de transferencia de embriones

Las hormonas liberadoras de gonadotropinas (GnRH) más utilizadas en la superovulación son la FSH, la Ecg y la gonadotropina de la mujer menopáusica (HMG).también se ha utilizado de forma experimental extracto hipofisarios de equino. (Carlos F. et tal 2002)

La GnRH regulan y estimulan la secreción de la hormona luteinizante (LH) y de la hormona estimulante del folículo (FSH). Es por esto que son utilizadas en los programas de superovulación para transferencia de embriones. Esta hormona es de origen hipotalámica y también la podemos encontrar en el hipocampo, la corteza singular y el bulbo olfatorio. Su secreción es de carácter pulsátil y está influida positivamente por el sistema adrenérgico y negativamente por el opioide. La deficiencia congénita de esta hormona origina hipogonadismo y algunos animales presentan también carencias de otras hormonas liberadoras (Botana et tal., 2002)

La eCG fue descubierta en 1930, siendo su fuente de producción las células endometriales. Es una hormona glicoproteína con mayor contenido en carbohidratos (45%) siendo su peso de 68,000 daltons. Comparándola con las otras gonadotropinas es la que contiene mayor cantidad de ácido siàlico (10%) al que se le atribuye el mantenimiento sanguíneo prolongado de dicha hormona ya que con una inyección se obtienen efectos biológicos en el órgano blanco

por más de una semana (*Boland et tal., 1991; Martinuk et tal., 1992; Leyva et tal1999*)

Los niveles de eCG aparece en el suero de yegua muy tempranamente después de la concepción ya que a los 40 días de preñez puede comprobarse biológicamente, alcanzando sus mayores niveles entre los 60 y 70 días, a partir de los cuales se inicia su disminución hasta niveles no detectables, entre los 170 y 180 días de gestación (*Leyva et tal., 1999*)

La gonadotropina coriònica equina (eCG), llamada también gonadotropina sérica equina (PMSG), la cual tiene actividad de FSH y LH, a razón de 50% de cada una esta hormona tiene una vida media mucho mayor que las otras, por lo que se inyecta toda la dosis en una sola inyección, aplicando dos días después la prostaglandina, de preferencia dos dosis con intervalo de 12 horas. (*Hafez et tal., 2002*)

2.6.1 Prostaglandinas

Las prostaglandinas, al igual que otros icosanoides (así denominados porque son derivados químicos del ácido eicosanoico), son mediadores endógenos que se forman como consecuencia de la oxigenación de ciertos ácidos grasos poliinsaturados de cadenas largas, como el ácido araquidónico. Este ácido es el precursor de eicosanoides más importante. Es un ácido graso de 20 carbonos con 4 dobles enlaces en los carbonos 5, 8, 11 y 14, que forman parte de los fosfolípidos de las membranas celulares y cuya conversión en prostaglandinas y otros autacoides, comienzan con la liberación del mismo de las membranas celulares promedio de la fosfolipasa 2 o una combinación de fosfolipasa C y diglicérido lipasa a continuación se presenta un esquema global de esta reacción (*Galina., 2006*)



Las prostaglandinas y los tromboxanos se producen como consecuencia última de la acción de las ciclooxigenasas (COX) sobre el ácido araquidónico. Existen dos isoformas de la enzima COX-1 y COX-2 con importancia terapéutica. La enzima COX-1 se expresa de forma constitutiva y está siempre presente, en tanto que la COX-2 se expresa por medio de la acción de mediadores celulares. Las prostaglandinas y los tromboxanos actúan fundamentalmente en el músculo liso de las vías respiratorias, el sistema gastrointestinal, el aparato reproductor y los vasos sanguíneos, aunque se han descrito múltiples acciones en distintos tipos celulares (*Botana et al., 2002*)

La prostaglandina más importante en la reproducción es la prostaglandina F2α, responsable de la destrucción del cuerpo lúteo razón, por la cual se utiliza en los programas de transferencia de embriones. En la mayoría de las especies también provoca contracciones uterinas, por lo que es

importante para el parto, el transporte de los espermatozoides y la involución uterina después del parto. (*Caravaca et al., 2003*)

2.6.2 Progesterona

La progesterona fue aislada por Córner y Allen en 1933, a partir de cuerpos lúteos de la cerda el cual es el encargado de mantener la preñez. la progesterona es también conocida como hormona del cuerpo lúteo que es donde se origina y de modo similar a los estrógenos, también se origina en los testículos y las glándulas suprarrenales siendo químicamente un cetosteroides que se supone que es un interproducto de la biosíntesis de los corticoides adrenales y de los andrógenos (*Brito., 2003*)

En las hembras bovinas el cuerpo lúteo es el principal lugar de producción de progesterona y su regresión se produce antes de iniciarse el parto (*Sacristán., 1995*) Esta hormona es producida principalmente por las células del cuerpo lúteo. También es producida por la placenta de algunos animales. Esta hormona actúa sinérgicamente con los estrógenos en varias funciones reproductivas que incluyen el crecimiento del epitelio glandular, del útero y de la glándula mamaria además, facilita la liberación de ovocitos maduros. Sin embargo, la mayoría de las funciones de la progesterona están en caminadas a culminar exitosamente la gestación una vez lograda la concepción. De esta manera la progesterona inhibe la conducta sexual, el cual puede ser riesgoso para la gestación ya establecida, inhibe las contracciones uterinas, provoca el cierre del cérvix y estimula las glándulas endometriales a secretar la leche uterina o histotrofos, sustancia que permite la nutrición del embrión antes de implantarse. (*Galina., 2006*)

En los tratamientos de la sincronización del ciclo estral se han utilizado diversos tratamientos a base de progesterona o progestágenos, en distintas presentaciones y métodos de aplicación, combinado generalmente con otras hormonas. En un producto comercial empleado en programas de sincronización

del estro, el dispositivo intravaginal de liberación controlada de drogas (CIDR, por sus siglas en inglés) este implante contiene 1.9 g de progesterona natural, la cual se libera de manera constante y relativamente uniforme, mientras el dispositivo se encuentra insertado en la vagina (*Solórzano et al., 2008*)

Las concentraciones de progesterona son mucho más altas en la grasa de la leche que en el plasma sanguíneo, consecuentemente, los análisis de grasa de la leche proporciona una extensa distribución de los niveles de progesterona e incrementa las posibilidades de diagnóstico de la misma, especialmente si los niveles de progesterona se miden al momento de la IA, donde se supone que los niveles de progesterona son bajos (*Waldmann et al., 2001*)

2.6.3 Hormona folículo estimulante (FSH)

La hormona FSH tiene como función, ayudar al crecimiento folicular, esta se produce en el lóbulo anterior de la hipófisis. Es una glicoproteína sintetizadas por las células basófilas de la hipófisis anterior y su vida media en la sangre es de aproximadamente 5 horas. (*Walters y Shallenberger., 1984*)

La FSH fue aislada por *Li et al en 1940*. De la hipófisis de la oveja, y más tarde de la cerda y de la yegua (*Holy., 1987*) Este autor planteó que la hipófisis de la yegua es la fuente más rica de esta hormona y químicamente es una glicoproteína con un peso molecular cercano a 32,000 Dalton, en la oveja, 30,000, en vacas y 29,000 en cerdas.

La FSH desempeña un papel fundamental en el proceso de reclutamiento folicular en tanto que niveles basales de esta hormona son suficientes para producir el crecimiento de un grupo de folículos de 4 a 8 mm y el desarrollo de un folículo dominante. Este suprime el crecimiento (atresia) de los folículos medianos y grandes que lo acompañan (*Areland y Rocher., 1987*)

Existe un sistema de feed-back negativo clásico se establece entre el folículo dominante y la hipófisis, a través de la cual disminuyen los niveles periféricos de FSH, lo que bloquea el reclutamiento de nuevos folículos (*Rivera., 1993*)

En general la FSH es el principal regulador de la inhibición, ya que estimula su producción de las células de la granulosa de folículos no atrésicos, Esta estimulación establece un mecanismo de feed-back negativo sobre la síntesis y liberación, tanto de FSH, como de GnRH en la hipófisis y en el hipotálamo respectivamente (*Ling et al., 1990*)

La FSH se relaciona con los estrógenos para ejercer una acción mitogénica en las células de la granulosa y para estimular la proliferación de la misma, instaurándose un mecanismo de feed-back positivo. Los receptores de FSH se detectan en las células de la granulosa (*Padrón., 1990*)

La FSH es indispensable para la secreción de estrógenos foliculares (*Findlay, 1993*) ya que estimula el crecimiento de la mitosis y la diferenciación de las células de la granulosa de folículos preovulatorios grandes. Cerca del 90% del estradiol secretado por los ovarios se deriva de estos folículos (*Denis y Gil., 1997*) es por esto que en los programas de transferencia de embriones la FSH se utiliza en dosis decrecientes para estimular a los ovarios.

En los machos, la FSH actúa en las células germinales de los túbulos seminíferos para el aumento del tamaño de los testículos, contribuye en la espermatogénesis hasta la fase de espermatocitos secundarios, ya que después los andrógenos se ocupan de las etapas finales de la espermatogénesis (*Reeves., 1980*)

2.6.4 Estrógenos

Los estrógenos son hormonas esteroideas que estimulan el crecimiento, controlan la ovulación, preparan el aparato reproductor para la fecundación y la

implantación y tiene efectos metabólicos sobre los minerales, los glúcidos las proteínas y los lípidos (*Loewe., 1925*) informó por primera vez la existencia de una hormona sexual en la sangre de la hembra en diversas especies y en el mismo año (*Frank, et tal., 1925*) Determinaron un principio sexual activo en la sangre de hembras porcinas en etapa de estro. A partir de la orina, se pudieron aislar e identificar los estrógenos, lo que proporcionó la base química para el desarrollo de fármacos sintéticos. Los estrógenos son producidos en la célula de la granulosa del folículo ovario a partir de andrógenos producidos previamente por las células de la teca interna, la cual son estimuladas por la FSH, que favorece la conversión de andrógenos en estrógenos por medio de la expresión de la enzima P-450 aromatasa. La síntesis y secreción está regulada durante el ciclo estral por el efecto de las gonadotropinas (*Botana et tal., 2002*)

Los estrógenos tienen efectos físicos y conductores orientados a traer al macho, tales como el desarrollo de los caracteres sexuales secundarios de las hembras, como son el enrojecimiento de la vulva durante el estro en algunas especies, la producción de ferohormonas, la búsqueda activa del macho. También promueve la conducta de receptibilidad sexual necesaria para permitir la cópula. Por otra parte los estrógenos preparan a los órganos genitales femeninos para la cópula y el transporte exitoso de los espermatozoides hacia el oviducto. Así los estrógenos inducen un engrosamiento del epitelio vaginal, un aumento de las defensas a nivel genital, la producción de moco cervical, la apertura del cérvix y el incremento de las contracciones uterinas. Los estrógenos estimulan la foliculogénesis y son esenciales para desencadenar el pico preovulatorio de LH, permitiendo de esta forma que el ovulo esté presente en el oviducto cuando llegan los espermatozoides (*Galina., 2006*)

En los mamíferos existen diferentes tipos de estrógenos de los cuales los más conocidos son: 17β estradiol, 17α estradiol, estradiol, 16 epiestrol, 16 hodroiestrol, aquilina e hipulina en la cual la mayoría de ellos presentan compuestos más o menos desactivados o con muy baja actividad, el precursor

de las hormonas esteroideas es el acetato y luego el colesterol, respectivamente delta-5-pregnon las que crean a través de fermentos aromáticos la base de la formación de 17β -estradiol, 17α estradiol y el oestrón, además que dicha formación no está limitada solo al folículo ovárico, sino que también puede organizarse en cierta cantidad en el cuerpo lúteo, en las glándulas suprarrenales y en los testículos fundamentalmente más marcados en verracos (*Diamond., 1993*)

La influencia de los estrógenos en los órganos periféricos se conoce desde hace tiempo, no solo influyen en los órganos sexuales secundarios, sino además en los órganos tubulares, que antecede a la fase progestativa, necesaria para la anidación del óvulo fecundado. Otras funciones son los cambios en el parénquima de la ubre, influyen también en el libido, aumentándolo durante el celo, actúan también en el crecimiento de los huesos intensificando el desarrollo de las apófisis, fomentan la retención de P, Na y Ca en el organismo, estimula la formación de la hormona tirotrópica (STH) lo que se aprovecha en forma práctica en la engorda de animales (*Ortuño., 1994*)

III MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Localización del trabajo experimental

El presente trabajo se llevó a cabo en un establo lechero de la comarca lagunera en la ciudad de Torreón Coahuila ubicado en la carretera unión la paz. El establo cuenta con una población total de 543 animales de los cuales 290 están en producción, 30 secas, 80 vaquillas en edad de inseminación, 40 vaquillas preñadas, 90 becerras de entre 2 a 12 meses, y una población lactante de 13 animales. El promedio de producción general del establo es de 25 litros.

3.2 Animales experimentales

Se utilizaron dos vacas Holstein-Friesian, de entre 60- 90 días de postparto, con pesos corporales que oscilaron entre 600-700 kg, con una producción láctea y calidad genética similar y un buen estado de salud. Las vacas estaban alojadas en corrales de producción en donde se les daba de comer a las 5 a.m., 8 a.m., 1p.m. y 5 P.m. con una dieta con una proporción de forraje/concentrado de 49.0/51.0, respectivamente. La selección de las donadoras fue basado en las características fenotípicas y en la producción de leche, el promedio de producción de los animales fue de 32 kg/lactancia. A todos los animales (donadoras y receptoras) se les practicó un examen ginecológico, mediante palpación rectal y los animales que presentaron trastornos reproductivos, no se incluyeron en el experimento. En el caso de las donadoras el examen se realizó a los 15, 30 y 60 días postparto, la sincronización para la superovulación se inicio a los 60 días postparto.

3.3 Manejo y tratamiento de los animales

Durante el desarrollo del trabajo experimental, los animales se mantuvieron separadas del manejo productivo rutinario del establo y se sometieron a un proceso de superovulación, las donadoras fueron sincronizadas usando 2 aplicaciones de prostaglandina F₂ α (500 mcg cloprostenol sódico) con un intervalo de 11 días entre inyecciones. La detección del estro se realizó por observación visual de 24-72 hrs. posteriores a la segunda inyección, tomando el día del celo como día cero. El día 6 del ciclo estral se les aplicó a ambas donadoras un implante intravaginal de progesterona (1mg) y una inyección intramuscular de benzoato de estradiol.

El tratamiento superovulatorio se inició el día 11 del ciclo estral administrando dos dosis por día de FSH-P a las 7 a.m y 7 p.m. respectivamente en dosis

decrecientes y finalizó el día 14. Aplicando una dosis total de 900 U.I. al tercer día del tratamiento superovulatorio, se retiró el implante de progesterona a las 7 p.m. acompañado de una tercera dosis de prostaglandina F_{2α}, aunado al tratamiento con FSH. La detección del celo se realizó a partir del día 14. Las vacas fueron inseminadas a las 12 horas y re inseminadas a las 24 horas posteriores al reporte del celo. Inseminando una vaca con una dosis en cada inseminación de semen no sexado (40×10^6 espermatozoides totales) la cual sirvió como testigo y a la otra con 2 dosis en cada inseminación con semen sexado (8×10^6 espermatozoides totales) del mismo semental y compañía. El lavado para la recuperación de embriones se realiza al séptimo día posterior a la primera inseminación por el método no quirúrgico.

Para la transferencia embrionaria se descartaron estructuras no aptas (ovocitos no fertilizados, embriones degenerados y con retraso en el desarrollo). Embriones en estadio de mórula, blastocitos temprano y expandido son clasificados embriones transferibles y no transferibles, a excepción de estos últimos fueron preparados en solución de mantenimiento para su transferencia en fresco.

Las hembras que se prepararon como receptoras (18 vaquillas vírgenes) se seleccionaron en base a la condición corporal y estado reproductivo. Estos animales fueron sincronizados al igual que las donadoras usando 2 aplicaciones de prostaglandina F_{2α}, utilizando la misma dosis que las donadoras, con el mismo intervalo de días entre inyecciones y el implante intravaginal. La detección del estro se realizó utilizando la misma técnica descrita anteriormente con las donadoras. Estas hembras recibieron un embrión cada una en el cuerno uterino ipsilateral al cuerpo lúteo.

El tratamiento con FSH-P se hizo de acuerdo a las recomendaciones del fabricante con el siguiente esquema:

DIAS Y DOSIS DE APLICACIÓN DE FOLTROPIN				
	1	2	3	4
HORARIO	DOSIS	DOSIS	DOSIS	DOSIS
A.M	3.5	2.5	1.5	1.0
P.M	3.5	2.5	1.5	1.0

La calidad de la respuesta superovulatoria fue evaluada por palpación rectal el día anterior al lavado programado, considerándose que respondieron al tratamiento superovulatorio las vacas que presentaron tres cuerpos lúteos o más en cada uno de los ovarios.

3.4 Detección de celo

Se realizó durante las mañanas y las tardes por personal capacitado, intensificando la observación a partir de las 40 horas posteriores a la aplicación de PgF2 α . Se considero como inicio del celo el momento en que las vacas permitieron ser montadas. Las vacas con celo manifiesto fueron inseminadas con semen de toros con fertilidad aprobada.

3.5 Recuperación y clasificación embrionaria

El lavado uterino para la extracción de los embriones, se realizó a los 7 días después de la inseminación artificial (I.A) por medio del método no quirúrgico utilizando 500 ml de solución de lavado (BioLife Advantage Embryo Collection Médium) por cada cuerno uterino.

La clasificación de los embriones obtenidos en cada lavado uterino se realizo bajo observación estereoscópica, siguiendo las indicaciones de Linder y Wright (1983) en la que señala que los embriones con grado 1 son aquellos que no

poseen daños visibles, son simétricos, esféricos, con células de tamaño, color y textura uniformes. Los que se clasifican con grado 2 son aquellos con pequeñas imperfecciones, con blastómeros no alineados, de forma irregular y/o pocas vesículas. Mientras que los grupos de grado 3 son los que tienen problemas de morfología como son células degeneradas de diferentes tamaños. Los no transferibles o de mala calidad presentan problemas severos, como tener un porcentaje significativo de blastómeros no alineados, gran cantidad de células degeneradas de diferentes tamaños, vesículas grandes y numerosas, con o sin aspectos de masa embrionaria viable.

3.6.- Análisis estadísticos

Los datos obtenidos fueron analizados por medio del paquete estadístico SYSTAT (versión 10) en el que se analizaron la tasa de fertilización, porcentaje de embriones transferibles y tasa de gestación. Para las variables con proporciones se realizó una prueba de comparación de medias mediante un análisis de Chi cuadrada (χ^2).

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 1.- Respuesta superovulatoria, ovocitos, cantidad y porcentaje de embriones obtenidos por lavado en cada una de las vacas inseminadas con semen no sexado y sexado.

Tipo de seme Utilizado	Cuerpos lúteos	Ovoc. No fertilizados	Tot. de embriones obtenidos	%
No sexado	15	0	13	84.66 a
Sexado	5	0	4	80.00 a

Literales iguales no difieren estadísticamente

Tot.= Total

Ovoc.= Ovocitos

En la tabla 1, hubo diferencia en la respuesta superovulatoria, pero al realizar el lavado comparando el número de embriones con los cuerpos lúteos presentes no se observó diferencia estadística.

Tabla 2.- Clasificación y porcentaje de embriones transferibles y no transferibles obtenidos en cada una de las vacas superovuladas e inseminadas con semen no sexado y sexado.

	Emb. tot	Embriones transferibles (%)	Embriones N. T. (%)
No sexado	13	11 (84.61) a	2 (15.38)
Sexado	4	4 (100%) a	0 (0.00)

Literales iguales no difieren estadísticamente

N. T.= No transferible

Emb. tot.= Embriones totales.

En cuanto al porcentaje de los embriones transferibles (tabla 2), al evaluarlos no se observaron diferencias estadísticas. Sólo para en los embriones no sexados se encontraron 2 no transferibles sin haber diferencia.

Tabla 3.- Tasa de gestación de las hembras receptoras de acuerdo al tipo de embrión recibido (no sexado y sexado).

Tipo de embrión	Receptoras	Total preñadas	%
No sexado	11	3	27.27a
Sexado	4	3	75.00b

Literales diferentes P= 0.09

Las tasas de gestación observadas en la tabla 3, presentan una tendencia estadística a ser diferentes, siendo mayor para los embriones producidos con semen sexado.

La respuesta superovulatoria fue evaluada de acuerdo a los cuerpos lúteos presentes en el ovario al momento del lavado, sin influir en esta variable el tipo de semen utilizado en cada vaca, la diferencia en la respuesta al tratamiento superovulatorio de cada animal es debido posiblemente, a la eficiencia individual de responder a los preparados de FSH por las diferentes condiciones endocrinas y de receptores entre otro (*Zizlavsky, 2002*), además de que el comportamiento del animal juega un papel importante, ya que se ha demostrado que cerca del 30 % de los animales que se someten al tratamiento superovulatorio no producen embriones de buena calidad (*Leyva., 1999*)

De acuerdo con *Becaluba et al (2007)* Los programas de súperovulación en el ganado bovino son comenzados durante la fase lútea media preferentemente entre los días 8 y 12 después de observado el celo. Este

esquema para superovular vacas donantes, derivó de expertos y pruebas de campo en la que se concluyó en que los tratamientos superovulatorios comenzados en el día 9 o 10 después de detectarse el celo resultaban con una mejor respuesta superovulatoria que aquellos iniciados antes, esto es debido a que durante el ciclo estral bovino hay 2 o 3 (a veces 4 en el ganado cebú) ondas de desarrollo folicular y en las mayoría de las vacas la segunda onda folicular, comienza en promedio, entre los días 9 y 10.

La tasa de fertilización para el semen sexado y no sexado, no fue diferente ya que no se encontraron ovocitos no fertilizados en ninguno de los lavados, coincidiendo con lo reportado por Hayakawa *et. tal.* (2009) quienes tampoco encontraron diferencias estadísticas al evaluar esta variable (5.3% vs 21.8%). Algunos estudios reportan bajas tasas de fertilización con el uso de semen sexado en la transferencia de embriones (Peippo *et. al.* 2009), al utilizar la mitad de la concentración espermática con semen sexado en este estudio, de esta forma se está demostrando la posibilidad del éxito de este tipo de semen en esta práctica a una concentración más alta (4×10^6 espermatozoides totales).

Actualmente existen muchos estudios que tiene por objetivo determinar la tasa de concepción en el uso de semen sexado en vacas lecheras de alta producción, en general la tasa de concepción es de 50 a 60%.en un estudio en que se utilizaron más de 300 vacas lecheras de alta producción inseminadas después de la detección de celo con semen sexado con una concentración espermática de (2×10^6 esptz/dosis, n= 157) y para el semen convencional(15×10^6 esptz/ dosis, n=149), la tasa de preñes fue de 21% para las vacas inseminadas con semen sexado y de 46% para el grupo de semen convencional Andersson *et tal* (2004). Estos resultados están por debajo de los que se obtuvieron en nuestra investigación en transferencia de embriones utilizando una mayor concentración espermática en el semen sexado.

En cuanto al total de los embriones obtenidos está relacionado directamente con la respuesta superovulatoria, pero al relacionar el porcentaje de embriones obtenidos con los cuerpos lúteos presentes en las dos vacas donadoras no se encontraron diferencias, lo cual permite afirmar que en este estudio con la concentración de espermatozoides utilizada se pudo producir embriones, ya que no se observaron diferencias para ambos animales inseminados con distintos tipos de semen. Como lo menciona Schenk *et. al.* (2006) es posible la utilización de esta técnica en la práctica comercial, difiriendo de lo expuesto por Peippo *et. al.* (2009)

Al analizar la calidad de los embriones para este trabajo, se consideró dividir a los embriones en transferibles y no transferibles, no encontrando diferencia estadística lo que permite interpretar que no hay efecto negativo del semen sexado sobre esta variable coincidiendo con Hayakawa *et. al.* (2009), la calidad de los embriones transferibles en este estudio se considera alta, ya que en el caso de los embriones producidos por semen sexado un 100% fueron transferibles, en esta variable pudo influir los días posparto en que se inició la superovulación y el que fuera primer tratamiento superovulatorio ya que de acuerdo con Riha *et. al.*, (1999) la más alta calidad embrionaria se obtiene durante los días en que nosotros iniciamos el tratamiento y durante la primera superovulación.

Comparando actualmente la tasa de preñez con embriones obtenidos in vivo e in vitro es de 40% - 70% y 30% - 50% respectivamente Rommel, (1996) Merton (1997) Aller y Ciol (2000) en la cual nos indican que la tasa de preñez obtenida con embriones producidos in vitro es aun baja y varía entre el 10% y 40% Schertner y col (1999)

La tasa de gestación en este estudio, fue mayor para los embriones sexados, encontrando una tendencia estadística para esta variable, sin embargo, el número de embriones es bajo como para hacer afirmaciones, ya

que los datos hasta este momento son pocos, y que sólo se haya encontrado tendencia, pudiera deberse al número de animales que se considera pequeño para este tipo de estudios. Aunque estos resultados son preliminares, pueden ser un indicio de que la concentración utilizada en la inseminación con semen sexado a la hembra superovulada es suficiente para producir embriones de buena calidad, tal como lo menciona Xu *et. al.* (2009) con la ventaja de que estos son del sexo deseado.

VI. Conclusión

Se puede concluir que, las concentraciones de semen sexado utilizadas en este estudio, fueron suficientes para fertilizar la mayoría de los ovocitos liberados en la superovulación y no afectó negativamente la calidad embrionaria por lo que se puede concluir que el uso de semen sexado en vacas Holstein superovuladas puede ser económicamente viable en algunas situaciones de un sexo determinado que puede ser maximizado.

VI. LITERATURA CITADA

Brito, R. C. (1993). Ciclo reproductivo. Libro de fisiología de la Reproducción Animal. Segunda edición, latinoamericana, La Habana, Pág. 35-42.

Boland, M P., Goulding, D. y Roche, J. F. (1991) Alternative gonadotrophins for superovulation in cattle. Theriogenology.35:5-17

Botana et tal., (2002).Farmacología y terapéutica veterinaria. Editorial McGRAW-HILL/INTERAMERICANA DE ESPAÑA,S. A. U.1ª Edición en español. Pág. 350-421.

Carlos G, y Javier V. (2006). Reproducción de los animales domésticos. Editorial LIMUSA. 2ª Edición. Pág. 59-83.

Denis G.,y Gil A. (1997) Aplicaciones Prácticas de la Ultrasonografía en los Programas de Transferencia de Embriones. Informe técnico. CIMA. La Habana, Cuba.

Diamon, M.V. (1993). Transferencia de embriones en el ganado bovino. Algunos factores que influyen en la respuesta superovulatoria de la donante y la gestación en receptoras. Centro de investigación para el mejoramiento animal. Tesis para obtener el título de maestría en reproducción animal. La Habana, Cuba. pag 24-33.

Di-Beya Rincón Víctor M., (2002) utilización practica de la transferencia de embriones en México, Tampico, Tamaulipas.

E. S. E. Hafez, (2002) reproducción e inseminación artificial en animales, Séptima Edición, México DF, Mc Graw Hill.

Gorlach A, (1999) transferencia de embriones en el ganado vacuno. Editorial Acriba. Pp.207- 229.

J. Cabodevila & Torquati., (2001) transferencia de embriones y biotecnología de la reproducción en la especie bovina.

Hayakawa, H., Hiráis, T., Takimoto, A., Ideta, A. y Aoyagi, Y. (2009). Superovulation and embryo transfer in Holstein cattle using sexed sperm. Theriogenology 71:68-73.

Hernández., (2002). . Mejoramiento Animal Reproducción Bovinos. UNAM, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.2da Edición. PP. 42-43.

Holy I. (1987) Biotecnología de la reproducción bovina. Editorial Científico y técnica 2a .Edición. Escuela superior de medicina veterinaria de BM, RSCH. y Universidad de la Habana. Cuba. P 178-194.

Ireland J J., Roche JF. (1987).Hypothesis regarding Development of Dominant Follicles During a Bovine Estrous Cycle. En: Roche, J. F; O. Callegha, D. (Eds).Follicular Groth and Ovulation Rate in Farm Animals. Martinus Nijhoff. The Hague. Pp.1-18.

Leyva, C., Barreras, A., Varisanga, D. (1999) Transferencia de embriones no quirúrgica en ganado bovino. U.A.B.C. Mexicali, B. C.

Lindner, M. y Wright, R. W. (1983). Bovine embryo morphology and evaluation. *Theriogenology* 20:407-416.

Ling N Depaolo L V., Bicsak T A., and shimasaki S. (1990). Novel Ovarian Regulatory Peptides : Inhibin, Activin and Follistatin. *Cling. Obst. And Gynec.* 33:690-702.

Martinuk, S., Manning, A. B. y Murphy, B.(1992) Effects of carbohydrates on the pharmacokinetics and biological activity of equine chorionic gonadotropin in vivo. *Biol. Reprod.* 45:598-604

Mullaarta, R.M.G Roelofsa, RP Hoornea, J.F Morenop (2009) ciencia aplicada animal. *Theriogenology* 71:64-67

Ortuño, A. D. (1994) Mecanismos neuroendocrinos de regulación de la reproducción en mamíferos domésticos. *Reproducción Animal Avanzada. Revista Universidad Autónoma de Tamaulipas; Pag.1-9*

Padrón D R S. (1990). Tema de reproducción femenina. Editorial Científico Técnica. Ciudad de la habana. Pg. 14- 31.

Peippo, J., Vartia, K., Kananen-Anttila, K., Rätty, M., Korhonen, K., Hurme, T., Myllymäki, H., Sairanen, A. Y Mäki-Tanila, A. (2009) Embryo production from superovulated Holstein-Friesian dairy heifers and cows after insemination with frozen-thawed sex-sorted X spermatozoa or unsorted semen. *Anim. Reprod.Sci.* 111:80-92

Pineda, C. (2008) Comportamiento de la becerrera Holstein suplementada con diferentes levaduras comerciales durante la lactancia. Tesis de licenciatura. UAAAN-UL

Ríha, J., Machatková, M., Peteliková, J., Jakubec, V., Pytloun, J., Sereda, L., Pavlok, A. (1999). Biotechnology in livestock breeding and improvement. RICB, Rapotín. Pag. 167.

Rivera G. (1993). Regulación Neuroendocrina de la Function Ovarica. En: Panamá, G. y Brem, G. Transferencia de embriones y Biotecnología de la Reproducción en la Especie Bovina. Editorial Hemisferio Sur. Buenos Aires. Argentina. Pp. 43-63.

Rosales y Guzmán., (2008) Apoptosis in follicular atresia and lútea regression. Review. Theriogenology 46(2):159 – 182

Schenk, J. L., Suh, T. K. y Seidel, G. E. (2006). Embryo production from super ovulated cattle following insemination of sexed sperm. Theriogenology 65:299–307.

Seidel., (1999) Reproducción de ciencia animal. Theriogenology 71:1-3

Solórzano, C., Hernan, J., Galina, C., Villa, A., R. vera, H., Romo, S. (1998) Reutilización de un dispositivo liberador de progesterona (CIDR-B) para sincronizar el estro en un programa de transferencia de embriones bovinos.46 (2):119-135.

Waldmann. A., Reksen, O., Landsverk. Kommisrud, E., Dahl, E., Refsdal, A. O., Ropstad, E. (2001) Progesterone concentration in milk fat at first insemination effects on non-return and repeat-breeding. Anim. Reprod. Sci...65:33-41.

Walters, D. L. y Schallenberger E. (1984) Pulsatile secretion of gonadotrophins, ovarian steroids and ovarian oxytocin during preovulatory phase of the oestrus cycle in the cow. J. Reprod. Fert. 71: 503-512.

Xu, J., Chaubal, S. (2009) Optimizing IVF with sexed sperm in cattle. *Theriogenology* 71:39–47.

Zizlavsky, J., Ríha, J., Urban, F., Máchal, L., Stípková, M. (2002). Production of embryos from repeated superovulations of cows during one calving interval. *Czech J. Anim. Sci.* 3:92-97.