

**Reporte protocolo de superovulación en vacas Akaushi ubicadas en el municipio
de Zipaquirá, Cundinamarca**

Trabajo de grado para optar por el título de Médico Veterinario

Martin Eduardo Velez Mejía

Asesor

Jorge Andres Prada

M.V, Esp MsC

Corporación Universitaria Lasallista.

Administración y ciencias agropecuarias

Medicina Veterinaria

Caldas-Antioquia

2018

Contenido

Resumen	5
Introducción	6
Justificación	7
Objetivos generales	8
Objetivos específicos	8
Marco teórico	9
Materiales y metodos	19
Resultados	23
Discusión	25
Conclusión	28
Bibliografías	29

Lista Imágenes

IMAGEN 1	15
----------------	----

Lista de tablas

Tabla 1	20
Tabla 2	24

Resumen

Reporte de caso realizado en Zipaquirá, Cundinamarca en 31 vacas de la raza Wagyu Akaushi, donde se realiza un protocolo de superovulación con sincronización de ondas foliculares al usar un protocolo de 8 dosis descendientes de FSH y siendo inseminadas a término fijo a 12 y 24 horas luego de aplicar un inductor de ovulación como lo es el benzoato de estradiol. Se recuperan 143 estructuras en total de las cuales 102 son embriones transferibles con un promedio de 3,2 embriones lo cual concuerda con algunos artículos consultados.

Palabras clave: Superovulación, FSH, Vacas Akaushi, Embriones transferibles

Introducción

La superovulación y transferencia de embriones es una técnica utilizada para aumentar la descendencia de una donadora de alto valor genético llevando a promedios de ovulación de 11.5 estructuras y embriones transferibles de 6.5 (M.Hooper, 2015) lo cual representa una gran ganancia teniendo en cuenta que las hembras bovinas son de una sola ovulación por estro. Esta técnica se ha estudiado desde los años treinta del siglo pasado sobre todo en ovejas y cerdas siendo exitosa en los años cincuenta y siendo masificada en américa desde los años 70. Sin embargo esta no es perfecta puesto que hay muchos factores que afectan su respuesta, estos incluyen factores nutricionales, de la raza, farmacológicos, del semen según la edad, el calor térmico y algunos factores ováricos. En este trabajo de grado se busca reportar un protocolo de superovulación que se le realizo a 31 vacas Wagyu Akaushi, una raza poco implementada en Colombia y de alto valor por su calidad de carne, en el municipio de Zipaquirá, Cundinamarca a cargo de la empresa CGR Biotecnología S.A.S pionera en el ámbito reproductivo en Colombia contando con división de andrología y división de hembra; está dirigida por dos Médicos Veterinarios altamente calificados y de amplia experiencia y reconocimiento en el medio fue la principal encargada del procedimiento.

Para este caso se realizó un protocolo de superovulación con FSH a dosis de 250 mg totales dos veces al día en combinación con un protocolo de inseminación artificial a término fijo (IATF), para obtener embriones a los 7 días por el método de lavado uterino o Flushing con la finalidad de ser transferidos a vacas receptoras o congelados y ser puestos a disposición del público

Justificación

La raza Wagyu Akaushi es una raza relativamente nueva en el país, donde el inventario total de animales no supera los 1000 en Colombia, y posee unas grandes ventajas en la producción y calidad de carne alcanzando altos valores económicos una porción de carne en el mercado internacional. Esta es considerada como una gran opción Para que Colombia tenga la factibilidad de ingresar en el mercado internacional de carne y llevar los productos a países grandes consumidores de carne y de Buena calidad, sin embargo para lograr este ambicioso reto es necesario contar con una producción masiva de carne y un volumen de ejemplares de la raza considerable, por lo tanto es evidente la necesidad de reproducir el núcleo genético presente en el país de la manera más rápida y optima posible, para lo cual es importante implementar procesos biotecnológicos reproductivos tales como la superovulación y transferencia de embriones de estas donadoras.

Colombia presenta la necesidad inminente de ser mejor en el mundo agropecuario, ser una potencia latinoamericana en la ganadería y tener la capacidad de soportar negocios con las potencias mundiales, por lo tanto son los profesionales del campo los que tienen que sobresalir lo cual solo se logra con el compromiso de la investigación y la academia para luego trascender del papel al campo laboral y comercial, resaltando trabajos de grado tales como este donde se resalte lo que se realiza a nivel de campo que permita sugerir dudas y mejoras para llevar estos logros en común a fin.

Objetivos

Objetivos generales

Describir protocolo de superovulación en vacas Akaushi ubicadas en el municipio de Zipaquirá, Cundinamarca

Objetivos específicos

Caracterizar la condición corporal de las vacas sometidas al protocolo de superovulación.

Caracterizar las estructuras embrionarias obtenidas en el protocolo y su viabilidad

Expresar condiciones de mantenimiento

Consultar literatura específicamente de factores externos e internos que puedan afectar el resultado

Consultar literatura sobre Endocrinología del ciclo estral en bovinos

Detectar celo en las vacas que ingresaron al protocolo

Marco teórico

Historia

La primera transferencia exitosa de embriones fue reportada en 1890 por Walter Heape el cual transfirió embriones de conejo sin utilizar ningún medio, pasaron muchos años donde la transferencia de embriones no tubo avances y se practicó solo en conejos, fue hasta 1950 cuando nació el primer bovino producto de una transferencia de embriones gracias a E.I Willet en la universidad de Wisconsin. Sin embargo solo hasta 1970 donde se presentó la transferencia de embriones como una técnica comercial, desarrollada ampliamente en el reino unido y algunas universidades de Norte América donde se encontraban todas las comodidades para mantener bajo anestesia las dos vacas involucradas (donante y receptora), siendo lanzado al público en diciembre de 1975 el primer libro en que se describa la técnica utilizada por las dos escuelas, americana y europea, editado por Rowson y escrito por él y otros científicos de las dos escuelas Europea y americana .curiosamente la raza más sometida a este procedimiento fue la raza Simmental debido a que el proceso quirúrgico era complicado por las ubres de las vacas de razas lecheras. Solo fue masificado en estas razas hasta después de 1977 donde se impuso el lavado uterino no quirúrgico donde se implementa una sonda Foley y el depósito de líquidos por gravedad siendo recuperados en recipientes para luego buscar los embriones recuperados, en los primeros procedimientos el moco uterino represento un problema por lo que se implementó el uso de filtros. En esta época se

implementó el procedimiento en las granjas y no en los centros de reproducción aumentando significativamente el número de embriones producidos (hasler, 2014)

La superovulación comenzó con la transferencia de embriones haciendo que el proceso fuera mucho más rentable, esta se realizaba con FSH purificada de pituitaria porcina o con gonadotropina coriónica equina (eCG) a cual reportan que se extraía de la sangre de yeguas preñadas entre los 80 y 120 días, sin embargo esta solo se podía utilizar una vez ya que la segunda ocasión corría el riesgo de provocar un shock anafiláctico en la donante. En 1974 Keith Betteridge reporto una mejor calidad de los embriones, por lo tanto una mayor tasa de preñeces, utilizando FSH a comparación de eCG o gonadotropina coriónica humana (hCG) (hasler, 2014)

Las técnicas de T.E fueron beneficiadas por la práctica de súper ovular y transferir embriones de novillas incluso novillas nulíparas a comparación de vacas mayores de 7 años como antes se acostumbraba hacer. Otro punto importante al cual se benefició esta práctica fueron los protocolos de sincronización puesto que antes los protocolos de superovulación se iniciaban entre los días 8 y 13 del ciclo estral lo que hacía muy difícil superpoblar un grupo grande de donantes ya que era necesario conocer el estro pasado de cada una de las donantes. Para sincronizar el ciclo estral se implementaba un dispositivo intravaginal liberador de progesterona por 10 días y al retirar el dispositivo se esperaba el estro dentro de los próximos 3 días lo que redujo el intervalo de 60 a 40 días entre lavados. (hasler, 2014)

Fisiología

Es de crucial importancia para el éxito del protocolo de superovulación entender y manejar el ciclo estral bovino ya que dependiendo del momento o la manipulación de este por medio de hormonas externas el que nos arrojará un resultado favorable. El ciclo estral es considerado un proceso biológico que influencia la morfología, histología y endocrinología de órganos reproductores y otros órganos asociados en la hembra madura sexualmente con el fin de presentar condiciones favorables para los procesos de coito, fecundación nidación y desarrollo del feto. Este está influenciado no solamente por el aparato reproductor de la hembra sino también por el medio ambiente, tomando gran importancia la nutrición, la interacción social, la presencia de macho, el estrés calórico y la explotación en la que se encuentra la hembra. Es importante resaltar que en algunos casos puede estar ausente el ciclo estral en la vaca sin ser patológico como es el caso de la hembra recién parida, amamantando o en ordeño y en países estacionares en común en invierno que las hembras tanto en producciones lecheras como cárnicas se encuentren ciclando. El ciclo estral tiene una duración de 18-24 días tomando como promedio 21 días, donde se divide en dos fases principales, la fase lútea, en la cual predomina el cuerpo hemorrágico y luego el cuerpo lúteo, produciendo progesterona hormona que se encarga de mantener la gestación en caso tal de haberla, y la fase folicular donde predomina el crecimiento de folículos y su producción de estrógenos encargados de los cambios de comportamiento de la hembra donde será receptiva al macho. (Weisbach, 1999)

Estas dos fases además están divididas según las manifestaciones de la hembra durante el ciclo por lo tanto se puede decir que la fase folicular se divide en: proestro y estro; el proestro tiene una duración aproximada de 3 días en donde ya no se encuentra el cuerpo lúteo y permite el crecimiento de la onda folicular que al final culminara con la ovulación, el estro se denomina como aquel momento donde la hembra esta receptiva al macho, este tiene una duración variable según las razas donde se dice que el promedio de duración en hembras *Bos indicus* es de 5 horas y *Bos Taurus* es de 18 horas.

La fase lútea está dividida por el maestro y el diestro, el metaestro es considerado como la etapa en donde la hembra ya no está receptiva al macho, ocurre la ovulación y culmina con un cuerpo hemorrágico. El diestro es la fase donde se forma por completo el cuerpo lúteo y la producción de progesterona por parte de este, tiene como duración de 12 a 14 días. (Weisbach, 1999)

Las hormonas son las encargadas de controlar el ciclo estral de la vaca, estas lo hacen desde el sistema nervioso controlando las gónadas, este está compuesto por 3 órganos, hipotálamo, hipófisis y gónadas a lo que se denomina el eje hipotálamo-hipófisis-gónada. El hipotálamo se encarga de la hormona liberadora de gonadotropinas(GnRH) la cual tendrá un efecto sobre la hipófisis para liberar las hormonas foliculoestimulante (FSH) y luteinizante (LH). La FSH es la encargada de estimular los folículos y así favorecer su crecimiento y la producción de estrógenos por parte de estos, mientras la LH es la encargada de la maduración y ovulación de los folículos, esta se caracteriza por un pico significativo en sus concentraciones y un descenso rápido puesto que su vida media es de tan solo 15-40 minutos (imagen1) y de

esta manera de 24 a 32 horas(28 h en promedio) ocurre la ovulación y la luteinización de las células que conforman el folículo transformándolas de productoras de estrógenos a productoras de progesterona (Weisbach, 1999)

Las hormonas principales producidas en el ovario, son los estrógenos y la progesterona; los estrógenos producidos por las células de la teca ubicadas en los folículos, son una hormona esteroidea la cual tiene efectos físicos sobre varios órganos de la vaca siendo el más importante el aparato reproductor el cual se prepara para el coito y el sistema nervioso cambiando el comportamiento de la hembra por competo, además de ser una hormona catalizadora puesto que es la encargada de la movilización de reservas glucosa. La progesterona es producida por las células del cuerpo lúteo, llevando a niveles superiores a 1ng/ml. (Weisbach, 1999)

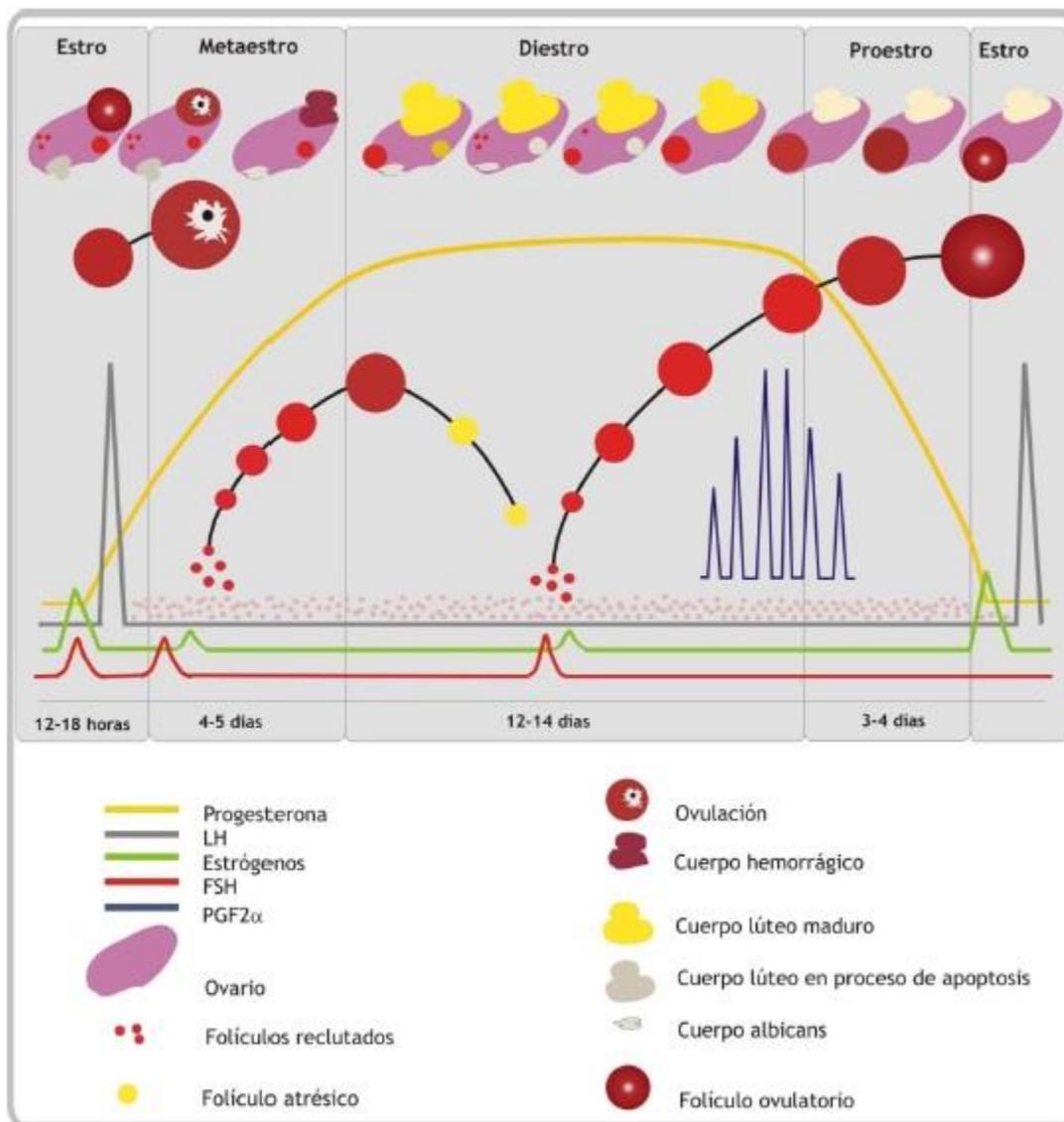
La función ovárica dentro del ciclo estral está caracterizada por ondas foliculares en las cuales se reclutan, se seleccionan y hay un proceso de dominancia de un gran número de folículos para que puedan llegar a la ovulación en aquel momento donde no hay cuerpo lúteo, en el caso de las hembra bovinas solo uno llega a la ovulación a menos de que sea interferido con hormonas exógenas. Se dice que las hembras bovinas pueden tener de 2 a 4 ondas foliculares dentro del ciclo cada una toma 5 días para su crecimiento y atresia u ovulación final. (Sanín, 2014)

Las primeras ondas foliculares llevan a la atresia gracias a la presencia de un cuerpo lúteo producto de la ovulación pasada puesto que los folículos luego de la ovulación sufren un proceso de luteinización en donde cambian la producción de estrógenos por la producción de progesterona. En el caso de que no se encuentre un

cuerpo lúteo el folículo crecerá bajo la estimulación de hormonas hipofisarias tales como FSH y LH esta última de mayor importancia en la última fase de crecimiento del folículo y en el proceso de ovulación.(imagen 1) (Sanín, 2014)

Es importante resaltar el proceso denominado luteolisis, aquel donde el cuerpo lúteo pierde su funcionalidad y termina por desaparecer, ya que este es crucial para la ovulación tanto natural como inducida. Este proceso está mediado principalmente por la prostaglandina $f2\alpha$, la cual se produce en el endometrio estimulada por el efecto de la oxitocina, producida por el mismo cuerpo lúteo. Estas dos hormonas poseen una interacción de tipo feedback positivo para de esta manera concluir con el proceso de luteolisis atacando principalmente la irrigación del cuerpo lúteo haciendo que este pierda su funcionalidad primero y luego su parte estructural. (E.S.E Hafez, 2000)

IMAGEN 1



Tomada de: <https://tecinsarbovinos.files.wordpress.com/2011/11/sin-tc3adtulo.jpg>

Farmacología

Las técnicas farmacológicas que se utilizan para lograr la superovulación en las vacas deben de estar apoyadas en un buen régimen, nutricional y social, y una inseminación a tiempo y con un semen de calidad, sin embargo es posible que factores

internos como son la raza, el estado fisiológico, el número de partos, estado de lactancia y estado sanitario disminuya el número de vacas que presenten una respuesta positiva al protocolo de superovulación que se utilice, además este puede variar de raza a raza o entre individuos. (Jimenez, 2009).

Las principales hormonas utilizadas en la superovulación en bovinos son, estricto de gonadotropinas porcinas (FSH) o gonadotropina coriónica equina (eCG) .la eCG se obtiene de la sangre de yeguas preñadas entre los 40 y los 120 días, es producida por los cálices endometriales de estas, en la vaca esta posee una vida media de 40 horas, pero se encuentra en circulación hasta por 10 días afectando la producción y calidad de los embriones por lo tanto debe ser acompañada por una dosis de anticuerpos para eCG al tiempo de la primera inseminación (12-18 horas luego del celo), se recomienda utilizarla de 1500UI a 3000UI por vaca en una única inyección intramuscular. (M.Hooper, 2015).

La FSH obtenida de pituitaria de cerdos es la otra opción utilizada esta posee una vida media de 5 horas en la hembra bovina por lo cual requiere dos dosis diarias intramusculares por 4 o 5 días y así mantener los niveles necesarios en el organismo de la vaca. Se recomiendan dosis descendientes para completar una dosis total de 28-50 mg o 260-400 mg cuando se utilizan extractos de purificados parcialmente. (M.Hooper, 2015)

El uso de protocolos de sincronización e inseminación artificial a tiempo fijo han permitido optimizar el tiempo evitando la detección de celo y la espera de 8-12 días para

iniciar el tratamiento, este se popularizo ya que permite lavar más de una vaca en un día (hasler, 2014).

La sincronización de la honda folicular se realiza al introducir un dispositivo vaginal de progesterona y así evitar la ovulación de los folículos sumado a una dosis de 2.5 ml de benzoato de estradiol, el cual tiene un feedback negativo con la hormona FSH lo que causa la regresión de los folículos, este es considerado como el día 0. Al día 4 en la mañana debe iniciarse el tratamiento con FSH dos veces al día, al día 6 se inicia el tratamiento con PG2 α repitiéndose a las 12 horas y retirándose el dispositivo intravaginal de progesterona, el celo debe ocurrir el día 8, 48 horas después de la primera inyección de PG2 α o puede reforzar el protocolo sumando una dosis de benzoato de estradiol 12 horas después de retirar el dispositivo intravaginal. La inseminación se realiza a las 12 y 24 horas después de la aplicación del benzoato de estradiol. (M.Hooper, 2015)

Técnicas no farmacológicas

En algunos países como U.S.A o Nueva Zelanda se ha prohibido el uso de productos como el benzoato por lo tanto se ha implementado una nueva técnica para sincronizar las hondas foliculares consta en aspirar todos los folículos mayores a 5mm presentes en la vaca y de esta manera surgirá una nueva honda folicular en la vaca en 1.5 días sin embargo esta técnica ha presentado el inconveniente de tener que contar con un equipo especializado de ultrasonografía y punción folicular el cual posee un alto costo lo que lo ha limitado a centrales genéticas. (Bó & Guerrero, 2009)

Lavado y clasificación

La recuperación de los embriones debe realizarse por medio de un lavado uterino a los 7 días después de la primera inseminación, esta debe realizar un operario calificado y de la manera más aséptica posible. Para esta es necesario aplicar de 3-5 ml de lidocaína epidural en la vaca buscando la relajación del útero y del cérvix (McDonald's, 2003). Se debe introducir una sonda Foley hasta la curvatura mayor del cuerno donde se inflara el balón para fijarla allí, se debe utilizar un estilete para llegar a lo más profundo, luego utilizando un sistema de conducción se introduce un medio especial el cual debe llevar surfactante y antibióticos permitiendo la supervivencia de los embriones, el antibiótico más común es gentamicina, este medio debe entrar con presión moderada por eso se recomienda ubicar la bolsa de fluidos 1 metro sobre la vaca. El operario debe complementar la entrada del medio con un masaje uterino y así garantizar la recolección de los embriones. Se extrae el fluido y se debe pasar por un filtro de 70-75 micras donde quedaran los embriones para luego buscarlos en el laboratorio con la ayuda de un estereoscopio. Se repite el procedimiento en los dos cuernos del útero y al finalizar se le aplica una dosis de $PG2\alpha$ a la vaca para garantizar que esta vuelva a ciclar normalmente. (M.Hooper, 2015)

La clasificación de los embriones se realiza en el laboratorio donde se clasificaran según su edad o estado y según su calidad. Según el estado se les dará un número donde 4 es estado de mórula, 5 blasto temprano, 6 blasto y 7 blasto expandido, y la calidad se representara de 1 a 4 donde 1 será excelente y 4 es un embrión malo no viable, además se identifican como UFOS aquellas estructuras no fecundadas. (Gorlach, 1999)

Materiales y métodos

Animales

Se seleccionan 31 vacas de la raza Akaushi *Bos Taurus*, ubicadas en el municipio de Zipaquirá, Cundinamarca en las instalaciones de CGR Biotecnología reproductiva S.A.S por medio de palpación rectal para confirmar que no se encuentren en anestro, todas las vacas se encuentran en potrero, con pasto *Pennisetum Clandestinum*, suplementado con 1 kg diario de concentrado balanceado, 4 kg de silo de maíz y enlaje comercial a voluntad. Todas las vacas se encuentran en una condición corporal de 2.8 sobre 5 hasta 3.9 sobre 5. Todas las vacas involucradas en el protocolo llevan de 6 a 8 meses lactando, por lo que se decide retrasar el destete y evitar el estrés de las vacas. Además todas las hembras nacieron y permanecieron hasta los 24 meses en Texas, U.S.A para ingresar al país (Colombia) 9 meses atrás, todas se encuentran en perfectas condiciones sanitarias y con su plan vacunal al día

Estas se dividen en 3 grupos a criterio del médico veterinario encargado donde se distribuyen en dos grupos de 10 y un grupo de 11 vacas, iniciando el protocolo de superovulación de un grupo por día por 3 días consecutivos. Este protocolo está a cargo de un operario calificado y 4 Practicantes de medicina veterinaria.

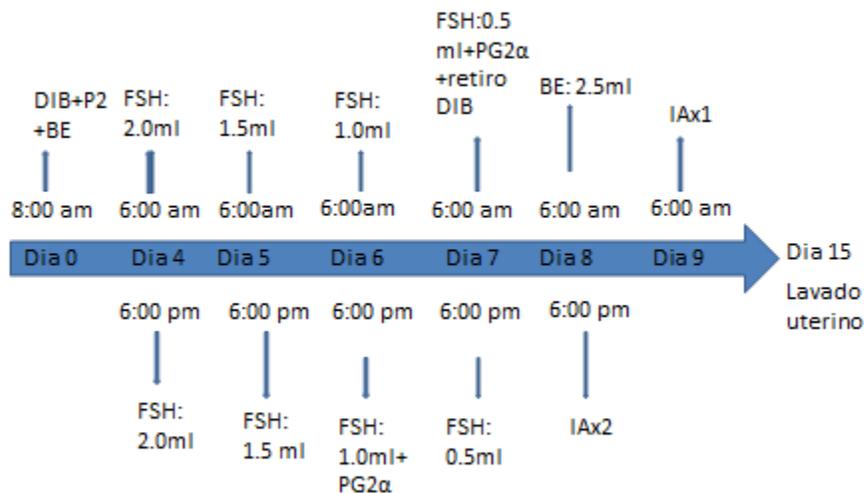
Protocolo

Tabla 1

	HORA	ACTIVIDAD
0	8:00 a. m.	DIB+progesterona 2ml IM+Benzoato de estradiol 2.5 ml
4	6:00 a. m.	FSH: 2.0ml IM
4	6:00 p. m.	FSH: 2.0ml IM
5	6:00 a. m.	FSH:1.5ml IM
5	6:00 p. m.	FSH:1.5ml IM
6	6:00 a. m.	FSH:1.0ml IM
6	6:00 p. m.	FSH:1.0ml IM+PG2 α 2ml IM
7	6:00 a. m.	FSH:0.5ml IM+PG2 α 2ml IM+ retiro de DIB
7	6:00 p. m.	FSH:0.5mlIM
8	6:00 a. m.	Benzoato de estradiol 2.5ml IM
8	6:00 p. m.	IATF 2 PAJILLAS
9	6:00 a. m.	IATF 1 PAJILLAS
15	6:00 a. m.	LAVADO UTERINO

(Ciro Moraes Barros, 2006) (Ando Takaaki, 2004)

IMAGEN 2



i

El protocolo se realiza con productos del laboratorio Syntex® y FSH de marca Pluset® con una dosis total de 250 mg, en la Central de Biotecnología reproductiva CGR biotecnología reproductiva S.A.S ubicada en el municipio de Zipaquirá, Cundinamarca. Protocolo que se utilizo es una variación del p-36 donde se cambia el uso de LH por Benzoato de estradiol(BE). (Ciro Moraes Barros, 2006)

Lavado y clasificación

El lavado uterino es realizado al día 15 por dos médicos veterinarios con alta experiencia en este procedimiento, para este se utilizan:

Sondas Foley 16"

Sistema de conducción Minitube Y tubing Emguard

Filtros para lavado Minitube Emguard

Medio Complet Flush®

La clasificación de los embriones se realiza inmediatamente por uno de los médicos veterinarios con más de 15 años de experiencia. Estos embriones tienen como destino transferencia en fresco (30) y el resto serán congelados.

Semen

El semen utilizado para el lavado fue seleccionado por un Médico Veterinario a su criterio escogiendo 4 toros diferentes para las 31 vacas, a su criterio se decidió que semen para cada vaca. 2 de los toros fueron importados de U.S.A, n pajillas de 0.25, los otros dos toros son toros que se encuentran en CGR biotecnología reproductiva S.A.S. todos los lotes deben pasar por la prueba de calidad de la misma central donde se realiza una revisión a las 0Hs postdescongelacion en agua caliente a 37°C y se debe encontrar como mínimo el 50% de los espermatozoides vivos y otra revisión a 2Hs postdescongelacion manteniendo la pajilla 37°C, donde se debe encontrar al menos el 25% de los espermatozoides vivos motiles progresivos y así garantizar un numero de 12 millones de espermatozoides vivos motiles progresivos en cada pajilla.

Resultados

Todas las vacas presentaron celo el cual se detectó por inspección visual a mañana y tarde por los operarios 24 horas después del retiro del DIB y 12 horas antes de la inseminación artificial con dos pajillas

El protocolo de superovulación realizado tuvo como resultado final luego de los tres días de recuperación de embriones, la recuperación de 143 estructuras totales divididos en:

- 102 embriones viables, 3,29 en promedio por vaca
- 24 embriones degenerados, en promedio 0,77 por vaca
- 17 UFOS o estructuras no fertilizadas, en promedio 0,5 por vaca

Donde estos resultados equivalen a un promedio de 4.6 estructuras por vaca y 3,2 embriones transferibles por vaca. (tabla 2)

Los resultados obtenidos en cuanto a la clasificación de los embriones encontramos que en el estado y calidad 4-1 respectivamente fueron cincuenta y cinco embriones,4-2 treinta y cinco embriones,4-3 se obtuvo un solo embrión,5-1 dieciséis embriones fueron recuperados,5-2 solo dos embriones al igual que 6-1.

Tabla 2

LOTE 1										
#VACA	# DE VACAS:10	PRIMER DIA DE LAVADO			4-1	4-2	4-3	5-1	5-2	6-1
	TOTAL ESTRUCTURAS	DEGENERADOS	UFOS							
1	0									
2	2	1	1							
3	4		1	2				1		
4	6		4	2						
5	6		4	2						
6	2	1	1							
7	7		1	6						
8	9	4	1	3						
9	9		3	4	1	1				
10	2		2							
TOTAL	47	6	8	TOTAL TRANSFERIBLES			33			
LOTE 2										
#VACA	# DE VACAS:11	SEGUNDO DIA DE LAVADO			4-1	4-2	4-3	5-1	5-2	6-1
	TOTAL ESTRUCTURAS	DEGENERADOS	UFOS							
11	11	3	2	4			2			
12	1	1								
13	8	1	1	4			2			
14	2	1	1							
15	2	1	1							
16	4	2	1						1	
17	6		4	2						
18	2		1	1						
19	9	3		3			2	1		
20	0									
21	4		4							
TOTAL	38	12	5	TOTAL TRANSFERIBLES			21			
LOTE 3										
#VACA	# DE VACAS:10	TERCER DIA DE LAVADO			4-1	4-2	4-3	5-1	5-2	6-1
	TOTAL ESTRUCTURAS	DEGENERADOS	UFOS							
22	7	2	2	3						
23	5		1	2						
24	9		2				7			
25	1	1								
26	4		2				2			
27	7		7							
28	9		7	2						
29	9	3	4	2						
30	2		1						1	
31	5		3	2						
TOTAL	58	6	4	TOTAL TRANSFERIBLES			48			
# EMBRIONES	# VACAS	%								
0	2	6.45								
1	2	6.45%								
2	7	22.5%								
3 O +	20	64.5%								
PROMEDIO DE EMBRIONES TRANSFERIBLES POR VACA				PROMEDIO ESTRUCTURAS						
3,2				4,6						

Discusión

Los protocolos de superovulación y transferencia de embriones permiten aumentar considerablemente la descendencia de una hembra en especial en especies como los bovinos puesto que estas son hembras de una sola ovulación. En 2015 se realizaron 100739 lavados uterinos en todo el mundo dando como resultado la recolección de 918.264 embriones de los cuales se transfirieron 660.221, siendo Norte América el mayor productor de embriones con el 50% del total mundial de embriones colectados. (Perry, 2016)

Durante el protocolo de superovulación se encuentra que las 31 vacas presentan signos del celo tales como montar a las demás o ser montadas, secreción bulbar y son identificadas por inspección visual de los operarios, esto coincide con lo encontrado en otros protocolos reportados como el caso de 36 novillas *Bos indicus* en Tailandia donde todas fueron sincronizadas antes de su primer parto y presentaron signos de celo en su totalidad, sin embargo este puede ser una interpretación sesgada puesto que en los dos protocolos anteriores se maneja un número reducido de hembras jóvenes en contraste a lo que encontramos en la sincronización de 142 hembras multíparas en Japón donde 141 vacas presentaron celo y una no lo hizo. (Vibuntia Chankitisakul, 2017)

Como resultado de la recolección de embriones por la técnica de lavado uterino 7 días después encontramos que se obtuvo un promedio de 3,2 embriones por vaca lo cual es un nivel inferior al promedio reportado por el International Embryo Thecnology Transfer, ya qu estos reportan un numero de 5,56 embriones transferibles el cual es el

73% superior al obtenido en este trabajo, y es mucho más bajo si comparamos con el promedio de embriones transferibles de norte américa lugar de origen de las 31 vacas en el protocolo puesto que el promedio de esta región se encuentra en 6.72 embriones transferibles por lavado uterino. (Perry, 2016). Sin embargo el promedio obtenido en este caso no posee gran diferencia con el encontrado en vacas Nelores sometidas a una dieta del 170% de materia seca donde se obtuvo un promedio de 3,8 embriones transferibles, el cual es bajo a comparación de novillas Nelores con una dieta del 70% de materia seca en las cuales se obtuvo un promedio de 5,3 embriones transferibles. Aunque no se puede afirmar que la dieta de las 31 vacas de este trabajo influenciaría los resultados de superovulación si se puede concluir que la nutrición es un aspecto importante el cual se debe tener en cuenta al momento de realizar protocolos de este tipo. (Marcos R Mollo, 2017)

Se encuentra que el promedio de UFOS fue de 0,5 por vaca y 0,77 en embriones degenerados lo cual se puede considerar favorable a comparación de otro estudio realizado en novillas Holstein y Ayrshire donde se obtuvo un promedio de 2.9 y 2.0 respectivamente, utilizando el producto de FSH Pluset® lo cual es alto a comparación de los resultados obtenidos en este trabajo, sin embargo es importante resaltar que tal y como el número de UFOS y degenerados es mayor también lo es el número de estructuras recuperadas por lavado llegando a 11.6, sin embargo este se contradice con lo reportado por Jiménez quien reporta en varios artículos que hembras lactantes poseen un numero de 0,9 UFOS y 0,4 embriones degenerados un número más cerca de lo encontrado en el trabajo presente. Al referirse a la clasificación de los embriones

encontramos que la mayoría de los embriones obtenidos se encontraban en la categoría de 4-1 con un número de 55 embriones comparado con el artículo mencionado anteriormente se encuentran coincidencias en la calidad de los embriones obtenidos utilizando Pluset® obteniendo un promedio de 1.30 ± 0.44 , sin embargo se encontraron desiguales el estadio en el cual se recuperaron los embriones pues en este artículo se encuentra el promedio en 5.25 ± 0.76 . (M Mikkola, 2016)

El momento de la inseminación realizado a 12 horas con dos pajillas y a las 24 horas se sustenta debido a que los protocolos con una sola inseminación presentan mayor tasa a las 12 horas (Jimenez, 2009)

El protocolo utilizado para superovulación con dosis descendientes de FSH nombre comercial Pluset® ha sido utilizado por largo tiempo y con buenos resultados sin embargo se ha reportado un número similar en el número de folículos ovulatorios y en embriones transferibles con una única dosis de FSH recombinante bovina en un medio de liberación lenta (Paulo D Carvalho, 2014), lo cual a nivel comercial reduciría los costos de producción de embriones según los autores puesto que disminuiría el número de dosis y disminuiría el estrés en las vacas por manipulación.

Conclusión

Los protocolos de superovulación son de suma importancia para multiplicar el núcleo genético de alta genética en Colombia sin embargo es importante tener en cuenta factores tales como la nutrición, el manejo y la fisiología, el semen que se utilizara y todos aquellos aspectos que afectan los procesos de superovulación.

Ejercicios como el que se realizó en este trabajo son de suma importancia para retroalimentar las técnicas y los conceptos que se utilizan en cada protocolo.

Bibliografías

- Ando Takaaki, S. K. (2004). Estrus synchronization using an intravaginal progesterone device in combination with GnRH or estradiol benzoate characterized by the initial ovarian conditions in Japanese black cows. *Theriogenology*, 1497-1502.
- Bó, G., & Guerrero, C. (2009). Nuevos tratamientos hormonales para la superovulación de donantes de embriones bovinos. *Sitio argentino de producción animal* (págs. 1-12). Córdoba, Argentina: IRAC.
- Ciro Moraes Barros, A. C. (2006). Superovulação com inseminação artificial em tempo fixo. *Biotecnologia da reprodução em bovinos*, 165-171.
- E.S.E Hafez, B. (2000). *Reproducción e inseminación artificial en animales*. México D.F: Mc Graw Hill Interamericana de editores S.A.
- Gorlach, A. (1999). *Transferencia de embriones del ganado vacuno*. Zaragoza: Acribia SA.
- Hasler, J. F. (2014). Forty years of embryo transfer on cattle: a review focus on the journal *theriogenology*, the growth of the industry in North America, and personal reminiscences. *Theriogenology* 81, 152-169.
- Jimenez, C. (2009). Superovulación: estrategias, factores asociados y predicción de la respuesta superovulatoria en bovinos. *Medicina Veterinaria y zootecnia*, 56: 195-214.
- M Mikkola, J. T. (2016). Embryo yield in dairy cattle after superovulation with Foltropin or pluset. *Theriogenology*.
- M. Hooper, R. (2015). *Bovine Reproduction*. Iowa, US: Golden Aspen Drive.
- Marcos R Mollo, P. L. (2017). Embryo production in heifers with low or high dry matter intake submitted to superovulation. *Theriogenology*, 92:30-35.
- McDonald's. (2003). *Veterinary endocrinology and reproduction*. Iowa: Blackwell Publishing Company.
- Paulo D Carvalho, K. S. (2014). Use of a single injection of long-acting recombinant bovine FSH to superovulate Holstein Heifers: a preliminary study. *Theriogenology*, 1-9.
- Perry, G. (2016). *International Embryo Technology Society*. Recuperado el 23 de Enero de 2018, de International Embryo Technology Society: http://www.iets.org/pdf/comm_data/IETS_Data_Retrieval_2015_V2.pdf
- Sanín, Y. L. (2014). *Reproducción de la vaca*. Medellín, Colombia: Fondo Editorial Remington.
- Vibuntia Chankitisakul, J. P. (2017). Comparison of three superovulation protocols with or without GnRH treatment at the time of artificial insemination on ovarian response and embryo quality in Thai native heifers. *Trop Anim Health Prod*.
- Weisbach, H. S. (1999). *Fisiopatología Reproductiva de la vaca*. Bogotá, Colombia: Librería Médica Celsus.
