

FACTORES QUE AFECTAN LA SUPEROVULACIÓN EN BOVINO

Dr. Facundo Becaluba. 2007. Especialista en Reproducción, Bs. As., Argentina.
www.produccion-animal.com.ar

Volver a: [Trasplante y clonación](#)

1.- INTRODUCCIÓN

El objetivo principal de los tratamientos de superovulación 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. Sin embargo, la respuesta a estos tratamientos es muy variable y difícil de predecir. En un trabajo que incluyó 2048 recolecciones de embriones en donantes bovinas, se obtuvo un promedio de 11,5 ovocitos/embriones y de 6,2 embriones transferibles por vaca (1). Pero lo más importante que se destacó en este trabajo fue la gran variabilidad en la respuesta a la superovulación y en la producción de embriones. El 24% de las recolecciones no produjeron embriones viables, 64% de las donantes produjeron menos embriones transferibles que el número promedio y 30% de las recolecciones produjeron el 70% de los embriones.

En otro estudio que incluyó 987 vacas lecheras, se obtuvo un promedio ligeramente menor de ovocitos/embriones pero la variación entre las respuestas de los distintos animales fue similar (3).

En un estudio retrospectivo que incluyó 1263 donantes, el autor encontró que solamente el 68% de las hembras inducidas a superovular produjeron embriones transferibles. El 32% restante lo integraron: 7% sin estimulación ovárica, 7% sin recolección de ovocitos ni embriones, 17% sin embriones transferibles, 1% donde no se efectuó el lavaje porque presentaron celo antes de administrársele la prostaglandina F2 α durante el tratamiento hormonal.(55)

Estos trabajos muestran la alta variabilidad en la respuesta superovulatoria que crea muchos problemas que afectan tanto la eficiencia como la rentabilidad de los programas de transferencias de embriones.

El objetivo de este trabajo es estudiar los diferentes factores que afectan la respuesta superovulatoria y presentar alternativas o tratamientos por los cuales se pueda controlar dicha variabilidad.

2.- FISIOLÓGÍA REPRODUCTIVA DEL BOVINO

2.1.- CONTROL NEUROENDÓCRINO DEL CICLO ESTRAL

El ciclo estral está regulado por una interacción hormonal regida por el eje hipotálamo-hipófisis-ovario-útero.

El hipotálamo forma la base del cerebro, y sus neuronas producen la hormona liberadora de gonadotropinas o GnRH. La GnRH, en la eminencia media, difunde a los capilares del sistema porta hipofisiario y de aquí a las células de la adenohipófisis en donde su función es estimular la síntesis y secreción de las hormonas hipofisarias, FSH y LH.

La hipófisis está formada por una parte anterior o adenohipófisis y una posterior o neurohipófisis. La adenohipófisis produce varios tipos de hormonas, de las cuales la FSH y LH cumplen un papel relevante en el control neuroendócrino del ciclo estral. La FSH es la responsable del proceso de esteroideogénesis ovárica, crecimiento y maduración folicular, y la LH interviene en el proceso de esteroideogénesis ovárica, ovulación, formación y mantenimiento del cuerpo lúteo. Estas hormonas son secretadas a la circulación en forma de pulsos y son regulados por dos sistemas, el tónico y el cíclico. El sistema tónico produce el nivel basal circulante, siempre presente, de hormonas hipofisarias las cuales promueven el desarrollo de los elementos germinales y endocrinos de las gónadas, el sistema cíclico opera más agudamente, siendo evidente por sólo 12 a 24 h en cada uno de los ciclos reproductivos de la hembra. El modo cíclico tiene por función primaria causar la ovulación.

La neurohipófisis almacena la oxitocina producida en el hipotálamo. Esta hormona tiene varias funciones como son intervenir en el mecanismo del parto, bajada de la leche, transporte espermático e intervendría en el proceso de luteólisis.

Entre las hormonas que producen los ovarios podemos citar a los estrógenos, la progesterona y la inhibina. Los estrógenos, hormonas esteroideas, son producidos por el folículo ovárico y tiene acciones sobre los distintos órganos blanco como son las trompas de Falopio, el útero, la vagina, la vulva y el sistema nervioso central, en el cuál estimulan la conducta de celo y el hipotálamo donde ejercen un "feed back" negativo sobre el centro tónico y positivo sobre el centro cíclico.

La progesterona, hormona esteroidea, es producida por el cuerpo luteo por acción de la LH. Los efectos de la progesterona se observan después que el tejido blanco ha estado expuesto durante cierto tiempo a la estimulación de los estrógenos. Esta preparación por los estrógenos conduce a un efecto sinérgico.

La progesterona prepara el útero para el implante del embrión y para mantener la gestación. A nivel hipotalámico ejerce un efecto negativo sobre el centro tónico.

La inhibina, hormona proteica, es producida por el folículo ovárico (células granulosas) e interviene en el mecanismo de regulación de la secreción de FSH. Ejerce un feed back negativo a nivel hipofisiario, produciendo una menor secreción de FSH.

El útero produce la prostaglandina F2a (PGF2a) la cuál interviene en la regulación endócrina del ciclo estral mediante su efecto luteolítico.

Otras funciones de las prostaglandinas son la de intervenir en los mecanismos de ovulación y de parto. (3)

2.2.- FASES DEL CICLO ESTRAL BOVINO

Se realizará una descripción de los principales acontecimientos del ciclo estral.

El ciclo estral se puede dividir en tres fases:1) Fase folicular o de regresión lútea (proestro), 2) Fase periovulatoria (estro y metaestro) y 3) Fase luteal (diestro)

El día 0 del ciclo estral es el día del celo, signo visible a simple vista, sin embargo desde el punto de vista fisiológico, la descripción se realizará a partir de la destrucción del cuerpo lúteo del ciclo anterior.

2.2.1.- FASE FOLICULAR O DE REGRESIÓN LÚTEA (PROESTRO)

Este periodo, cuya duración es de 3 días, comienza con la regresión del cuerpo lúteo del ciclo anterior y finaliza con la manifestación de celo.

Al producirse la destrucción del cuerpo lúteo tenemos una caída en los niveles de progesterona y posteriormente una pérdida de tejido luteal, siendo la PGF2a de origen uterino el principal agente luteolítico en los animales domésticos y en la mayoría de los roedores. Como consecuencia de la caída de los niveles de progesterona, disminuye el feed back negativo que dicha hormona tenía a nivel hipotalámico y comienza a aumentar la frecuencia pulsátil de las hormonas gonadotróficas (FSH y LH) y se estimula el crecimiento folicular con el desarrollo de un gran folículo y el aumento en los niveles de estradiol.

Cuando los estrógenos alcanzan cierto nivel, se estimula la receptividad al macho y comienza el periodo de celo o estro.

2.2.2.- FASE PERIOVULATORIA (ESTRO-METAESTRO)

Esta fase comienza con la receptividad al macho (se deja montar por vacas y toros), e involucra todos los cambios que permiten la ovulación y el comienzo de la formación del cuerpo lúteo.

Durante el estro, cuya duración es de 18+- 6h, la vaca manifiesta inquietud, ansiedad, brama con frecuencia y pierde el apetito; en el caso de las vacas lecheras, se reduce su producción.

Las vacas presentan descarga de mucus con mínima viscosidad, cuyo olor atrae y excita al toro (presencia de feromonas), edema de vulva y en el útero se produce un aumento del tono miométrico, detectado fácilmente por palpación transrectal.

Durante esta fase, los estrógenos en altas concentraciones alcanzan un umbral de estimulación del centro cíclico hipotalámico, estimulando a las neuronas hipotalámicas a producir el pico de GnRH y en consecuencia el pico de LH. Con respecto a la FSH, disminuye su secreción, consecuencia del feed back negativo estrogénico y de la inhibina, con excepción del momento en que se produce el pico preovulatorio de LH, en que puede aparecer un pico de FSH. Posteriormente, 4 a 12 h después de la onda de LH, se incrementa la concentración basal y la amplitud de los pulsos de FSH, relacionándose esto con la primera onda de crecimiento folicular.

Luego de 12 a 24 h de comenzado el celo, el sistema nervioso de la vaca se torna refractario al estradiol y cesan todas las manifestaciones psíquicas del mismo.

El periodo inmediato a la finalización del celo, es el metaestro (6 días). En este periodo ocurre la ovulación de la vaca, a diferencia de otras especies que lo hacen durante el celo, y comienzan la organización celular y desarrollo del cuerpo lúteo. La ovulación ocurre 28 a 32 horas de iniciado el celo y es desencadenada por el pico preovulatorio de LH. A la ovulación sigue hemorragia profunda y el folículo se llena de sangre convirtiéndose en cuerpo hemorrágico.

En la formación del cuerpo lúteo (luteinización) se producen una serie de cambios morfológicos y bioquímicos que permiten que las células foliculares se transformen en células luteales, cambios que finalizan al séptimo día con un cuerpo lúteo funcional.

2.2.3.- FASE LUTEAL (DIESTRO)

Esta fase se caracteriza por el dominio del cuerpo lúteo. El mantenimiento del cuerpo lúteo, así como la síntesis de progesterona está ligada a la hormona LH que es progesterotrófica y luteotrófica.

Otras hormonas que intervendrían en la síntesis de progesterona, son la FSH y la PGI2 . La FSH se uniría a receptores ubicados en el cuerpo lúteo y provocaría un aumento en la secreción de progesterona. En lo referente a PGI2 además de estimular a las células luteales para producir progesterona, aumentaría el flujo sanguíneo a nivel ovárico con el efecto positivo que esto significa sobre la síntesis y secreción de progesterona.

Si el huevo no es fecundado, el cuerpo lúteo permanece funcional hasta el día 15-20 después del cuál comienza a regresionar en preparación para un nuevo ciclo estral (4).

2.3.- DINÁMICA FOLICULAR BOVINA

Se conoce como dinámica folicular al proceso de crecimiento y regresión de folículos antrales que conducen al desarrollo de un folículo preovulatorio. Entre 1 y 4 ondas de crecimiento y desarrollo folicular ocurren durante un ciclo estral bovino, y el folículo preovulatorio deriva de la última.

Para describir la dinámica folicular bovina es necesario definir conceptos de reclutamiento, selección y dominancia.

2.3.1.- RECLUTAMIENTO

Es el proceso por el cuál una cohorte de folículos comienza a madurar en un medio con un aporte adecuado de gonadotrofinas que le permiten avanzar hacia la ovulación.

2.3.2.- SELECCIÓN

Es el proceso por el cuál un folículo es elegido y evita la atresia con la posibilidad de llegar a la ovulación.

2.3.3. DOMINANCIA

Es el proceso por el cuál el folículo seleccionado domina ejerciendo un efecto inhibitorio sobre el reclutamiento de una nueva cohorte de folículos. Este folículo 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.

La causa por la cuál regresionan el folículo dominante de la primera onda (ciclo de 2 ondas) y los folículos dominantes de la 1ra. y 2da. onda. (ciclos de 3 ondas) sería la presencia de una baja frecuencia de los pulsos de LH debido a los altos niveles de progesterona, que provocarían una menor síntesis de andrógenos y en consecuencia una menor síntesis de estradiol que iniciaría la atresia folicular (5).

3.- TRATAMIENTO TRADICIONAL DE SUPEROVULACIÓN EN BOVINOS

Los programas de superovulación en el ganado bovino son comenzados durante la fase luteal media, preferentemente entre los días 8 y 12 después de observado el celo. Este esquema para superovular vacas donantes derivó de experimentos y pruebas de campo realizados durante la década del 70 en que se concluyó que los tratamientos superestimuladores comenzados en el día 9 o 10 después de detectarse el celo resultaban en una mejor respuesta superovulatoria que aquellos iniciados antes (día 2 a 6) o después (día 12 a 13) ;(6). Esto es debido a que durante el ciclo estral bovino hay 2 o 3 (a veces 4 en Cebú) ondas de desarrollo folicular y en la mayoría de las vacas la segunda onda folicular, comienza en promedio, entre los días 9 y 10 (7 y 8).

El esquema de superovulación se presenta en la tabla 1. Además de la administración de gonadotrofinas de lo cuál hablaremos con detalle más adelante, la donante recibe una dosis luteolítica de prostaglandina a las 48 hs de comenzado el tratamiento superovulatorio, con lo que a las 36 a 48 hs presenta signos de celo. En caso de transferirse embriones frescos (sin congelar) las receptoras deberán ser tratadas con prostaglandina 18 a 24 h antes que las donantes, de manera que el estro se presente de manera sincrónica entre las donantes y las receptoras. Es aconsejable detectar el celo en las receptoras desde las 12 a 24 h después de la administración de prostaglandina y a las donantes desde las 36 h post prostaglandina. Normalmente las vacas donantes entraran en celo a las 36 a 48 h post prostaglandina, pero si no hay signo de celo se realizarán las inseminaciones artificiales (IA) a las 60 y 72 h post prostaglandina.

Las vacas que entran en celo un día mas tarde deben ser reinseminadas pero van a dar respuesta pobre (1 o 2 cuerpos lúteos). Por el contrario, las que expresen celo en el momento esperado o un poco antes van a tener una respuesta aceptable. Por lo general cuando los signos de celo se presentan antes de lo previsto (no mas de 24 hs), las inyecciones se pueden suspender y se realiza la IA a las 12 a 24 h de iniciado el estro.

Hay divergencia en cuanto al número de IA necesarias, muchos profesionales realizan dos IA, a las 12 y 24 h de iniciado el estro y otros utilizan tres IA, a las 0, 12 y 24 h de iniciado el estro.

Cuadro 1: Esquema tradicional de superovulación en bovinos.

Día	Donante	Receptoras
0	Detección de celo	
10	Tratamiento con gonadotrofinas	
11	Tratamiento con gonadotrofinas	PGF2a (mediodía)
12	Tratamiento con gonadotrofinas + PGF2a	
13	Tratamiento con gonadotrofinas	
14	AM: Detección de celos PM: 1ra. IA	AM: Detección de celos
15	AM: 2da. IA	
21	Recolección de embriones	Transferencia

4.- GONADROFINAS UTILIZADAS PARA INDUCIR SUPEROVULACIÓN

Se han utilizado tres tipos de gonadotrofinas diferentes para inducir la superovulación en donantes bovinas: extractos de pituitaria de animales domésticos, gonadotrofina correnca equina, y gonadotrofina menopausica humana.

4.1.- EXTRACTOS DE PITUITARIA

Los extractos de pituitarias son los más utilizados. Estos extractos contienen altas cantidades de FSH y cantidades variables de LH, dependiendo del producto (6). La vida media de la FSH es de 5 h (9) por lo tanto se deben administrar cada 12 h por vía intramuscular. Generalmente los tratamientos consisten en dosis decrecientes o constantes durante 4 a 5 días (10); (11). Se inyecta PGF2a a las 48 h (tratamiento de 4 días) o a las 72 h (tratamiento de 5 días) de iniciado el tratamiento, sin existir cambios significativos en la respuesta superovulatoria.

4.1.1.- FSH-P

Era un extracto de pituitaria de animales domésticos que se encontraba en el mercado hasta hace unos años atrás. Debido a que es un extracto no purificado contenía cantidades muy variables de FSH y LH, con diferencias significativas entre las partidas(6) ;(12) La dosis total a utilizar variaba entre 28 y 50 mg Armour.

4.1.2.- FOLLTROPIN-V

Es un extracto pituitario porcino al que se le ha extraído aproximadamente el 80% de la LH (11). La presentación sería: 1 ampolla con 400mg NIH-FSH-P1.

4.1.3.- PLUSET

Es un extracto pituitario porcino con iguales cantidades de FSH y LH. Dosis total 500 a 750 UI de FSH y LH. Presentación: 2 frascos con 500U.I cada uno= 1000U.I, liofilizado.

4.1.4.- OVAGEN

Es un extracto pituitario ovino purificado con muy poca LH. Cada frasco de 20 ml contiene 17.6 mg NIADDK-oFSH-17 de FSHovina. La dosis total es de 14 a 20 ml y se recomienda administrarlo en 8 dosis constantes cada 12 h.

4.2.- GONADOTROFINA CORIÓNICA EQUINA (ECG)

Es una glicoproteína compleja con actividad FSH y LH. Tiene una vida media aproximada de 40 horas en la vaca y persiste por más de 10 días en la circulación sanguínea (13) y (14). Por esta razón, normalmente se administra en una sola dosis intramuscular seguida por prostaglandina 48 h después. La prolongada vida media de la eCG provoca algunos problemas originados por la permanente estimulación ovárica como folículos que no ovulan, perfiles endócrinos anormales (altos niveles de estrógenos) y embriones de mala calidad (15);(16). Estos problemas se contrarrestan en gran medida con la administración de suero anti-eCG o anticuerpos monoclonales anti-eCG en el momento de la primer inseminación artificial (17); (11). La dosis de eCG recomendada oscila entre 1500 y 3000 UI por animal, usándose generalmente 2500 UI en una inyección intramuscular. Las marcas comerciales mas difundidas son Novormon 5000â y Folligonâ.

4.3.- GONADOTROFINA MENOPAUSICA HUMANA (HMG)

Se utiliza principalmente en humanos y actualmente poco en veterinaria por su alto costo. Esta hormona tiene la misma cantidad de FSH que de LH y los tratamientos consisten en aplicaciones intramuscular cada 12 h en dosis decrecientes por 4 a 5 días (18).

5.- VARIABILIDAD EN LA RESPUESTA A LOS TRATAMIENTOS DE SUPEROVULACIÓN

La variabilidad en la respuesta a los tratamientos de superovulación es muy grande y puede ser atribuida a distintos factores.

Los factores responsables de la variabilidad en la respuesta a los tratamientos superovulatorios pueden ser divididos para su estudio en: relacionados con las gonadotropinas y los protocolos utilizados; ligados al animal como por ejemplo genética, individualidad, aspectos fisiológicos (producción de leche, periodo post-parto, etc.), y ambientales que causan estrés.

5.1.- FACTORES RELACIONADOS CON LAS GONADOTROFINAS Y LOS PROTOCOLOS UTILIZADOS

5.1.1.- PROTOCOLOS UTILIZADOS PARA SINCRONIZAR EL DESARROLLO FOLICULAR

Los progestágenos son compuestos similares a la progesterona que están en el mercado desde hace varios años. Dentro de éstos podemos citar a los progestágenos de administración oral como el acetato de melengestrol (MGA), los implantes subcutáneos de norgestomet y los dispositivos intravaginales con progesterona. Estos dispositivos se utilizan para la sincronización de celos para inseminación artificial y algunos de ellos fueron desarrollados antes que se comenzara a utilizar comercialmente a la PGF2a para la sincronización de celo(19). Debido a que no se contaba con PGF2a como agente luteolítico se utilizaban altas dosis de sales de estrógeno como el valerato de estradiol (EV, 5mg; (20) o una cápsula de benzoato de estradiol(BE, 10 mg ; (21) para inducir la luteólisis en forma indirecta. En la década del 90 con el advenimiento del uso de ultrasonografía para evaluar la dinámica folicular se observó que los estrógenos tenían un efecto importante sobre el desarrollo folicular(22) El uso de estrógenos y progestágenos para controlar el desarrollo folicular se basa en el potente efecto supresor de la combinación de estos esteroides sobre las gonadotropinas. En una serie de experimentos realizados para evaluar su efecto sobre la dinámica folicular se determinó que el tratamiento con progestágenos y el estrógeno natural, 17b-estradiol inducen una supresión de la FSH circulante y consecuentemente la atresia de todos los folículos presentes(22) Esta atresia folicular es seguida por un pico de FSH y el comienzo de una nueva onda folicular 4,3 días después(22) del tratamiento con 17 b-estradiol + P4.

Además, estos trabajos determinaron que para una eficiente sincronización del desarrollo folicular se debe administrar 17b-estradiol un día después de la inserción de los implantes de progestágeno(22), o es aun mas efectivo cuando se administra junto con 50 a 100 mg de progesterona en el mismo momento de la inserción del implante(22); (12)

Otros trabajos evaluaron la respuesta superovulatoria en vacas y vaquillonas tratadas con progestágenos y 17b-estradiol para sincronizar el desarrollo folicular y se concluyó que el tratamiento con progestágenos y 17b-estradiol resulta en una respuesta superovulatoria similar a la de vacas superestimuladas al comienzo de la segunda onda folicular(22). Este protocolo ha sido utilizado por diversos grupos que trabajan con transferencia de embriones(22), se presenta un resumen en la tabla n 4 (22) Los datos corresponden a vacas o vaquillonas de razas carniceras o lecheras, que fueron tratadas con un dispositivo de liberación lenta de progesterona sin conocer el periodo del ciclo estral (denominado arbitrariamente día 0) y 5 mg de 17b-estradiol + 100 mg de P4 también en el día 0. A todas se las trató con folltropín-V a partir del día 4 . Los animales superestimulados de acuerdo al método tradicional recibieron una inyección de PGF2a para sincronizar el celo base y fueron superestimuladas entre los días 8 y 12 después del celo.

Programas de este tipo están siendo utilizando por distintos profesionales y en general la cantidad de embriones transferibles que se obtiene es similar o superior a la de vacas tratadas a los 8 a 12 días de detectado el celo, (23); (22); (24),(25);(12). (26). Como el 17b-estradiol no se encuentra disponible comercialmente también podría utilizarse otras sales de estradiol, como el EV que se encuentra disponible en el mercado asociado a los implantes de norgestomet .

Los tratamientos consisten en la colocación de 1 o 2 implantes subcutáneos en la oreja del animal y la administración i.m. de una solución inyectable oleosa que contiene 3 mg de norgestomet y 5 mg de EV. Se comienza la superovulación a los 5 días de la inserción del implante y la administración del EV + N i.m. (22). Sin embargo cuando se comparo el uso del EV con el de 17b-estradiol se observo que el intervalo tratamiento-onda fue mas variable con el EV (3 a 8 días) que con el 17b-estradiol (3 o 4 días).

TABLA 4.- Respuesta superovulatoria en vacas y vaquillonas de carne y leche superestimuladas en los días 8 y 12 post celo y vacas con dispositivos con progestágenos mas 5 mg de 17b estradiol y 100mg de P4 junto con la inserción de los 2 SMB o el CIDRB(22)

TRATAMIENTO	RAZA DE CARNE			HOLANDO		
	Nº	Embriones totales	Embriones Transferibles	Nº	Embriones totales	Embriones transferibles
TRADICIONAL	1073	12,8	6,6	254	8,9	5,1
P4+17b-ESTRADIOL	307	12,1	6,3	187	10,3	6,0

El EB es otro estrógeno comercial disponible en el mercado y hay varias marcas comerciales en los distintos países. Se realizaron experimentos para evaluar la efectividad de distintas formas de EB sobre el control del desarrollo folicular y superovulación (22);(27)., (28).

Los resultados de estos experimentos demostraron que el EB es el estrógeno que suprime el desarrollo folicular mas efectivamente(28), y la respuesta superovulatoria es mayor(22) cuando es combinado con P4 i.m. en el mismo momento de la inserción del dispositivo con P4. De las formulas comerciales evaluadas las cápsulas intravaginales no fueron efectivas para la sincronización del desarrollo folicular y si lo fueron las soluciones oleosas inyectables (22) La dosis de 2,0 a 2,5 mg de EB combinado con 50 mg de EB administrado por vía i.m. fueron las dosis mas efectivas con un intervalo entre tratamiento y comienzo de la nueva onda folicular de 4,0 días(27) (28). Además con el tratamiento de EB+P4 se obtuvo un número similar de embriones transferibles que con el tratamiento de 17b-estradiol+P4(27).

El resultado de la utilización del protocolo EB + P4 fue satisfactorio tanto en vacas Bos taurus como Bos indicus (29);(30). El esquema del tratamiento de superovulación utilizando dispositivos con P4, EB + P4 y FSH se encuentra esquematizado en la tabla N° 5.

Tabla N° 5.- Tratamiento de superovulación con dispositivos con P4 + (EB + P4).
Dosis de EB y P4 : vacas Holstein 2,5 mg EB y 100mg P4; vacas de carne 2,5 mg de EB y 50 mg P4; vaquillonas 2,0 mg EB y 50 mg P4.

TRATAMIENTO		
Día 0	Am	Inserción del dispositivo con P4 + (EB+P4i)
Día 4	Am-pm	FSH im
Día 5	Am-pm	FSH im
Día 6	Am Pm	FSH im + PGF2a im FSH im + retirar dispositivo con P4
Día 7	Am Pm	FSH im FSH im + observar celo
Día 8	Am Pm	Si hubo celo en el día 7 pm IA, si no hubo celo observar IA
Día 9	Am	IA
Día 15	Am	Colección de embriones

La ablación folicular es otro método eficaz para la sincronización del desarrollo folicular utilizando ultrasonografía transvaginal., la aspiración de todos los folículos >5mm presentes en el ovario resultan en un aumento significativo de la FSH circulante y el reclutamiento de una nueva onda folicular 1,5 días después(38)

Sobre la base de estos resultados se diseñaron experimentos para comparar la respuesta superovulatoria de vaquillonas superestimuladas con FSH un día después de la aspiración folicular con la de la vaquillona superestimulada siguiendo el esquema tradicional, comenzando entre los días 8 y 12 después del celo(38). En las vaquillonas del grupo ablación, que se encontraban en distintos estadios del ciclo estral, se aspiraron todos los folículos > a 5mm presentes en el ovario y en el mismo momento se coloco un implante de norgestomet sin la porción inyectable para controlar la fase luteal. Las vaquillonas de este grupo fueron superestimuladas en el día 1 luego de la ablación. Si bien no hubo diferencias significativas entre los grupos en el número de **embriones** transferibles las respuestas de las vaquillonas en el grupo ablación fueron significativamente menos variables que las del grupo control. Se debe recordar además que la ablación folicular fue realizada en cualquier momento del ciclo, por lo tanto no es necesario sincronizar y observar el celo de las donantes antes de empezar un programa de superovulación.

La aspiración folicular también fue utilizada en otros programas de superovulación realizado durante la fase luteal media. La aspiración de todos los folículos presentes(39) o solamente folículo dominante(23);(41);(39),(40)

dos días antes de comenzar la superestimulación resulto en una respuesta significativamente mayor que la de vacas superestimuladas en el mismo período del ciclo estral, pero con la presencia del folículo dominante. Debido a que en estos casos se realizó la aspiración en la fase luteal media (día 6 a 9) no había necesidad de insertar un dispositivo con progesterona para controlar la fase luteal. En un trabajo más reciente se comprobó que la aspiración de los 2 mayores folículos presentes en el momento de la aspiración junto con la aplicación de un dispositivo de progesterona, en vaquillonas ciclando, (sin conocer el estadio del ciclo en que se encontraban), resultó en una respuesta superovulatoria equivalente a la aspiración de todos los folículos mayores a 5 mm presentes en el ovario, demostrando de esta manera que aspirando solo los folículos grandes no habría necesidad de determinar cuál es el folículo dominante(42) El tratamiento de superovulación después de la ablación folicular esta indicado en la tabla N° 3.

TABLA N° 3.- Tratamiento superovulatorio en bovinos después de la ablación folicular.

TRATAMIENTO		
Día 0	am	Ablación folicular + inserción de dispositivo con progesterona.
Día 2	Am-pm	FSH im
Día 3	Am-pm	FSH im
Día 4	Am pm	FSH im + PGF2a im FSH im + retirar el dispositivo con P4
Día 5	Am pm	FSH im FSH im y observar celo
Día 6	Am pm	Si hubo celo en el día 5 pm IA, si no hubo celo, observar IA
Día 7	am	IA
Día 13	am	Colección de embriones

5.1.2.- RELACIÓN FSH-LH

A pesar que la foliculogénesis requiere de FSH y LH los extractos pituitarios contienen diferentes proporciones de FSH y LH que van a afectar la respuesta superovulatoria(12)., También existe variabilidad en la actividad tipo FSH y LH en la eCG, no solo entre yeguas preñadas, sino también entre sueros obtenidos de la misma yegua en diferentes momentos de la preñez(13;14). Ese es otro factor a considerar con la eCG, recomendándose solicitar a los laboratorios productores la titulación de los niveles FSH y LH de las mismas.

Dentro de los extractos pituitarios, los que tienen poca LH producirían una mejor respuesta superovulatoria en el bovino. Chupin et al. superestimularon tres grupos de vacas lecheras con cantidades equivalentes de FSH porcina pura, variando la cantidad de LH, y observaron que el número de embriones recuperados y transferibles se incrementaba en relación con la disminución en la cantidad de LH. Se han realizado experimentos en ganado Bos Taurus de carne y en ganado cruce Bos Indicus para evaluar la eficiencia de los productos purificados (con poca LH). En el primer experimento (34) se utilizaron vacas de carne Bos taurus (Simmental, Angus y Hereford) que fueron separadas al azar, en 4 grupos para recibir un extracto de pituitaria conteniendo 400 mg NIH-FSH-P1 de FSH y distintas cantidades de LH.

Los animales en el grupo 1 (100% LH) fueron tratados con un extracto de pituitaria sin modificación, los del grupo 2 recibieron un extracto al que se le extrajo el 68% de LH (32%LH), los del grupo 3 recibieron un extracto con el 84% de LH extraída (16% LH) y los del grupo 4 recibieron un extracto con el 98% de la LH extraída (2% LH). Los resultados de la tabla N° 2 demuestran como las respuestas (cuerpos luteos y embriones) se dividen claramente entre los animales tratados con altas cantidades de LH (100% y 32%) y los tratados con bajas cantidades de LH (16% y 2%).

TABLA N° 2.- Respuesta superovulatoria de vacas de carne tratadas con extractos de pituitaria conteniendo 400mg NIH-FSH-P1 de FSH y diferentes cantidades de LH (34)

			OVOCITOS/EMBRIONES		
GRUPO	N°	CL	TOTALES	FERTILIZADOS	TRANSFERIBLES
1- 100%LH	21	10,2	7,3	5,3	4,0
2- 32%LH	20	11,1	6,4	4,6	3,9
3- 16%LH	20	15,6	13,6	9,7	7,7
4- 2%LH	20	17,2	13,2	8,3	5,5

En este experimento también se demostró que un extracto pituitario porcino sin purificar, induce una respuesta superestimuladora significativamente menor a la inducida por extractos a los que se les ha extraído el 84 al 98% de LH. Por ello se concluyó que la contaminación con LH puede afectar la respuesta superovulatoria en vacas de carne siendo el máximo nivel de LH aceptable entre el 15 y 20 %. Luego se realizó otro experimento en vaquillonas Brahman (35) y los resultados confirmaron que los extractos más purificados resultan en una mejor respuesta superovulatoria también en el Bos indicus.

Generalmente se piensa que cierta cantidad de LH es necesaria para lograr superovulación. No obstante se ha sugerido que, debido a una prematura activación del ovocito previo a la ovulación (16), los niveles de LH elevados durante la superestimulación afectan la calidad de los embriones. Otros trabajos han logrado inducir una muy alta respuesta con FSH bovina de recombinación, con un porcentaje de fertilización superior al 95 % y de embriones viables de más del 85 % (1), (20). Con estos resultados podría interpretarse que la administración de LH en cualquier dosis, tiene un efecto negativo sobre la calidad de los embriones. Lamentablemente la FSH recombinante no está más en el mercado veterinario y la FSH recombinante de uso humano es de muy alto costo para ser utilizada en veterinaria.

En resumen, las diferencias en las respuestas superovulatorias de las donantes son difíciles de explicar y la variabilidad individual es uno de los factores más importantes. Sin embargo, las preparaciones gonadotróficas con altos niveles de contaminación con LH tuvieron efectos adversos sobre la calidad de los embriones. Esto fue también corroborado en otros estudios donde se evaluaron distintas dosis de preparados comerciales. Las preparaciones con más cantidad de LH tuvieron efectos altamente adversos sobre la calidad de los embriones cuando se duplicaron las dosis recomendadas por los fabricantes (12). Por el contrario los extractos pituitarios purificados, o sea aquellos a los que se les ha extraído la LH, tienen un rango mucho más amplio de dosis óptima y al incrementar la dosis esta no afecta la calidad de los embriones.

5.1.3.- EXTRACTOS DE PITUITARIA VS GCE

Existen divergencias entre distintos grupos de investigadores acerca de la efectividad de los extractos pituitarios versus la eCG para inducir superovulación en bovinos. Algunos autores informaron sobre mayores respuestas superovulatorias y número de embriones colectados en los tratamientos con FSH-P que con eCG (31) (32) pero otros (33) (12) no han observado diferencias entre ambas hormonas. Esta similitud entre la respuesta a eCG y la de los extractos pituitarios se logran con la acción del anticuerpo anti-eCG(17) (11).

5.1.4.- PERGOVET VS FOLLTROPIN

En un trabajo realizado en Argentina, el cuál incluyó 5800 animales, se los superovuló durante 5 días, dos aplicaciones diarias AM -PM con dosis decrecientes de gonadotrofinas asociadas con PGs a las 72 y 96 hs de iniciado el tratamiento superovulatorio. Los tratamientos se iniciaron en plena fase luteal del ciclo entre los días 8 y 13 del ciclo, para aprovechar la segunda o tercer onda de maduración folicular y el efecto luteolítico de la PGs que determina la aparición del celo en el 98% de las donantes entre las 24 y 80 hs posteriores a la primera dosis de PGs, la mayoría entre las 36 y 48 hs.

En la tabla se analizan los resultados obtenidos durante 1992/93. No se obtuvieron diferencias en la producción de embriones con diferentes drogas y dosis empleadas. Sobre 1700 tratamientos (en esos años) se obtuvo una media de 12,03 huevos totales, 4,2 huevos sin fertilizar (35%), 1,9 embriones degenerados(17%) y 5,9 embriones transferibles(48%) y no se obtuvieron embriones en el 14% de los tratamientos.

Resultados obtenidos con Pergovet 500 (Serono Veterinary) y Folltropin-V (Vetrepharm) en vacas y vaquillonas Bos taurus y sintéticas.

Hormona	Ts N°	Huevos totales	Promedio por transferencia	Embriones	%	Promedio por transf	S/emb	%
PERGOVET	1317	15741	11,9	7698	48,9	5,8	182	13,8
FOLLTROPIN	383	4634	12,3	2285	48,4	5,9	56	14,6

En la siguiente tabla se resumen los resultados en términos de calidad de los embriones, el % sobre el total de embriones y el índice de preñez, obtenidos con diferentes principios gonadotrofos y dosificación. No se encontraron diferencias en ninguno de los parámetros utilizados

Análisis de la distribución de la calidad de embriones y el efecto sobre el índice de preñez en donantes superovuladas con Pergovet 500 y Folltropin-V.

Hormona	Calidad 1			Calidad 2			Calidad 3 y 4			TOTAL %P
	N°	%E	%P	N°	%E	%P	N°	%E	%P	
PERGOVET	3907	56,3	72,5	2032	29,3	63,3	991	14,2	57,2	67,5
FOLLTROPIN	1280	60,3	67,4	616	29	67,6	226	10,6	59,3	66,6
TOTAL	5187	57,2	71,3	2648	29	64,4	1217	13,4	57,6	67,3

5.1.5.- INDUCCIÓN DE LA OVULACIÓN:(GNRH-LH-GMH)

La utilización de hormonas para inducir la ovulación en vacas superovuladas ha sido un recurrente tema de discusión entre los veterinarios. En las vacas superovuladas, el intervalo entre la administración de prostaglandina hasta el pico de LH varía en un rango de 38 a 42 hs(36). Se ha observado que los perfiles anormales de LH en suero (incluyendo ausencia de un pico de LH, un pico muy bajo, prematuro o demorado) resultan en bajas tasas de ovulación y fertilización (36), (37). Por lo tanto el tratamiento de inducción de la ovulación con GnRH, LH o hCG, estaría indicado para animales con historia de anomalías en la ovulación.

Con respecto a este tema específico, se realizaron recientemente dos experiencias donde se evaluó la respuesta superovulatoria y producción de embriones en vacas Holstein (26).

En el primer trabajo se evaluaron 16 superovulaciones de tres vacas Holando Argentino y dos vacas Jersey con historia de mala respuesta superovulatoria (vaca problema). En general la vaca problema se caracteriza por tener una baja producción y calidad de embriones junto con un alto número de folículos anovulatorios, determinado por palpación rectal en el momento de la colección.

Los tratamientos superovulatorio consistieron en 400 mg NIH-FSH-P1 de folltropín-V en dosis decrecientes durante 4 días. A las 48 hs de comenzado el tratamiento se inyectó prostaglandina. Las vacas fueron inseminadas 12 y 24 hs de comenzado el celo. Todas las vacas fueron superovuladas dos veces o mas y en una de ellas recibieron además LH (25 mg lutropín-v) por vía endovenosa en el momento de la primera inseminación artificial. Los resultados que se muestran en la tabla 3 indican una mejoría sustancial en la producción de embriones cuando se les administro LH a estas vacas problema. En otros dos trabajos se compararon las respuestas superovulatorias de donantes de vacas lecheras normales, que recibieron LH en el momento de la primera inseminación artificial con los de donantes de la misma razas que no recibieron ningún tratamiento suplementario de LH (26). En este caso, si bien el número de embriones transferibles fue aparentemente mayor en las donantes que recibieron LH, las diferencias no fueron significativas. Estos datos demuestran que la adición de LH en el momento de la primera inseminación artificial mejora la respuesta superovulatoria en vacas con problemas manifiestos de ovulación. De todas formas sería necesario realizar más experiencias para determinar si la adición sistémica de LH en programas de superovulación resulta en un número significativamente mayor de embriones transferibles.

Por ende se recomienda solo el uso de GnRH, LH o hCG en animales con historias de anomalías en la ovulación. También se podría eventualmente utilizar en animales sujetos a condiciones de alto estrés, en las que el pico preovulatorio de LH podría estar afectado. Esto sería aplicable a donantes de razas cebuinas o vacas Holstein de alta producción. Por supuesto reconociendo que tal vez se obtendría la misma respuesta si no usáramos un tratamiento de inducción de la ovulación.

Efecto de la administración de LH en el momento de la primera inseminación artificial en vacas de leche calificadas como vacas problema. Todas las vacas fueron superestimuladas con 400 mg de NIH-FSH-P1 de folltropin-V (adaptado de Nigro et al.)(18)

OVOCITOS/embriones				
TRATAMIENTO		TOTALES	FERTILIZADOS	TRANSFERIBLES
Sin LH	9	1,5±0,6	1,2±0,6	1,0±0,4a
Con LH	7	6,6±2,4b	4,7±1,7b	4,1±1,2b

5.1.6.- DIFERENTES PROTOCOLOS DE SUPEROVULACIÓN EN VACAS NELORE

La difusión del ganado cebú en la actividad ganadera representó un gran avance en la bovino cultura brasilera, anteriormente constituida en su mayoría por razas europeas que presentaban poca capacidad de adaptación a las condiciones tropicales. El ganado indico, menos precoz y productivo que el ganado europeo, sufrió un marcado mejoramiento genético en los últimos años principalmente a traves de las biotécnicas como la I A y el transplante embrionario que intensificaron la diseminación de material genético superior en un periodo significativamente inferior al de la monta natural.

La alta variabilidad de respuesta a los tratamientos gonadotróficos a motivado la realización de estudios con la finalidad de formular protocolos con la capacidad de estabilizar y racionalizar los programas de superovulación (43) (44), (45), (46).

En este contexto este trabajo fue conducido con el objetivo de avalar la recuperación embrionaria de dadoras de razas Nelore sometidas a diferentes tratamientos superovulatorios.

Fueron evaluadas 44 superovulaciones de 33 vacas Nelore de 3 a 4 años con un escore corporal de 2,5 a 4 en una escala de 5 puntos. Fueron sometidas a control de 3 ciclos estrales consecutivos y posteriormente distribuidos en 4 grupos de forma aleatoria.

La superovulación fue iniciada entre el 9 y 12 día del ciclo estral (estro=día 0)

Los grupos A (n;15) y B (n;8) fueron administradas respectivamente 60 unidades de NHI-FSH-P(super-ov) y 320 mg NHI-FSH-P (Folltropin-v) vía i.m. divididas en 8 dosis iguales a intervalos de 12 hs durante 4 días consecutivos. El grupo C (n;12), recibió en forma subcutánea 60 unidades de NHI-FSH-P (super-ov) en tres dosis iguales a intervalos de 24 hs y el grupo D(n;9) recibió i.m. 750 UI de hMG (pergovet 500) en dos aplicaciones de 150 UI en el día 1 y 6 aplicaciones de 75 UI en el 2, 3, y 4 día en intervalos de 12 hs. Transcurridas 48 a 60 hs de iniciado el tratamiento, las donadoras recibieron i.m. 500ug de cloprostenol y se inseminaron artificialmente entre las 10 y 20 hs de comenzado el estro.

La colecta de embriones fue realizada 7 días después de la IA a través del método de circuito cerrado (47), utilizando 500 ml de DPBS.

Los datos fueron evaluados en cuanto al número de estructuras totales y vivas por el test "F" y las medidas comparadas por el test de Tukey considerando un nivel de significancia del 5%.

Los resultados de este experimento no evidenciaron diferencias entre los valores de estructuras totales obtenidas en los 4 grupos experimentales. En tanto el número de embriones viables difirió significativamente ($p \leq 0,05$) entre los grupos C y D.

Las mejores respuestas fue producidas por los animales tratados con hMG, lo que concierne que la viabilidad embrionaria no esta relacionado, posiblemente, con la gonadotropina utilizada, pues Allem de Herrera(19....) que trabajaba con vacas Nelore ,(33) (48), también no verificaron diferencias en las respuestas superovulatorias de vacas de raza holandesa tratadas tanto con hMG como con FSH.

A pesar que Chupin y Procureur (1982) tienen relatado que la administración de FSH en intervalos mayores de 12 hs reducen la respuesta superovulatoria, en este trabajo esta ocurrencia no fue registrada pues los grupos A, B, y C no difirieron entre si. Los datos aquí obtenidos son similares a los verificados por Coelho (1988), Molina (1992), Eldesen y Kessler (1993).

Es posible que otros factores que no sean el intervalo o la vía de administración de las gonadotropinas, como la dosis utilizada, tienen mucha influencia en los resultados encontrados porque es conocido el tema de la individualidad del animal.(49), la edad y especialmente el desenvolvimiento folicular al inicio del tratamiento (22) interfieren en la respuesta de los tratamientos de superovulación.

Los resultados permiten el comentario de que la utilización de GCH administrada durante 4 días vía i.m. mostró tendencia a ser mas efectiva para superovulación de hembra Nelore que la hormona FSH.

Es posible concluir que la administración por vía subcutánea de apenas una dosis diaria de hMG proporciona resultados similares a los producidos por la FSH a través de la aplicación de 2 dosis diarias por vía i.m.

Recuento de embriones de vacas Nelore sometidas a diferentes tratamientos superovulatorios con gonadotropina.

			Embriones viables	Embriones viables
GRUPO	SUPEROVULACIONES	TOTAL DE ESTRUCTURAS	PROMEDIO	%
A	15	7,34±4,91	4,47±3,47	60,90
B	8	8,00±3,89	4,87±3,31	60,87
C	12	9,92±6,54	3,42±2,64	34,47
D	9	9,78±4,21	7,56±4,70	77,30

5.1.7.- INICIO DE LOS TRATAMIENTOS

Diferentes trabajos han sugerido que el estadio o viabilidad de los folículos en el momento que los tratamientos son iniciados es una de las causas determinantes de la respuesta superovulatoria de una donante.

Tradicionalmente los tratamientos superestimulatorios comenzados durante los días 8, 9 y 10 del ciclo resultan en una mejor respuesta superovulatoria que aquellos iniciados entre los días 2 y 6. Esto es debido a que en la mayoría de las vacas la segunda onda folicular comienza entre los días 7 y 11 del ciclo. No obstante de acuerdo a la teoría del desarrollo folicular en ondas, seria lógico esperar una mejor respuesta a la superovulación cuando los tratamientos son iniciados al comienzo de su crecimiento. Para comprobar esta hipótesis se diseñaron 2

experimentos. Se comparo la respuesta superovulatoria a tratamientos iniciados el día antes del comienzo de la onda, el día de comienzo de la onda y uno o dos días después.

La respuesta superovulatoria fue mayor cuando los tratamientos se iniciaron el día antes o el día de comienzo de la onda folicular (ya sea de la primera o segunda onda), comparado con los tratamientos iniciados uno o dos días después. También se comprobó que los folículos de la primer onda responden a los tratamientos con gonadotrofinas de la misma manera que los de la segunda onda de desarrollo folicular. Estos resultados indican claramente que los resultados superovulatorios deben iniciarse al comienzo de la onda de desarrollo folicular para obtener la mejor respuesta posible, y confirman los resultados de otros estudios, donde se asoció la presencia del folículo dominante con una disminución en la respuesta superovulatoria. Una alternativa viable para lograr una mejor respuesta superovulatoria sería controlar la dinámica folicular y comenzar los tratamientos en el momento más oportuno.

5.1.8.- VÍA DE ADMINISTRACIÓN Y DOSIS DE LAS GONADOTROFINAS

La vía de administración es otro factor a considerar. Dentro de los protocolos tradicionales de 2 inyecciones diarias hemos observado que la administración i.m. de los extractos de pituitaria resultan en una respuesta superovulatoria significativamente superior que las inyecciones subcutáneas (22). La administración subcutánea de extractos pituitarios produjo niveles circulantes mucho mas bajos de FSH, que se mantuvieron por periodos mas largos de tiempo.

También se ha investigado el uso del extracto pituitario Folltropin-v, en una dosis única para inducción de superovulación en vacas donantes. Una sola inyección de 400 mg NIH-FSH-P1 de Folltropin-v, administrada en forma subcutánea en la zona posterior a la escápala, resultó en una respuesta superovulatoria equivalente a la de un tratamiento tradicional de 2 dosis diarias durante 4 días (22). El éxito del tratamiento con una sola inyección depende de que la absorción de la FSH del sitio de inyección sea paulatina. Por lo tanto el lugar y la vía de administración de la inyección afecta dramáticamente los resultados. Se observó que los tratamientos de una sola dosis por vía i.m. o por vía subcutánea en la tabla del cuello resultan en respuestas menores a la inyección subcutánea detrás de la escápala (22). Este tratamiento no resulto en respuesta satisfactoria cuando se inyectaron dosis menores a 400 mg NIH-FSH-P1 en vacas de carne, probablemente debido a que no se alcanzaron concentraciones de FSH en sangre mayores a 1 ng/ml, necesarios para estimular el crecimiento folicular (50).

Con este tratamiento tampoco se encontraron respuestas aceptables en vacas Holstein (51). De echo, cualquier factor que aumente la absorción de Folltropin-V, como la inyección i.m. o la inyección subcutánea en vacas Holstein, que tienen muy poca grasa subcutánea, resulta en una reducción de la respuesta superovulatoria. La utilización de una inyección única de Folltropin-V es un tratamiento interesante en situaciones donde el esquema de doble dosis diaria puede resultar en un importante estrés para los animales y por tanto en reducción de la respuesta superovulatoria, o en situaciones en que no hay personal entrenado y confiable para realizar los tratamientos superovulatorios. En lo posible, la administración debe ser realizada por personal entrenado para asegurar que se coloque por vía subcutánea detrás de la escápala y utilizando una aguja 12 x 18 o similar, para evitar inyectar por vía i.m.

5.2.- FACTORES LIGADOS AL ANIMAL

Moor et al ,(1984)(16) que tanto la tasa ovulatoria como el número de embriones viables producidos son caracteres relativamente inherentes a cada vaca donante. Los animales que tienen una respuesta baja en un tratamiento, probablemente responderán en forma similar en los tratamientos subsecuentes y los animales que responden bien inicialmente continuarán haciéndolo en esta forma.

Monniaux et al,1983 (32) identificaron 2 tipos de vacas con respuesta pobre a la estimulación con gonadotrofinas exógenos.

El primer tipo de vacas pertenecía a un grupo que tenía entre 50 y 200 folículos en crecimiento (70 mm de diámetro) por ovario, comparado con 600 o más, de vacas con respuesta alta. Este grupo de animales podría no haber tenido la cantidad suficiente de folículos para una respuesta adecuada, por lo que su condición sería inmodificable. Sin embargo, no deben descartarse los intentos para activar mayor número de folículos hacia el estadio antral. El segundo tipo de animales que no respondió, tenía un gran número de folículos, pero al momento de iniciar el tratamiento con gonadotrofina, una gran proporción de ellos ya había iniciado irreversiblemente el proceso de atresia. Las vacas pertenecientes a este ultimo grupo podrían haber respondido bien si las gonadotrofinas hubieran alcanzado a estimular el ovario antes que el folículo dominante comenzara a inducir la atresia de los folículos subordinados. En este grupo de animales sería posible lograr buenas respuestas iniciando los tratamientos al comienzo de una onda folicular, cuándo los folículos dominantes y subordinados estuvieran en la fase de crecimiento.

En conjunto, estos datos indican que existen factores fisiológicos que determinarían esta variabilidad y que en la mayoría de los casos están influenciados por el estadio o viabilidad de los folículos de una onda folicular el día

que se comienzan los tratamientos superestimuladores. Estudios realizados durante los últimos años han demostrado claramente que los tratamientos superovulatorios deben iniciarse al comienzo de una onda de desarrollo folicular, antes de la selección del folículo dominante, para obtener la mejor respuesta posible (66) (65), (30).

La respuesta superovulatoria fue significativamente mayor cuando los tratamientos se iniciaron el día de comienzo de la onda folicular (ya sea de la primera o segunda onda) que los tratamientos iniciados 1 o 2 días después(64); (30).

Como se dijo anteriormente, los tratamientos superovulatorios son comenzados durante los días 9 o 10 (7). No obstante hay una gran variación individual y la segunda onda puede comenzar mas temprano (día 6) o mas tarde (día 12).

5.2.1.- RAZA

La variabilidad individual es un factor siempre presente y no controlable en los tratamientos para inducir superovulación. Debe tenerse en cuenta por ejemplo la raza. De diferentes estudios han surgido por ejemplo que las vacas Holstein requerían una proporción mayor de FSH mientras que las vacas Charolais requerían una proporción mayor de LH para lograr la máxima respuesta superovulatoria. Se ha reportado también que los extractos pituitarios purificados como el Folltropin, han sido mas eficaces que FSH-P cuando se utilizaron en condiciones de estrés por el calor, pero no fueron diferentes en condiciones ambientales con temperaturas moderadas (52). Estos estudios fueron realizados con vacas Holstein en Florida. En cambio, en un estudio realizado en vaquillonas Brahman en Argentina, se obtuvieron efectos opuestos encontró una mejor respuesta en los animales tratados con los preparados menos purificados en verano que en invierno (35). La conclusión fue que las temperaturas de invierno podrían ser estresantes en el Bos Indicus. Por lo tanto, en condiciones de estrés climático las vacas responden mejor a los extractos mas purificados. Cabe aclarar que en este experimento el extracto mas purificado (2% de LH) fue superior al menos purificado (100% LH) tanto en verano como en invierno.

También se han encontrado diferencias en la dosis que se debe utilizar para superovular vacas de diferente razas. Los resultados de trabajos realizados ya hace unos años indicaron que la dosis de 400mg NIH-FSH-P1 de FOLLTROPIN-V era la ideal para vacas Bos taurus (11) En la actualidad ésta dosificación es aparentemente la ideal para vacas Holstein en lactancia, pero resultados de trabajo de campo con animales de carne indican que se puede obtener respuestas satisfactorias con dosis totales de 260 a 320 mg en vacas y de 200 a 260 mg en vaquillonas.

El ganado Bos indicus responde exageradamente a dosis altas de FSH y se han encontrado respuestas satisfactorias con dosis de 133 a 200 mg de folltropin-v en vacas Nelore (30) y dosis de 200 a 260 mg en razas sintéticas como Brangus y Braford. Las mismas tendencias y diferencias raciales se han encontrado utilizando otros preparados comerciales como el Pluset donde se han encontrado respuestas satisfactorias en Bos indicus cuando se redujo la dosis de 500UI a dosis que oscilaron entre 200 y 300 UI (53) (54) Finalmente para Ovagen se recomienda utilizar una dosis total de 18 a 20 ml para vacas Holstein, de 16 a 18 ml para vacas de raza británicas de carne, 12 a 15 ml para vaquillonas Holstein y británicas, 12 a 14 ml para vacas Bos indicus y 10 a 12 ml para vaquillonas Bos indicus.

5.2.2.- EDAD

El efecto que tiene la edad de la donante sobre la respuesta superovulatoria ha sido ampliamente estudiado en el ganado lechero. El numero de embriones transferibles obtenidos por (49) en donantes cuyas edades estaban comprendidas entre 3 y 6 años (55), resulto mayor que el que se logro en vaquillonas y primíparas.

Por su parte, Hanselmann (1995) efectuó un estudio retrospectivo en el que analizo la respuesta superovulatoria de 197 donantes, agrupándolas en tres categorías, hasta 5 años, de 6 a 8 años y mayores de 8 años. El promedio de embriones transferibles fue 5,2. 6. y 3,2 respectivamente.

Lerner y col. (1986) sostienen que existe una interacción entre la edad de la donante y la dosis de gonadotrofina. Según su interpretación cuando animales jóvenes son tratados con dosis elevadas de gonadotrofina se produce una sobreestimulación ovárica donde muchos folículos comienzan a desarrollar pero pocos son capaces de ovular y la mayoría sufre luteinización o se atresian. Los motivos serian un insuficiente aporte sanguíneo a determinados folículos debido a limitantes físicas del ovario para albergar tantos folículos en crecimiento y por otro lado alteraciones endocrinas con excesiva producción de esteroides ováricos que interfieren en el propio desarrollo folicular y la ovulación. En su trabajo observaron además que al aumentar la edad de la donante disminuyeron el número de ovulaciones, la tasa de fecundación y la calidad embrionaria. La disminución en el número de ovulaciones se debería a una menor disponibilidad de folículos capaces de responder a las gonadotrofinas exógenos. Al haber menos folículos en crecimiento, los niveles de inhibina bajarían y habría un aumento de la FSH endógena que haría que en estos animales, en cualquier momento de ciclo estral los folículos

en crecimiento estuvieran en un estado de desarrollo más avanzado que aquellos folículos en animales más jóvenes. Al comenzar el tratamiento con gonadotrofinas, los folículos más maduros serían los primeros en producir grandes cantidades de estrógeno. Por lo tanto, los ovocitos dentro de estos folículos, estarían expuestos a altas concentraciones de estrógeno por largos periodos antes de la ovulación, comparándolos con los ovocitos dentro de los folículos menos desarrollados. Esta exposición a alta concentración de estradiol podría ser la causa de la disminución en la tasa de fertilización y en la calidad embrionaria. El aumento de las tasas de fecundación y de embriones transferibles observados por estos autores cuando incrementaron la dosis de FSHp en los animales viejos, se debería a un aumento en la proporción de folículos relativamente menos maduros que fueron estimulados a desarrollar rápidamente.

Basado en estas observaciones, resulta claro que para lograr un alto número de embriones transferibles, la dosis de gonadotrofina debe ajustarse a la edad de la donante. Manteniendo una dosis de gonadotrofina constante, el número de ovocitos y embriones recolectados debería aumentar con la edad en los animales jóvenes (debido a una disminución en el grado de sobreestimulación ovárica) hasta alcanzar un pico y luego disminuiría con la edad en las vacas más viejas (debido a una menor disponibilidad de folículos en crecimiento.(55)

En razas productoras de carne, se observó que con el transcurrir de los años si bien se mantuvo el número de ovulaciones, la tasa de fecundación y la calidad embrionaria disminuyeron (56). Esto no pudo ser corregido aumentando la dosis de FSHp (16).

5.2.3.- ESTADO NUTRICIONAL

La información disponible sobre el impacto que puede tener la nutrición sobre la respuesta superovulatoria es limitada (67:68). No obstante teniendo en cuenta los resultados de estos trabajos y la importancia que tiene la nutrición en la fertilidad de las hembras no tratadas (57), debe asumirse que el nivel de energía de la ración puede influir tanto en las tasas de ovulación y de fecundación como en la viabilidad de los embriones.

En la mayoría de los estudios realizados, se ha considerado la importancia de la nutrición en animales inducidos a tener ovulaciones dobles para que gesten mellizos. En estos trabajos, tanto la respuesta ovárica a los tratamientos hormonales como la tasa de fecundación no han sido modificadas por variaciones en el peso diario de más o menos 500g (58).

Hanselmann (1995) demostró que la respuesta superovulatoria se correlaciona positivamente con la condición corporal, observando además que las donantes a campo tuvieron 2,2 embriones transferibles más que las estabuladas.

El efecto de estrés nutricional sobre la viabilidad embrionaria, en los estadios preimplantatorios, no ha sido estudiado en el bovino pero sí muy extensamente en el ovino con resultados contradictorios (59).

Teniendo en cuenta que la alimentación con raciones con alto contenido energético eleva los niveles plasmáticos de ácido propiónico y glucosa, se ha hipotetizado que este aumento de la glucemia podría estimular a los centros hipotalámicos y consecuentemente incrementar la actividad ovárica (60). En base a esto, se han efectuado trabajos en animales superovulados, suplementándole la ración con monensina sódica. Se ha registrado un aumento en la ganancia de peso diaria y en el número de cuerpos luteos (61), sin embargo no se ha modificado el número de embriones transferibles (62). Como la respuesta resultó variable, queda por definir aún la condición corporal más adecuada para lograr un mayor efecto.

La suplementación con monensina puede constituirse en una alternativa de interés en la superovulación de vaquillonas, si se repite lo observado por (63) quienes lograron en los animales suplementados una mayor respuesta a bajas dosis de FSHp administradas para inducir ovulaciones dobles. Esto permitiría utilizar tratamientos de superovulación con dosis bajas de gonadotrofinas evitando así los fenómenos de sobreestimulación ovárica.

Se realizó un trabajo en el cual el objetivo fue estudiar el efecto de suplementación de 3 kg de abóbora (Cucurbita máxima) en la respuesta superovulatoria y en la calidad de embriones colectados de vacas donantes en el municipio de Sete Lagoas en el estado de Minas Gerais. Las vacas del tratamiento (T1=16) recibieron silaje de capim, sal mineral, concentrado (2kg por animal por día) y 3kg de abóbora por vaca por día durante 21 días. Las vacas control(T2=18) recibieron la misma dieta sin abóbora.

La suplementación tuvo inicio 8 días antes de la superovulación y terminó en el día de la colecta. La abóbora fue picada y mezclada con el concentrado de cocho. Después de 8 días de tratamiento las vacas fueron superovuladas, recibieron 5 inyecciones im. (Jersey y Nelore=325 UI y Holandesas= 475 UI) de Pluset. Junto con la sexta aplicación de Pluset fueron administrados 225mcg de cloprostenol. Las inseminaciones artificiales y la colecta de embriones fueron echas respectivamente, en el 5 y 12 días del inicio de la superovulación. Los análisis estadísticos fueron hechos utilizando el procedimiento GENMOD.

El grupo T1 produjo más ($P<0,02$) estructuras viables (6,4) que el grupo T2 (5,3).

No hubo efecto significativo ($P< 0,62$) del tratamiento con abóbora en el número de estructuras fecundadas (11,2 x 10,0, para T1 y T2, respectivamente. La comparación de T1 con todas las colectas ($n=56$) realizadas en la

central (T3) verifico que el grupo T1 produjo mas ($P < 0,02$) estructuras viables (6,4 x 4,5, para T1 y T3 respectivamente), y también no hubo efecto significativo ($P < 0,09$) en la cantidad de estructuras producidas (11,2 x 9,1, para T1 y T3 respectivamente).

Estos datos indican que la utilización de abóbora antes de la colecta mejora la calidad de los embriones colectados sin interferir en la calidad de estructuras producidas lo cual puede ser ventajoso en la transferencia embrionaria.

LA IMPORTANCIA DE UN BUEN EXAMEN CLÍNICO ANTES DE COMENZAR UN PROGRAMA DE SUPEROVULACIÓN

El examen clínico del aparato reproductor es un factor clave. La aplicación correcta de los métodos de biotecnología (sincronización de celo, IA, superovulación transferencia embrionaria, tratamiento de anestro post-parto), dependen del conocimiento y actualización en fisiología reproductiva y farmacología de los agentes terapéuticos.

El examen clínico va a determinar el estado reproductivo de preñada, en puerperio o vacía en sus condiciones de normal o patológico.

Como regla solamente receptoras normales son aceptadas en el programa. Las donantes con problemas reproductivos son incorporadas después de haber sido convenientemente tratadas y dadas de alta.

Las vacas post parto son incorporadas a programas de superovulación después de haber finalizado su puerperio y reiniciado la actividad ovárica.

DOS FACTORES CLAVES

Hay dos factores claves que afectan la respuesta superovulatoria: La disponibilidad de un adecuado número de folículos antrales sensibles al estímulo gonadotrófico, presentes en el momento de administrar el tratamiento superovulatorio; y la ausencia de un folículo dominante. Esto depende de la dinámica de la población folicular, controlada por factores ováricos y por el sistema neuroendocrino, por lo tanto sensible al medio interno y externo del organismo. En condiciones de campo es impracticable controlar la población folicular. El otro factor es la calidad y dosificación de las gonadotrofinas.

La variabilidad en cantidad y calidad de embriones producidos como respuesta al tratamiento superovulatorio, es un factor casi imposible de controlar. Debemos poner énfasis en este punto ya que a menudo ocasiona frustraciones.

6.- CONCLUSIONES

- ◆ La utilización de extractos hipofisarios purificados y con cantidades conocidas de LH proporciona una mejor respuesta superovulatoria que el empleo de la eCG.
- ◆ Dicha respuesta puede aumentarse y la variabilidad disminuirse, no eliminarse, si los tratamientos se realizan al comienzo de la onda folicular dado que la disponibilidad de un adecuado número de folículos antrales sensibles al estímulo gonadotrófico y la ausencia de un folículo dominante en crecimiento son dos factores claves para el éxito de la misma.
- ◆ Para lograr un alto número de embriones transferibles, la dosis de gonadotrofina debe ajustarse a la edad de la donante.
- ◆ Dentro de los protocolos tradicionales de dos inyecciones diarias, la administración intramuscular de los extractos de pituitaria resulta en una respuesta superovulatoria mayor que la vía subcutánea.
- ◆ La información disponible sobre el impacto que puede tener la nutrición sobre la respuesta superovulatoria es limitada; no obstante, teniendo en cuenta la importancia que la misma tiene sobre la fertilidad, debe asumirse que el nivel de energía de la ración puede influir tanto en las tasas de ovulación y de fecundación como en la viabilidad de los embriones.
- ◆ Por último, la respuesta superovulatoria puede ser afectada por situaciones climáticas extremas, que las mismas se presenten en verano o invierno dependerá de la ubicación geográfica del lugar donde se lleva a cabo el programa de transferencia embrionaria.

7.- BIBLIOGRAFIA

- Looney CR. Superovulation in beef females. Proc 5 th Ann Conv AETA, Fort Worth, TX, USA 1986: 16-29.
- Looney, CR, Bondioli, KR, Hill, KG, Massey, JM, 1988. Superovulation of donor cow with bovine follicle-stimulating hormone (bFSH) produced by recombinant DNA technology-Theriogenology 29:271.
- Hahn J. Attempts to explain and reduce variability of superovulation. Theriogenology 1992: 38:269-275.
- Hahn,J,1992. Attempts to explain and reduce variability of superovulation. Theriogenology 38:269-275.
- Hafez 1993
- Cupps 1990

Driancart, 2000

- Lindsell CE, Murphy BD, Mapletoft RJ. Superovulatory and endocrine responses in heifers treated with FSH-P at different stages of the estrous cycle. *Theriogenology* 1986: 26:209-219.
- Lindsell, CE, Murohy, BD, Mapletoft, RJ, 1986. Superovulatory and endocrine responses in heifers treated with FSH-P at different stages of the estrous cycle. *Theriogenology* 26:209-219.
- Ginther, OJ, Kastele, JP, Knopf, L, 1989. Temporal associations among ovarian events in cattle during estrous cycles with two and three follicular waves. *Journal of Reproduction and Fertility*. 87:223-230.
- Bo, GA, Caccia, M, 2002. Dinámica folicular en bovinos. En: *Reproducción en los animales domésticos*. Tomo 1, Ungerfeld, R, (ed). Melibea ediciones pp 55-68.
- Bo, GA, Caccia, M, Martinez, M, Mapletoft, RJ, 1996. Follicular wave emergence after treatment with estradiol benzoate and CIDR-B vaginal devices in beef cattle. *Proceeding 13 th International Congress on Animal reproduction*, Sydney, Australia 7:22.
- Laster, DB, 1972. Disappearance of and uptake of (125I) FSH in the rat, rabbit, ewe and cow. *Journal of Reproduction and Fertility*. 30:407-415.
- Chupin, D, Combarrous, Y, Precureur, R, 1984. Antagonistic effect of LH on FSH induced superovulation in cattle. *Theriogenology* 21:229 (resumen)
- Gonzales A, Lussier JG, Carruthers TD, Murphy BD, Mapletoft RJ. Superovulation of beef heifers with Folltropin-V: a new FSH preparation containing reduced LH activity. *Theriogenology* 1990 33:519-519.
- Gonzales, A, Lussier, JG, Carruther, TD, Murphy, BD, Mapletoft, RJ, 1990. Superovulation of beef heifers with Folltropin-v a new FSH preparation containing reduced LH activity. *Theriogenology* 33:519-519.
- Mapletoft RJ, Bo GA, Murphy BD. The effect of biological activity of gonadotropins on superovulation in the cow. *Proc 9 Congreso brasileiro de reproducción animal* 1991: 1:74-92.
- Mapletoft RJ, Bo GA, Pierson RA. Recruitment of follicles for superovulation. *Compendium Continuing Education* 1994 16:127-141.
- Mapletoft RJ, Pierson RA. Factors affecting superovulation in the cow: practical consideration. *IETS Embryo Transfer Newsletter*, 1993: 11:14-24.
- Mapletoft, RJ, Bo, GA, Adams, GP, 2000. Advances in the manipulations of donor cow and recipient estrus cycles in bovine embryo transfer programs. *Arquivos de la Facultad de Veterinaria (UFRGS, Porto Alegre)* 28:23-48.
- Mapletoft, RJ, Bo, GA, Murphy, BD, 1991. The effect of biological activities of gonadotropin on superovulation in the cow. *Proceedings 9 Congreso Brasileiro de Reproducción Animal*. 1:74-92
- Murphy, BD, Mapletoft, RJ, Manns, J, Humphrey, WD, 1984. Variability in gonadotrophin preparations as a factor in the superovulatory response. *Theriogenology* 21:117-125.
- Martinuk
- Mikel-Jenson, A, Greve, T, Madej, A, Edqvist, LE, 1982. Endocrine profiles and embryo quality in the PMSG-PGF treated cow. *Theriogenology*. 18:33-34.
- Moor, RM, Kruip, THAM, Greed, D, 1984. Intraovarian control of folliculogenesis: Limits to superovulations. *Theriogenology* 21:103-116.
- Dieleman, SJ, Bebers, MM, Vos, PLAM, De Loos, Fam, 1993. PMSG/anti-PMSG in cattle: A simple and efficient superovulatory treatment. *Theriogenology* 39:25-41.
- Mc Gowan, MR, Braithwaite, M, Jochle, W, Mapletoft, RJ, 1985. Superovulation of beef cattle with Pergonal (hMG): A dose response trial. *Theriogenology*. 24:173-184.
- Wiltbank, JN, Zimmerman, DR, Ingalls, JE, Rowden, WW, 1965. Use of progestational compounds alone or in combination with estrogen for synchronization of estrus. *Journal of Animal Science* 24:990-994.
- Wilson, JM, Moore, K, Jones, AL, Looney, CR, 1989. Recombinant bovine follicle-stimulating hormone: dose and duration regimens for superovulation of embryo donors. *Theriogenology* 31:273 (resumen)
- Roche
- Bo GA, Adams GP, Pierson RA, Mapletoft RJ. Exogenous control of follicular development in cattle. *Theriogenology* 1995: 43:31-40.
- Bo, A, Hockley, DK, Nasser, LF, Mapletoft, RJ, 1994. Superovulatory response to a single subcutaneous injection of a porcine pituitary extract in beef cattle. *Theriogenology* 42:963-975
- Bo, GA, Adams, GP, Caccia, M, Martinez, M, Pierson, RA, Mapletoft, RJ, 1995. Ovarian follicular wave emergence after treatment with progestogen and estradiol in cattle. *Animal Reproduction Science*. 39:193-204.
- Bo, GA, Adams, GP, Pierson, RA, Mapletoft, RJ, 1995. Exogenous control of follicular development in cattle. *Theriogenology* 43:31-40.
- Bo, GA, Baruselli PS, Moreno, D, Cutaia, L, Caccia, M, Tribulo, R, Tribulo, R, Mapletoft, RJ 2002. The control of follicular wave development for self appointed embryo transfer programs in cattle. *Theriogenology* 57:53-72.
- Bo, GA, Bergfelt, DR, Mapletoft, RJ, 1996. Follicle wave dynamic and superovulation in cattle: recent advances and practical experience. *Arquivos de la Facultad Veterinaria (UFRGS) Porto Alegre* 24:31-52.
- Bo, GA, Mapletoft, RJ, 1999. Control del desarrollo folicular y su aplicación en programas de superovulación de donantes de embriones. *Taurus* 4:14-27.
- Bo, GA, Pierson, RA, Mapletoft, RJ, 1991. The effect of estradiol valerate on follicular dynamics and superovulatory response in cows with Syncro-Mate-B implants. *Theriogenology* 36:169-183.
- Bo, GA, Tribulo, H, Caccia, M, Tribulo, R, 1998. Superovulatory response of beef heifers treated with estradiol benzoate, progesterone and CIDR-B vaginal devices. *Theriogenology* 49: 375 (resumen).

- Bo,GA, Adams, GP, Pierson, RA, Caccia, M, Tribulo, H, Mapletoft, RJ, 1994. Follicular wave dynamic after estradiol 17 treatment of heifers with or without a progestogen implant. *Theriogenology* 41:1555-1559.
- Bo,GA, Adams, GP, Pierson, RA, Mapletoft, RJ, 1996. Effect of progestogen plus estradiol 17 treatment on superovulatory response in beef cattle. *Theriogenology* 45:897-910.
- Bo,GA, Hockley, D, Tribulo, H, Jofre, F, Tribulo, R, Buso, N, Barth, AD, Mapletoft, RJ, 1991. The effect of dose schedule and route of administration on superstimulatory response to follitropin in the cow. *Theriogenology* 35:186(resumen)
- Beal, WB, 1999. Practical application of ultrasound in bovine embryo transfer. 18th Annual Convention AETA, Colorado Springs, CO, EE.UU, pp66-67.
- Fuentes, S, De la Fuente, J, 2000. Holstein superovulatory responses in commercial dairy herds treated with estradiol and progesterone of different days of intravaginal progestagen treatment. *Theriogenology* 53:497 (resumen).
- Lewis, IM, Trounson, AO, 1996. Superovulation in cattle: chemical ablation of the dominant follicle using estradiol. *Singapore Journal of Obstetric and Gynecology* 27:63-65.
- Nigro, M, Burry, E, Villata, ML, Bo, GA, 2002. Effect of different estrogen and progestogen treatments on superovulatory response in beef and dairy cattle. *Theriogenology* 57:769 (resumen)
- Nigro, R, Burry, E, Bo, GA, 1996. Respuestas superovulatorias utilizando el tratamiento de CIDR-B y estradiol 17b en programas comerciales de transferencia de embriones. Segundo Simposio Internacional de Reproducción Animal Carlos Paz, Cordoba, p 268
- Nigro, R, Burry, E, Mapletoft, RJ, Bo, GA, 1996. Respuesta superovulatoria en vacas lecheras tratadas con Lutropin-v en la primera inseminación. Segundo Simposio Internacional de Reproducción Animal, Carlos Paz, Cordoba.
- Nigro, M, Burry, E, Caccia, M, Bo, GA, 1999. Respuesta superovulatoria en vacas lecheras tratadas con Lutropin-v en la primera inseminación. Tercer Simposio Internacional de Reproducción, Carlos Paz, Cordoba, p220.
- Caccia, M, Tribulo, R, Tribulo, H, 2002. Superovulatory response of beef cows treated with progesterone devices and estradiol 17 or estradiol benzoate. *Theriogenology* 57:762 (resumen)
- Moreno, D, Cutaia, L, Villata, ML, Ortisi, F, Bo, GA, 2001. Follicle wave emergence in beef cows treated with progesterone releasing devices, estradiol benzoate and progesterone. *Theriogenology* 55:408 (resumen).
- Meyer, JA, Wideman, D, Looney, CR, Long, CR, Bo, GA, Day, ML, Anderson, JC, Forrest, DW, 2000. Embryo production rates of cattle superovulated with and without the presence of an intravaginal progesterone releasing device. *Theriogenology* 53:504 (resumen)
- Nasser LF, Adams GP, Bo GA, Mapletoft RJ. Ovarian superstimulatory response relative to follicular wave emergence in heifers. *Theriogenology* 1993: 40:713-724.
- Nasser, LF, Adams GP, Bo, GA, Mapletoft, RJ, 1993. Ovarian superstimulatory response relative to follicular wave emergence in heifers. *Theriogenology* 40:713-724.
- Eldsen, RP, Nelson, LD, Seidel, GE Jr 1978. Superovulation of cows with follicle stimulating hormone and pregnant mares serum gonadotrophin. *Theriogenology* 9:17-26.
- Moniaux D, Chupin D, Saumande J. Superovulatory responses of cattle. *Theriogenology* 1983 19:55-81.
- Monniaux D, Chupin D, Saumande J. Superovulatory responses of cattle. *Theriogenology* 1983: 19:55-81.
- Critser, E, S, Critser, J, K, Winch RP, et al. Efficacy of perganol as a superovulatory drug in cattle. *Theriogenology* p 83. 1982.
- Crister, JK, Rowe, RF, Del Campo, RM, Ginther, OJ, 1980. Embryo transfer in cattle: factor affecting superovulatory response, number of transferable embryos and length of post treatment estrous cycle. *Theriogenology* 13:397-406.
- Willmott, N, Saunders, J, Bo, GA, Palasz, A, Pierson, RA, Mapletoft, RJ, 1990. The effect of FSH/LH ratios in pituitary extracts on superovulatory response in the cows. *Theriogenology* 33:347 (resumen).
- Tribulo, H, Bo, GA, Jofre, F, Carcedo, J, Alonso, A, Mapletoft, RJ, 1991. The effect of LH concentration in a porcine pituitary extract and season on superovulatory response of *Bos indicus* heifers. *Theriogenology* 35:286(resumen).
- Callesen, H, Greve, Hyttell, P, 1986. Preovulatory endocrinology and oocyte maturation in superovulated cattle. *Theriogenology* 21:71-86
- Greve, T, Callesen, H, Hyttell, P, 1984. Characterisation of plasma LH-profiles in superovulated dairy cow. *Theriogenology* 21:327.
- Bergfelt, DR, Bo, GA, Mapletoft, RJ, Adams, GP, 1997. Superovulatory response following ablation-induced follicular wave emergence in cattle. *Animal Reproduction Science* 49:1-12.
- Hill, BR, Kuehner, LF, 1996. Follicle aspiration prior to superovulation in cattle. *Theriogenology* 43:324.
- Kim, HI, Son, DS, Yeon, H, Choi, SH, Park, SB, Ryu, IS, Suh, GH, Lee, CS, Lee, HJ, Yon, JT, 2001. Effect of dominant follicle removal before superstimulation on follicular growth, ovulation and embryo production in Holstein cows. *Theriogenology* 55:937-945.
- Bungarts L, Niemann H. Assessment of the presence of a dominant follicle and selection of dairy cows suitable for superovulation by a single ultrasound examination. *J Reprod Fertil* 1994: 101:583-591.
- Bungarts, L, Niemann, H, 1994. Assessment of the presence of a dominant follicle and selection of dairy cows suitable for superovulation by a single ultrasound examination.
- Barcaldo, MI, Martinez, M, Adams, GP, Mapletoft, RJ, 2000. Superovulatory response following transvaginal follicle ablation in cattle. *Theriogenology* 53:1239-1250.
- Ake Lopez J.R.A, Gamboa M, E, A, Holey, L. respuesta superovulatoria em ganado *Bos indicus* y *Bos taurus* bajo condiciones tropicales, y efecto del desarrollo y calidad del embrión sobre el porcentaje de gestación. *Vet Mex* v26 n3 p189-193, 1995.
- Andrade J, C, O. Sincronización da superovulação de dadoras *Bos indicus* a través da associação entre hormônios esteroides. Recife: UFRPE-Departamento de medicina veterinária 1998. 41p.

- Lange, H, Reichenbach H, D. Bovine superovulatory treatments: follicles stimulating hormone FSH preparations and superovulation treatment protocols as sources of variation in embryo transfer practice. *UFRGS* v25, n1, p127-144, 1977 (suplemento).
- Santos Filho, A.S. Superovulação de vacas 5/8 Girolando com diferentes dosagens de FSH-P, UFRPE 1998 P39.
- Palma, G.A. Evaluación morfológica de los embriones. Transferencia de embriones y biotecnología de la reproducción de la especie bovina. Buenos Aires editorial hemisferio sur, 1993.
- Chebel, R.J, Basile, J.R. Eficiência do pergonal (hMG) na superovulação de vacas de raça holandesas. *Ver Bras Reprod Anim* v12 n2 p 115-119, 1988.
- Hasler JF, McCauley AD Schermerhorn EC, Foote H. Superovulatory responses in Holstein cows. *Theriogenology* 1983: 19:83-99.
- Hasler, JF, McCauley, A.D, Schermerhorn, E,C et al. Superovulation responses of holstein cows. *Theriogenology*, v19, n1, p83-99, 1983.
- Hockley, D.K, Bo, G.A, Palasz, AT, Del Campo, MR, Mapletoft, RJ. 1992. Superovulation with a single subcutaneous injection of follitropin in the cow: effect of dose and site of injection. *Theriogenology* 37:224 (resumen).
- Page, RD, Jordan, JE, Johnson, SK, 1989. Superovulation of Holstein heifer under heat stress with FSH-P or follitropin. *Theriogenology* 31:236 (resumen).
- Freitas, C, SA, WF, Ferreira, AM, Camargo, LSA, Martinez, ML, 1998. Embryo production of gir donors using low doses of FSH (preliminary data). *Arquivos de la facultad de veterinaria UFRGS* 26 (suplemento):273.
- Visintin, JA, Arruda, RP, Madureira, EH, Mizuta, K, Celeghini, ECC, 1996. Asumpcao MEOA, Gusmoes PPG, Candinni, PH. Effect of different doses of FSH/LH on superovulatory response in Nelore heifers. *Arquivos de la facultad de veterinaria UFRGS* 24 suplemento 1 :222.
- Cabodevila, J, Torquati, S., Superovulación en hembras bovinas.
- Donaldson L and B Perry (1983). Embryo production by repeated superovulation of commercial donor cow. *Theriogenology* 20:163-168
- Donaldson L (1984). Cattle breed as a source of variation in embryo transfer. *Theriogenology* 21:1013-1018.
- Kafi M and M Mc Gowan (1997). Factors associated with variation in the superovulatory response of cattle. *Anim. Reprod. Sci*, 48-137-157.
- Dunn T (1980). Relationship of nutrition to successful embryo transplantation. *Theriogenology* 13: 27-39.
- Edey T (1970) Nutritional stress and pre-implantation embryonic mortality in merino sheep. *J. Agric. Sci.* 74:193-198.
- Howland B, Kirkpatrick R, Pope A and L Casida (1996) Pituitary and ovarian function in ewes fed on two nutritional levels. *J Anim. Sci.* 25: 716-721.
- Ortuno A and R Carson (1985). The effects of dietary monensin sodium upon superovulation and embryo viability from mature cows. *Theriogenology* 23: 743-752.
- Sumande J and D Chupin (1981). Production of PMSG antiserum in cattle: Assay of inhibitory activity and use in superovulated heifers. *Theriogenology* 15: 108.
- Harrison L, Hansen T and R Randel (1982). Evidence for seasonal and nutritional modification of ovarian and pituitary function in crossbred heifers and Brahman cows. *J. Anim. Sci.* 55: 649-656.
- Adams GP, Kot K, Smith CA, Ginther OJ. Selection of a dominant follicle and suppression of follicular growth in heifers. *Anim Reprod Sci* 1993: 30:259-271.
- Adams GP, Nasser LF, Bo GA, Garcia A, Del Campo MR, Mapletoft RJ. Superovulatory response of ovarian follicles of Wave 1 versus Wave 2 in heifer. *Theriogenology* 1994 42:1103-1113.
- Adams, GP, Nasser, LF, Bo, GA, Garcia, A, Del Campo, MR, Mapletoft, RJ, 1994. Superestimulatory response of ovarian follicles of Wave 1 versus Wave 2 in heifers. *Theriogenology* 42:1103-1113.*
- Huhtinen M, Raino V, Aalto J, Bredbacka P. Increased ovarian responses in the absence of the dominant follicle in superovulated cow. *Theriogenology* 1992 37:457-463.
- Huhtinen, M, Raino, V, Aalto, J, Bredbaka p 1992. Increased ovarian responses in the absence of the dominant follicle in superovulated cow. *Theriogenology* 37:453-463.
- Montovani R, Enright W, Roche J and M Boland (1997). The effect of immunization of heifers against alpha 1-26 inhibin conjugate on the superovulatory response to pFSH. *Theriogenology* 47: 511-519.
- Yaakub H, Duffy P, O-Callaghan D and M Boland (1999). Effect of type and quantity of concentrates on superovulation and embryo yield in beef heifers. *Theriogenology* 51:1259-1266.
- Deyo, CD, Colazo, MG, Martinez, MF, Mapletoft, RJ, 2001. The use of GnRH or LH to synchronize follicular wave emergence for superstimulations in cattle. *Theriogenology* 55:513 (resumen).
- Akordor, F.Y, Stone, J.B, Walton, J.S., et al. Reproductive performance of lactating Holsteins cows fed supplemental beta carotene. *J Dairy Sci.*, v69, p2173-2178, 1986.
- Anderson GR, BonDurant RH. Multiple ovulation resulting from low level administration of PMSG to cattle at different stages of the estrus cycle. *Anim Reprod Sci* 1982: 5:85-91.
- Armstrong DT. Recent advances in superovulation of cattle. *Theriogenology* 1993 39:7-24.
- Ascarelli I, Edelman, Rosenberg, et al. Effect of dietary carotene on fertility of high yielding dairy cows. *Anim Prod* v40 p195-207, 1985.
- Besenfelder, U., Solti, L., Seregi et al. Different role for beta carotene and vitamin A in the reproduction of rabbit. *Theriogenology* v45 pag 1583-1591, 1996.
- Boland M, Goulding D, Roche JF. Alternative gonadotropins for superovulation in cattle. *Theriogenology* 1991 35:5-18. *Journal of Reproduction and Fertility* 101:583-591.

- Goulding D, Willams DH, Duffy P, Boland MP, and Roche JF. Superovulation in beef heifers given FS initiated either at Day 2 or Day 10 of the oestus cycle. *Theriogenology* 1990: 34:767-768.
- Guilbaut LA, Graso F, Lussier JG, Matton P, Rouller P. Decreased superovulatory responses in heifer superovulated in presence of a dominant follicle. *J reprod Fertil* 1991:91:81-89.
- Macmillam, KL, Thatcher, WW, 1991. Effects of an agonist gonadotropin -releasing hormone on ovarian follicles in cattle. *Biology of Reproduction* 45:883-889.
- Martinez, MF, Adams, GP, Bergfelt, D, Kastelic, JP, Mapletoft, RJ, 1999. Effect of LH or GnRH on the dominant follicle of the first follicular wave in heifers. *Animal Reproduction Science* 57:23-33.
- Pierson LA, Ginther OJ. Follicular populations during the estous cycle in heifers 3. Time of selection of the ovulatory follicle. *Anim Reprod Sci* 1988: 16:81-95.
- Pierson RA, ginther OJ. Follicular population during the estrous cycle in heifers 3. Time of selection of the ovulatory follycle. *Anim Reprod Sci* 1988 16:81-95.
- Pursley, JR, ME, MO, Wiltbank, MC, 1995. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF2& and GnRH. *Theriogenology* 44:915-923.
- Snyder,DA, 1986. Superovulation of cows and heifers select for twinning.*Theiriogenology*. 25:200 (resumen).
- Sreenan JM, Gosling JP. The effect of cycle stage and plasma progesterone levels on the induction of multiple ovulations in heifer J. *Reprod Fertil* 1977: 80: 367-369.

[Volver a: Trasplante y clonación](#)