LLEY & TECHTO'S HE THE STEED OF BY ELYMINES

LL USE LLL LEPACSCOMO

- H. Aragunde
- A. Hartinez
- J. Scalone
- A. Fernández
- A. Carbo
- P. Maceira
- F. Perdigón
- L. Bonifacino
- L. Sapelli
- 11. Larre Dornes

INTRODUCCION

Este trabajo resume 5 años de experiencia sobre el tema; realizada en la Facul—tad de Veterinaria y establecimientos privado productores de leche y carne del $\underline{\underline{U}}$ ruquay.

In un principio se alternaron las técnicas tradicionales ya publicadas en el país por varios profesionales como el Dr. Caorsi y colaboradores, pionero en el bruquay, quien también está experimentando el implante por técnica trans-vaginal los Doctores Cuenca y Bonneveaux, Durán del Campo y colaboradores y C.M. Carleva de Catellá. Por el hecho de que algunos de nosotros tuvimos oportunidad de observar la escuela japonesa, experimentamos las técnicas realizadas en Japón talas como las trans-cervicales o para-cervicales. Nuestro pensamiento es que la única forma de que la Técnica de Transferencia de Embriones en bovinos sea aplicable de Uruguay es que se transforme en un procedimiento simple y adaptable a las condiciones que los establecimientos uruguayos de campo poseen, ya Sea tambos o grandes establecimientos agropecuarios. En ese sentido orientamos siempre nuestra preocupación y estamos convencidos que hasta no lograrse la total sistemati zación y sencillez en su aplicación, solo será utilizable por una minoría de los mismos.

Metodología.

- 1. -Superovulación e inseminación artificial
- 2. -Colección
- 3. -Identificación y evaluación embrionaria
- 4. -Sincronización y transferencia
 - 1. Superovulación e inseminación artificial.

Basicamente se usa PMSG (gonadotrofina de suero de yegua preñada) y ESE -- (hormona folículo estimulante) en la superovulación.

PANCO y FSH se inyectan intramuscular en los días 8-12 del ciclo estral (celo = día cero). El programa de trabajo se observa en el Cuadro 2. Para la PMSG la dosis Optima son 3000UI.

Cuando se usa la FSH se opta por uno de los siguientes 2 prototipos de trabajo:

- λ) 32 mg repartidos en 5 días y administrados cada 12 hs en concentraciones decreciontes: 5,5 4,4 3,3 2,2 2,2.
- B) 28 mg repartidos en 4 días y administrados cada 12 hs en concentraciones decrecientes: 6,6 4,4 2,2 2,2.

Secún análisis restrospectivos de cientos de superovulaciones efectuados por diferentes autores se trata que la dosis total sea entre 28 y 32 m; ya que se ha observado que con dosis mayores de 35 mg (entre 35 y 50 mg) disminuye sensiblemente la obtención de embriones viables. En lo que respecta a la duración del tratamiente no existirían diferencias significativas entre 4 y 5 días. A las 48 horas de comenzado el tratamiento de superovulación se administra prostaglandina (1 dosis a las 48 hs. y 1/2 a las 72 hs).

La bibliografía indica que existe un 10% de vacas superovuladas que no presentan celo manifiesto luego de administración de Prostaglandina según el esquema clásico. Según Donaldson este porcentaje puede ser disminuido a un 4% o 5% si una domisis total de 50% mg es administrada en 3 dosis cada 6 hs. En función de las conclusiones de este autor se pasa a utilizar su sistema.

Entre las 36 y 72 hs de inyectada la Prostaglandina se realiza la detección de colos (Donante y receptoras). La inseminación artificial de la Donante se realiza a las 12 hs y 24 hs post celo visto. Si no existen signos de estro se detiene el esquema de trabajo. En algunos casos, antes o en el momento de la I.A. se administra 2500 UI de HCG intravenosa (gonadotrofina coriónica humana) para inducir la o vulación.

2. Colección (Cuadro Nº 3)

Se realiza por el método no quirárgico entre los días 7-8 del ciclo según la técnica clásica. En cuanto a la sonda utilizada se comienza a trabajar con el modelo del Dr. Sugie (escuela japonesa), luego con la sonda Foley y actualmente se utilità la sonda de procedencia alemana modelo Neustadt-Aisch. Esta última ofrece distras ventajas que se traducen en exelentes resultados en la colección.

EL solución de lavado es PBS modificado + 1% de suero fetal bovino inactivado a - 300 furante 30 minutos. Cada cuerno uterino recibe 500 ml de medio.

Lucyo de terminada esta etapa cada donante recibe una dosis de prostaglandina y escrein el caso antibiótico intrauterino.

3. Identificación y evaluación embrionaria

Previa decantación y sifonaje del sobrenadante el contenido de las respectivas probetas (60 - 70 ml) se vuelca en placas de Petri y se lleva a una lupa este mecacopica. Se comienza a buscar con 16%. Ya localizados los embriones se pasan a un rudio de purificación que contiene PBS modificada + 20% de suero fetal hovino. Una vez colocados en medio limpio se procede a la identificación del grado de demanrollo embrionario y su respectiva evaluación según criterios morfológicos. La nomenclatura utilizada es la propuesta por Lindner y Wright, con alguna innovación.

- -Momenclatura de morfología embrionaria
- Mórula, Mórula compacta, Blastocisto temprano, Blastocisto, Blastocisto expandido, Blastocisto eclosionado, Formas inmaduras y Huevos no fertilizados.
- -Score de calificación embrionaria.
- Excelente, bueno, regular y malo.
- El estudio de estos parámetros se realiza con un aumento de 40x.
 - Sincronización y transferencia a receptoras.
 - A -Selección de receptoras
 - Las receptoras deben estar con los celos sincronizados en el mismo día que las donantes.
 - Mismo día en celos que la donante 0

24 hs antes --24 24 hs después +-24

ya sea sea celo natural o inducido con PGF2 alfa. En este último caso la Prostaglandina se administrará 18 hs antos de la equivalente del animal donante, previa palpación rectal para determinar la existencia de un cuerpo lúteo funcionante. A los 3-4 días post-inyección las receptoras presentarán estro. En función del promedio de embriones transferibles (5,4) por tratamiento de superovulación comunicado por varios autores, se calculan 5 recptoras para cada donante; simple mente a los efectos de no tener demasiadas vacas en el Programa de transferencia Si el número de embriones excede al de las recptoras se inoculan 2 embriones (uno en cada cuerno) por receptora. Hasta el momento no se han obtenido mellizos.

B -Procedimiento de transferencia

Se realizan 2 métodos de implante; el segundo de ellos surgió como con secuencia del primero; pero utilizando ambos la técnica de implante transvaginal. La diferencia radica en el empleo del laparoscopio.

Primer método: Consiste en realizar una incisión de 4-5 cms. de longitud en el techo de la vagina similar a la realizada en la intervención de neutralización sexual tan común en nuestro medio. Se extrae el cuerno ipsilateral al ovario que presenta el cuerpo lúteo (previamente detectada por vía rectal) hasta la zona vestibular de la vulva. Un segundo operador vehiculiza el embrión por medio de una pipeta Pasteur o una pajuela de 0.25 adaptada a una jeringa de insulina.

Segundo método: Como existen algunas receptoras en las que para extrær el cuerno uterino hay que traccionar demasiado el ligamento, preferimos auxiliarnos con el laparoscopio pues nos permite realizar el implante en la vagina - (10 cms más adentro que el primero): en consecuencia el desplazamiento del órgano se realiza sin esfuerzo, y la eventual deposición u orina no alteran el trabajo. Este último riesgo señalado es excepcional, ya que generalmente se realiza previo a la fijación en el cepo.

En nuestra experiencia con este método podemos establecer:

- a. el método trans-vaginal es más accesible para nuestro país, pues tanto una es tancia como un tambo tienen las comodidades del tubo con un cepo que permite inmovilizar el sujeto y realizar el trabajo desde la parte posterior con total seguridad.
- b. cuando se realicen importaciones de embriones congelados sería mucho más sencillo y rápido para el colega realizar esta intervención a la que todos esta mos habituados y que no necesita comodidad especial.
- c. cualquiera de estas 2 técnicas presentan un inconveniente, y es el hecho de que no es aplicable en recptoras vaquillonas para las que el método de elección continúa siendo el flanco.
- d. quien no disponga de laparoscopio podrá siempre utilizar el primer método y en casos necesarios utilizar productos del tipo clenbuterol que favorecen la intervención.

Con el presente trabajo no se pretende indicar que esta técnica es superior o inferior a otras ya que nuestra casuística es limitada: 2 terneros nacidos y 4 varcas preñadas. Solamente se indica que sí es posible realizarla ya que existen 6 éxitos de por medio, uno de ellos con el empleo del laparoscopio. Tal vez aquellos que trabajen en forma comercial podrán dictaminar si es de elección o se de be desechar. Por nuestra parte continuaremos empleándolo para luego evaluar su plicación, ya que lo consideramos más sencillo, más rápido (3-4 minutos) y no tiene necesidad de sutura e cuidados post-operatorios.

CONCLUSIONES

Se describen 2 métodos para transferir embriones en vacas utilizando la vía vaginal. Es el método que más se adapta a las comodidades de los establecimientos u-

ruguayos y si se verificaran los mismos porcentajes de preñez que con los métodos tradicionales sería el de elección para el Uruguay y posiblemente para muchos de los países de América del Sur.

AGRADECIMIENTOS

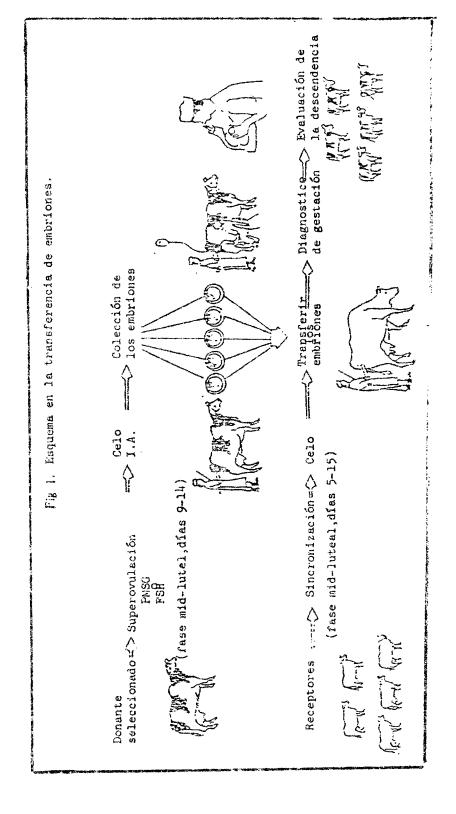
Deseamos expresar nuestro agradecimiento en los entrenamientos de Post Grado en técnicas de Reproducción animal realizados en el Royal Veterinary College, Upsala Suecia y a FAO.

Manifestamos también nuestro agradecimiento al Gobierno Japonés por intermedio de Japan International Cooperation Agency, quen nos brindó la posibilidad de hacer - un entrenamiento en transferencia de embriones.

Hacemos también especial referencia al Sr. D. Benedetto (K. Storz-Strattner, ---- S.R.L. Uruguay), por la colaboración prestada durante los trabajos de fotoendosco pía realizados.

BIBLIOGRAFIA

- COULTHERD H. The use of clembuterol in embryo transfer recipients. Theriogenology 17: 82 (1982).
- CHUPIN. D and Procureur, R. Use of pituitary FSH to induce superovulation in --- cattle; effect of injection regime. Theriogenology 17: 81 (1982).
- DONALDSON. L.E. The effecto of prostaglandin F2 alpha treatments in superovulated cattle on estrus response and embryo production. Theriogenology 20: 279-285 (1983).
- DONALDSON. L.E. Dose of FSH-P as a source of variation of embryo production from superovulated cows. Theriogenology 22: 205-212 (1984).
- DONALDSON. L.E. Embryo production in superovulated cows: transferable embryos -- correlated with total embryos. Theriogenology 21: 517-524 (1984).
- ELSDEN. R.P., NELSON, L.D., and SIEDEL, Jr., G.F. Superovulating cows with FSH and PMSG. Theriogenology 2: 17-26 (1970)
- LINDNER, G.M., WRIGHT, R.W. Bovine embryo morfology and evaluation. Theriogenology 20: 407-416 (1983).
- MONNIAUX, D., CHUPIN, D., and SAUMANDE, J. Superovulatory responses of cattle. -Theriogenology 19:55 (1983).
- SEIDEL, G.E, Jr. Superovulation and embryo transfer in cattle. Science 211: 351-358 (1981)
- SHEA, B.F. Evaluating the bovine embryo. Theriogenology 15: 13-42 (1981)



GLADSO No S

DIFFERENTES TRATAMIENTOS DE SUPEROVULACION

1) FSH 28 mg en h dias

32 ms en 5 dias

DTA 10	DTA 11	DIA 12	DJA 13	DT 1 14	DTA O
6 mg	4 mg 4 mg	2 me 2 mg PGF2•C	2 mg 2 mg		13 K 1.A. 1.A.
5 mg 5 mg	4 mg 4 mg	3 mg 3 mg PGF2&	2 mg	2 mg 2 mg	J.A. I.A.

2) <u>PMSG</u> 3.000 U.I.

DIA 10	DIA 11	DTA 12	DIA 13	DTA 14	DIA O
3.000 V.I		PGF2∢			T.A. J.A.

