

EVALUACIÓN DE LA TRANSFERENCIA DE EMBRIONES EN RAZAS CEBUINAS EN SANTA CRUZ, PERIODO 1997 A ABRIL DE 2006¹

Méndez. S.E.²; Ortiz, T.J.³; Landívar, M.J.⁴

Facultad de Ciencias Veterinarias, UAGRM.

I. RESUMEN.

El trabajo evaluó los registros de transferencia de embriones de 25 cabañas de ganado bovino cebuino asociadas a ASOCEBU, procedentes de 7 provincias del departamento de Santa Cruz. Se utilizaron las denuncias y/o comunicaciones del servicio de Transferencias de Embriones realizadas en los respectivos formularios de ASOCEBU en el periodo comprendido entre 1997 a abril del año 2006. Los resultados se tabularon y resumieron a través de medidas de tendencia central y de dispersión. En los 10 años, se obtuvo un total de 1371 donantes con una media anual de 137 y 1743 colectas con una media de 174 por año, dando un promedio de 1,25 colectas por vaca donante. El mayor porcentaje de colectas se realizó el año 2005 (25,4%), seguido del año 2004 (18,0%), con un decremento gradual hacia los años anteriores. De un total de 1.743 colectas se obtuvieron 12.633 embriones viables, dando una media general de 7,25 embriones viables por colecta. El porcentaje de las transferencias realizadas en fresco, en relación al número de embriones viables totales es de 85,8% y de congelados el 13,4%. En los 10 años se realizaron 10.840 TE en fresco y 1695 TE de congelados. Del total de colectas realizadas por año, el 91,4% corresponden a la raza Nelore, el 7,9% en Brahman, y en la raza Gir, 0,7%. De acuerdo al número de cabañas, se trabajó en total con 45, siendo las cabañas de la raza Nelore la de mayor participación (71,11%), seguido de Brahman (20,0%) y Gir (8,89%). La distribución porcentual de razas de toros utilizados en los años evaluados fue de 75,14% para Nelore; 21,39% Brahman y 3,47% de la raza Gir.

-
- 1.- Tesis de Grado presentado por Esther Méndez, para obtener el título de Médico Veterinario Zootecnista, Facultad de Ciencias Veterinarias, UAGRM. Santa Cruz-Bolivia.
 - 2.- Médico Veterinario Zootecnista, Docente de la FCV, UAGRM.
 - 3.- Médico Veterinario Zootecnista, Gerente Técnico de ASOCEBU. Santa Cruz de la Sierra, Bolivia.

II. INTRODUCCIÓN

La transferencia de embriones es una técnica moderna con la que cuenta hoy en día el ganadero, para el mejoramiento genético del ganado bovino, es muy necesario en nuestro medio, ya que nuestra ganadería no se encuentra en el mismo nivel de los demás países vecinos, por eso es imperativo mejorar rápidamente nuestros índices de producción.

Después de la implementación de la inseminación artificial, la transferencia de embriones (TE) se ha convertido en la herramienta más poderosa para el Mejoramiento genético de los animales. Varios países han incorporado programas de superovulación y transferencia de embriones dentro de los programas de progenie como ayuda para el mejoramiento genético en el ganado de carne y leche, ya que las ventajas que ofrece son importantes, como el incremento de la producción de hembras genéticamente superiores, maximizar el uso de semen de alto valor genético, planificaciones de cruzamientos y otras ventajas que ofrece la transferencia de embriones (Tríbulo y col, 1997).

Esta técnica (TE) en nuestro medio esta tomando fuerza en los diferentes sectores ganaderos, y con el propósito de aportar con datos que beneficien al sector pecuario acerca de la transferencia de embriones, es por tal motivo que nació la inquietud de realizar el presente trabajo de investigación en el cual se ensaya disminuir el intervalo de superovulación en vacas de la raza Nelore para obtener embriones en menos tiempo.

La T.E. en razas cebuinas se viene realizando en nuestro departamento a partir del año 1990, pero hasta la fecha no existe ningún reporte oficial acerca del número de colectas, de transferencias, de donantes realizado, ni

tampoco del número de productores (cabañas) involucrados en esta biotecnología. Tampoco se conoce si su utilización está aumentando o disminuyendo.

Por esta razón es que se realizó esta investigación, utilizando como fuente principal las “comunicaciones de servicio de transferencia de embriones” realizadas por los asociados a Asociación de Criadores de Ganado Cebú (ASOCEBU), las cuales se realizan en un formulario oficial a partir del año 1998.

Para ello se formuló el siguiente objetivo general: Evaluar el número de transferencias de embriones de razas cebuina denunciados a ASOCEBU en el periodo 1997 a 2006. Conllevando los objetivos específicos:

- Determinar la media del número de embriones viables por colecta y por año.
- Conocer el número de colectas y Transferencia de Embriones (TE) realizados por año.
- Conocer el número de colectas y Transferencia de Embriones (TE) realizados por razas cebuinas (Nelore, Brahman y Gir).
- Determinar el número de colectas, de donantes por raza y por año y cabaña.
- Conocer el número de embriones congelados por raza y año.
- Conocer el número de embriones descongelados transferidos por año.
- Conocer cuales son los toros más usados para fecundar a las donantes.
- Proporcionar información tanto para ASOCEBU como para los productores ganaderos del impacto de la técnica de T.E. en el mejoramiento genético de las razas cebuinas.

III. REVISIÓN BIBLIOGRAFICA

3.1. RESEÑA HISTORICA.

La transferencia de embriones es una técnica por la cual los embriones son colectados de una hembra donante y transferidos a una hembra receptora que sirve como madre sustitua durante la preñez. En el año 1890 Walter Heape reportó que una camada de conejos había nacido en su laboratorio como resultado de un transplante de embriones. El no pudo haber imaginado el impacto que su descubrimiento tendría. Si bien durante los años 30 y 40 se investigó bastante sobre la colección y transplante de embriones bovinos, recién en 1951 nació el primer ternero como consecuencia de la transferencia de un embrión en Wisconsin. El interés en la transferencia embrionaria fue aumentando desde 1950; ya para 1977 había cerca de mil publicaciones sobre transferencia embrionaria, muchas de ellas en bovinos (Tríbulo y col, 1997).

Fue a principio de los años 70 que comenzó el gran interés comercial en la transferencia de embriones en el bovino. Razas europeas de doble propósito eran importadas a Norteamérica, y por su escasez eran extremadamente valiosas. Como resultado, existía gran incentivo económico para la aplicación de la transferencia de embriones: los criadores querían un método que aumentara el porcentaje reproductivo de sus hembras para una provechosa venta de su descendencia. En consecuencia, la técnica de transferencia embrionaria en animales domésticos fue desarrollada con dinero de los criadores más que por fondo para investigación como es tradicional (Tríbulo y col, 1997).

La primera práctica de transferencia de embriones (TE) en Bolivia empieza el año 1985 en el Proyecto de Mejoramiento Genético - JICA, realiza sus primeras experiencias sin superovulación. En el departamento del Beni estancia IROBY nace en el año 1987 los dos primeros productos de transferencia de embriones (TE), de seis embriones transferidos por el método Quirúrgico mediante laparotomía en el flanco de las receptoras (Tríbulo y col, 1999).

3.2. DESCRIPCIÓN DE LAS RAZAS CEBUINAS.

3.2.1. Nelore.

Raza nelore es la especie ***Bos indicus*** (Cebú) y tiene grandes diferencias con las razas ***Bos Taurus*** (europea) como el Angus , Hereford, Charoles y otras.

Nunca ha existido en la India una raza llamada nelore este nombre corresponde a un distrito de la presidencia de Madras, perteneciente al nuevo Estado Andra , a orillas del mar de Málaga . Fue en Brasil que algunos autores comenzaron a usar el nombre de nelore como sinónimo de Ongole la raza hindú que constituyó mas a la creación del nelore. La historia se remonta a dos mil años antes de la era Cristiana.

a) Cualidades de la raza nelore

- La fertilidad de sus vacas y precocidad sexual de las novillas.
- La capacidad de supervivencia de sus terneros.
- La calidad de las ubres de las madres, con pezones de tamaño apropiado.
- La longevidad de vida de la producción útil de vacas y toros.

- La actividad sexual de los toros.
- La excelente calidad del semen de los toros.
- El prepucio corto natural que evita las lesiones de acrobustitis en los machos.
- La innegable rusticidad de la raza en condiciones ambientales difíciles.
- El buen instinto materno y protector de las vacas con respecto a sus becerros

b) Características.

La raza nelore se caracteriza de forma general, por animales de tamaño mediano grande de pelajes blanco, gris. Se encuentre sin embargo, en una escala mucho menor, otros pelajes, diferente de aquellos denominados (ideales) que son permitidos en el padrón de la raza. Ellos son: roja amarilla negra y sus combinaciones con el blanco, formando los pliegues llamados pintados de rojo amarillo o negro.

La piel es negra, rica en melanina, factor que funciona como protector los rayos solares, de extrema importancia para las regiones tropicales y sub – tropicales. La cabeza es bastante típica, en forma de ataúd cuando es vista de frente y lateralmente presenta perfil sub-convexo, principalmente los machos. Los ojos son elípticos, negros y vivos. Las orejas son cortas, simétricas entre los bordes superiores e inferiores terminando forma de lanza. La cara interna de las orejas son volteadas para adelante y presentan movimiento vivo.

Los cuernos son de color oscuro, firmemente implantado en el cráneo, cónico y más gruesos en la base de sección oval. Nacen para arriba, acompañando

el perfil de la cabeza. Con el crecimiento pueden dirigirse para afuera, para atrás, y para arriba, o curvarse, a veces para atrás para abajo. Son permitidos cuernos móviles, rayados de blancos, asimétricos o con puntas ligeramente curvadas para adelantes. Tienen un tronco largo, profundo, amplio con costillas arqueadas, largas y separadas entre sí. Sus extremidades son largas y bien sustentadas.

Bondades: Se destacan su rusticidad, resistencia y capacidad para recorrer largas distancias en busca de comida y adaptabilidad a zonas de altas temperaturas.

La ausencia de cuernos es permitida, constituyéndose en la variedad mocha de la raza cuyo registro genealógico se remonta a los años de 1961. En los animales mochos son permitidas la ocurrencia del cuerno rudimentario o batoque, respectivamente una señal con espesor de la piel sin pelo y protuberancia cornea, un rudimento de cuero. Ambos son observados en la región donde naturalmente estarían insertados los cuernos.

Los machos presentan musculatura compacta y bien desarrollada, con barbillas suelta plegadas, con ombligo corto, vaina del prepucio leve.

Las vacas adultas miden en 165 cm de largo y 155 cm de altura de posterior, con un peso que llagan a 800 Kg. Los toros con una medida de 177 cm de largo 170 cm de altura de posterior, 230 cm de perímetro torácico y 38 cm de circunferencia escrotal, pasan con facilidad, los 1.000 Kg de peso.

3.2.2. Raza Gir Lechero

El Gir lechero ha despertado el interés de los brasilero de los tiempo lejano.

Considerando en su región como animal de doble propósito (carne y leche).

Característica racial peculiar de la raza gir se destaca por su color rojo y amarillo en mezcla típica con blanco. Tiene una naturaleza mansa. Origen la raza gir llega a Brasil desde los año 1911 al final de la guerra mundial la raza gir sufrió un enorme progreso que fue el inicio de un periodo de oro con los animales alcanzando valores astronómicos.

a) Características raciales

Apariencia general de los Gir son animales de muy buen desarrollo según la edad, sano, vigoroso, con abundante y bien distribuida musculatura y las hembras presentan una extraordinaria feminidad y delicadeza.

Cabeza	El cráneo es ultra convexo tanto como el perfil, tamaño mediano, la textura bien echado hacia atrás.
Cuernos	Mediano siendo grueso y achatado nacen de la línea de los ojos para abajo.
Orejas	Son péndulos igual a una hoja seca formándose un dobles, son largas y pendiente reciben el nombre de GAVION.
Ojos	Son negros adormecidos, ciliados lateralmente y protegidos por mas piel y dirigidos hacia atrás
Cuello	Fino y mediano en macho y hembras,
Morro	Es negro y ancho con hollares dilatados revelando gran capacidad de respiración
Giba	Son típicos del ganado CEBU de la raza pura en forma de un riñón.
Piel	Es lo típico o característico del Cebú: Suelta, flexible

untuosa y de pigmentación oscura o negra.

Pelos De color variable o coloreado son corto fino y sedosos

Colas Es fina y larga

Miembros Son moderadamente cortos

Cuerpo Es de tamaño amplio el tórax, dorso, lomo ancho lo mismo que en la grupa y bien musculoso.

Costillas Son bien arqueadas y largas

Ubres pezones Las ubre son amplias bien formadas, la textura de ubre es fina y suave, flexible, es proporcionada y pezones exageradamente grandes

b) Ganancia de peso

El Gir nace con 27 Kg. Llegando a pesar 360 Kg. En 2 año y adulto 700 Kg. En los macho y en la hembra 450 Kg. Al destete son 241 Kg. En lo macho y en la hembra 230 Kg

c) Factores que cooperan para que la raza gir sea estimada por el criador

- Rendimiento en la leche ya sea por su cruzamiento o como raza pura.
- Los becerros nacen sanos, fuertes, y despiertos y horas después se desplazan con el rebaño
- La perdida de becerro es mínima dada su naturaleza rústica
- Es un ganado bastante fuerte y la hembra tiene buena habilidad maternal.

3.2.3. La Raza Brahman en Bolivia.

Es innegable que para la ganadería Boliviana la introducción de las razas cebuinas ha sido determinante para la mejora de los índices productivos, acortando los ciclos de producción, mejorando los parámetros reproductivos y elevando la rentabilidad de los hatos ganaderos. (Revista ASOCEBU Activa).

Esto debido a las virtudes de los cebuinos. Animales aptos para la producción de carne en llanuras tropicales y subtropicales. En este contexto la raza Brahmán introducida por Estancias Espíritu por primera vez en los años 70 al departamento del Beni y posteriormente en los años 90 Cabaña Rancho Z, así mismo Cabaña K de Oro incursionaron en la selección de ganado Brahmán en el departamento de Santa Cruz, demostrando la eficiencia y adaptabilidad de esta raza a los diversos sistemas de manejo desarrollados en nuestro país, consiguiendo gran aceptación entre los ganaderos de ambos departamentos.

En la actualidad existen 20 criadores de ganado Brahman puro en nuestro país y la demanda por reproductores de esta raza a aumentado considerablemente en los últimos años debido al desempeño de los mismos.

a) Desempeño productivo.

El Brahman se caracteriza por ser un animal de porte medio, profundo y de gran desarrollo de masas musculares en la región dorso lumbar y el tren posterior. Destacándose la rapidez en el acabado de su carcaza (nivel de cobertura de grasa en la canal) por esta característica de precocidad el Brahmán representa una alternativa para el cruzamiento entre cebuinas

ideal para sistemas semi-intensivos o intensivos en regiones tropicales. En nuestro medio ya existen criadores trabajando con cruces entre cebuinos con buenos resultados y los productos se destacan por su rusticidad y precocidad.

3.3. EFICIENCIA REPRODUCTIVA.

La eficiencia reproductiva es uno de los factores de mayor importancia económica en la producción de ganado de corte pues influye directamente en el balance financiero de la estancia ya que refleja la eficiencia en la producción, es decir mayor cantidad de terneros con menor cantidad de vacas en menor tiempo. Los factores que deben ser tomados para la evaluación de la eficiencia reproductiva principalmente:

1. Edad al primer parto. Al reducir la edad al primer parto acortaremos el ciclo de producción de nuestra estancia.
2. Intervalo entre partos. Refleja la eficiencia de los vientres entre un parto y el próximo.
3. Intervalo parto concepción. Las vacas deben ser capaces de parir y entrar en servicio en el menor tiempo posible. Quedando preñadas en una estación de monta corta. Esta directamente relacionada con el Intervalo Entre Partos IEP.

Como una estancia puede mantener una eficiencia reproductiva ideal: Acortando la edad al entorar o primera inseminación de sus vaquillas, trabajando solo con vientres productivos lo que se verá reflejado en altos índices de preñez. (Revista ASOCEBU Activa).

3.4. FISIOLÓGÍA DE LA REPRODUCCIÓN

El ciclo estral de la vaca está controlado por la secreción de hormonas del hipotálamo, apófisis, ovarios y útero. Estas son hormonas liberadoras de gonadotrofinas (GnRH) del hipotálamo, la hormona folículo estimulante (FSH) y luteinizante (LH) de la hipófisis, estrógeno, progesterona e inhibina de los ovarios y la prostaglandina del útero.

La destrucción del cuerpo lúteo en la vaca no preñada se produce entre los días 16 y 19 de su ciclo estral. El desarrollo folicular ovárico se caracteriza por la presencia de ondas de crecimiento folicular. Una onda ha sido definida como el desarrollo sincrónico de un gran número de folículos, seguido por la secreción y el crecimiento de un folículo dominante y la supresión de folículos subordinados. Durante el ciclo estral se produce el crecimiento de uno o dos folículos dominantes anovulatorios, previo a la maduración final del folículo ovulatorio. El crecimiento y maduración del folículo preovulatorio provoca un incremento en la secreción de estradiol, el cual causa cambios estrogénicos en el oviducto y útero, comportamiento del celo, y la liberación preovulatoria de FSH y LH. El pico preovulatorio de LH provoca el reinicio de la meiosis, ovulación y luteinización del folículo ovulado para formar el cuerpo hemorrágico. El cuerpo hemorrágico se transforma en cuerpo lúteo y provoca cambios en el oviducto y útero debido a la secreción de progesterona que permitirá el desarrollo embrionario y el establecimiento de la preñez. Si la preñez no ocurre, se destruirá el cuerpo lúteo y comenzará un nuevo ciclo estral. (Albarracin, 1.998)

3.4.1. Endocrinología de la Reproducción.

La definición clásica de hormona es: sustancia fisiológica, orgánica,

producida por células especializadas que pasa al torrente circulatorio para su transporte, con el objeto de estimular o inhibir la actividad funcional del órgano o tejido blanco. Muchas hormonas producen una amplia variedad de actividades. Las que controlan los procesos reproducidos se derivan principalmente de ciertas áreas del hipotálamo, hipófisis, gónadas, placenta y útero. (Hafez, 1.996)

3.4.1.1. Hormonas de la reproducción.

Hipotalámicas:

Oxitocina: Peptídica vida media corta. Contracción del músculo uterino, excreción de la leche, luteólisis

GnRH: Factor de liberación, decapeptido, síntesis y liberación de LH

Hipofisiarias Gonadales:

FSH: Glicoproteicas, sub-unidades de α y β estimula el crecimiento folicular y la síntesis de estradiol, hay receptores en la célula de la granulosa.

LH: Glicoproteicas, sub-unidades de α y β ; actúa en la ruptura de la pared folicular y ovulación; Hay receptores en las células de la teca interna y granulosa.

Prolactina: Proteica, interviene en la lactancia, comportamiento materno.

Gonadales:

Relaxina: polipeptídica, sub-unidades de α y β : CL de preñez; dilatación del cervix y vagina antes del parto.

Estrogenos: 18 C: estradiol 17 13, esterona y estriol; folículos: células de la teca y granulosa; comportamiento de estro, aumento de endometrio y miometrio; retroalimentación (+) y (-), de la liberación de LH y FSH.

Progestáneos: esteroides de 21 C; progesterona; CL, placenta y glándulas adrenales; prepara al útero para la implantación y mantenimiento de la preñez, desarrollo de alvéolo s mamarios, afecta los picos de L

Testosterona:

Esta hormona comienza su función desde el periodo fetal, cuando ayuda con la diferenciación de las estructuras internas y externas de los genitales masculinos y femeninos. Esta hormona estimulada por la LH.(Internet).

Uterinas:

Prostaglandinas: ácidos grasos no saturados; acción parácrina y endocrina; control de la presión sanguínea, lipólisis, secreciones gástricas, coagulación sanguínea, etc.

FGF2a: liposoluble; uterina; en bovinos atraviesa la vena utero-ovarica a la arteria ovárica, por un mecanismo de contracorriente, es luteolítica, estimula las contracciones uterinas y en el transporte espermático.

PGE2: actúa durante el parto; luteotrófica (Bó Y col, 1.998)

a) Hormonas hipotálamicas.

Oxitocina.- La oxitocina y la ADH (Hormona antidiurética), son dos hormonas peptídicas que sintetizan en el hipotálamo. y se almacenan en la neurohipófisis. La vida media de la oxitocina es muy corta (menos de 5 minutos) ya que es degradada rápidamente por las peptidazas del hígado y riñón. Las funciones fisiológicas de la Oxitocina son: la contracción de la musculatura uterina y modificación de los umbrales de excitabilidad del movimiento del útero. Durante el parto, la oxitocina actúa en el proceso de expulsión del feto, la contracción de los vasos umbilicales y la contracción del útero después de concluido el parto para asegurar la hemostasis.

También provoca el incremento de las contracciones del oviducto y de esta manera, interviene en el transporte, tanto de los gametos masculinos como de los femeninos. Los estrógenos facilitan la capacidad de reacción de la musculatura lisa a la oxitocina, mientras que la progesterona tiene un efecto inverso. Otra función de la oxitocina es la estimulación de las células mio-epiteliales de los alvéolos mamarios. (Bó y col, 1.998)

La oxitocina exógena ejerce una acción luteolítica en la vaca y la cabra. (Hafez, 1.996)

Hormonas liberadoras de Gonadotropinas.- Las sustancias que controlan la liberación de las hormonas hipofisiarias fueron inicialmente denominadas factores de liberación. A medida que se conocieron sus estructuras químicas, se las ha llamado hormonas liberadoras y su abreviatura genérica es RH. La GnRH es un decapeptídico (10 aminoácidos) con un peso molecular de 1.183 Daltons. Esta hormona induce la liberación tanto de la hormona luteinizante (LH) como de la hormona folículo estimulante (FSH) a partir de la hipófisis.

La síntesis de un gran número de análogos estructurales de la GnRH a tenido gran importancia en el establecimiento de las reacciones de estructura y actividad de esta hormona. Se ha sintetizado dos tipos básicos de análogos de GnRH. Los análogos antagonistas parecen unirse al receptor en la hipófisis pero induce la liberación de LH o FSH, y bloquea la acción de la hormona natural. Los estimulantes inducen la liberación de la LH Y FSH, al igual que la GnRH natural. (Bó y col, 1.998)

La función principal de la GnRH es inducir la síntesis y liberación de LH y FSH. Durante el ciclo estral la GnRH se va a secretar en pulsos. (Bó y col, 1.998)

b) Hormonas hipofisiarias gonadotrópicas

La adenohipófisis secreta tres hormonas gonadotróficas: folículo estimulantes, luteinizantes y prolactina.

Hormona Folículo Estimulante (FSH).- La hipófisis anterior secreta tres hormonas glucoprotéicas: la FSH, LH y TSH (Hormona Estimulante de la Tiroides). La vida media de la FSH va de 2 a 5 horas. (Hafez, 1.996 Y Bó Y col, 1.998)

En la hembra la FSH estimula el crecimiento de los folículos en el ovario y participa, junto con la LH, estimulando la síntesis de: estradiol en los folículos en desarrollo. Las células de la granulosa son las que poseen receptores para la FSH, y producen además de estradiol otra hormona llamada inhibina que actúa junto con el estradiol suprimiendo la liberación de FSH por la hipófisis. (Bó y col, 1.998)

Hormona Luteinizante (LH).- La LH es una glicoproteína compuesta por una sub-unidad de alfa y otra de beta con un peso molecular de 30000 Daltons y una vida media de 30 minutos los niveles tónicos o basales actúan con la FSH para inducir la secreción de estrógenos de los folículos ováricos.

Las células de la teca interna contienen receptores para la LH y mediante su estimulación producen andrógenos, estos luego pasan a través de la membrana basal a las células de la granulosa, donde mediante la acción de la FSH se induce a la degradación de los andrógenos para transformarse en estrógenos. El pico preovulatorio de la LH induce una cadena de reacciones enzimáticas que terminara con la ruptura de la pared folicular y la ovulación. El pico preovulatorio induce la activación del ovocito para que continúe con la meiosis o estimulará la formación del cuerpo lúteo. La LH es la principal sustancia lúteo trópica en animales domésticos. (Bó y col, 1.998).

Prolactina.- Es importante en ratas y ratones en donde posee propiedades lúteo trópicas. Sin embargo en las especies domésticas la LH es la principal hormona lúteo trópica y la prolactina es tal vez la de menor importancia. La prolactina interviene en la lactancia y actúa aparentemente a nivel de sistema nervioso central e induce el comportamiento materno. (Hafez, 1.996; Bó y col, 1.998)

c) Hormonas Gonadales

Relaxina.- La relaxina es secretada por el cuerpo lúteo del ovario durante la preñez. En algunas especies la placenta y el útero también secretan relaxina. En condiciones fisiológicas, se obtienen muchos de efectos de la relaxina cuando el tejido blanco ha sido sensibilizado por los estrógenos. La principal acción de la relaxina es la dilatación del cervix y la vagina durante el parto.

También inhibe las contracciones uterinas y provoca un incremento del crecimiento de la glándula mamaria si se aplica junto con estradiol. No existen productos comercialmente disponibles con relaxina. (Hafez, 1.996 Y Bó Y re: 1.998)

Inhibina.- Tanto la inhibina A como la B son inhibidoras de la secreción de FSH de la hipófisis, sin alterar la liberación de la LH. (Hafez, 1996 y Bó Y col, 1.998).

El mecanismo de acción (acción sistémica o de retroalimentación negativa) de la inhibina está aceptado mientras que todavía esta en discusión si la acción más importante de la inhibina es a nivel general o a nivel local (en el Ovario). (Bó y col, 1.998).

Estrógenos.- Se encuentran sustancias con actividad estrógena tanto en animales como en plantas. El principal estrógeno que se secreta en el ovario es el estradiol 17 B aunque estrona y estriol también son secretados en concentraciones menores. La producción de estradiol por parte del folículo es un proceso en el que intervienen tanto las células de la teca y de la granulosa, con el aporte de la LH Y la FSH en un mecanismo llamado de dos células, dos gonadotropinas. (Hafez, 1. 996 Y Bó Y col, 1.998).

Cuando el folículo crece, la FSH inducirá además la síntesis de receptores para la LH en las células de la granulosa, aumentando aún más la producción de andrógenos que luego son transformados en estrógenos por parte del folículo dominante.

De todos los esteroides, los estrógenos muestran las funciones fisiológicas más variadas: actúan en el sistema nervioso central para inducir el

comportamiento del estro de la hembra. (Hafez, 1.996).

Los estrógenos actúan en el útero haciendo que aumente la masa del endometrio y miometrio. Tal aumento se debe a la hiperplasia celular y la hipertrofia. También hace que aumente la actividad y la frecuencia de las contracciones mediante la potenciación de los efectos de la oxitocina la prostaglandina FG alfa. Los estrógenos estimulan el desarrollo de las características sexuales de la hembra.

Los estrógenos ejercen efectos de retroalimentación negativa y positiva en el control de la liberación de LH y FSH, a partir del eje hipo tálamo hipofisiario. El efecto de retroalimentación positiva está íntimamente correlacionado con los niveles de progesterona circulante. Durante la fase Luteal, es decir cuando tenemos un cuerpo lúteo funcional y altos niveles de progesterona circulante, el efecto del estrógeno sobre la gonadotropinas es negativo, en cambio en la fase folicular (Luego de la luteólisis y cuando nos aproximamos al celo), al no haber concentraciones altas de progesterona en sangre el estrógeno induce la liberación de la GnRH (pico preovulatorio de LH y FSH. (Bó y col, 1.998)

Progestágenos.- La progesterona es el progestágeno que se presenta en mayor cantidad en forma natural, y es secretada por células del cuerpo lúteo, la placenta y las glándulas adrenales.

La función de la progesterona es preparar al útero para la implantación y mantenimiento de la preñez, mediante el aumento de las glándulas secretoras del endometrio y la inhibición de su motilidad. Actúa en forma sinérgica con los estrógenos para inducir el comportamiento del estro en la oveja y de la vaca. Hace que se forme el tejido secretor (alvéolo) de la

glándula mamaria. . Concentraciones elevadas inhiben el estro y el pico ovulatorio de LH y afectará la frecuencia de los pulsos de LH, lo que hace evidente la importancia de esta hormona en la regulación del ciclo estral. (Hafez, 1.996 Y Bó Y col, 1.998)

d) Hormonas Uterinas.

Prostaglandinas.- A diferencia de otras hormonas las prostaglandinas no se localizan en un tejido en particular. La mayor parte de ellas actúan en el sitio en donde son producidas, por medio de una acción parácrina aunque también, se las puede transportar en la sangre, para actuar en un tejido blanco lejos del tejido de producción.

Las prostaglandinas existen por lo menos en seis compuestos principales y numerosos metabolitos que tienen gran variedad de efectos farmacológicos.

Intervienen en la presión sanguínea la hipófisis, las secreciones gástricas, la coagulación de la sangre y otros procesos fisiológicos como la función renal y respiratoria. En general, las concentraciones sanguíneas de prostaglandinas son bajas, pero se elevan en ciertas condiciones como en el parto. Son degradadas rápidamente en la sangre y solamente después de su inyección en dosis farmacológicas pueden obtener efectos fisiológicos notables. (Hafez, 1.996 Bó y col, 1. 998)

Todas las prostaglandinas son ácidos grasos no saturados de 20 carbonos. El ácido araquidónico es el ácido graso esencial, es el precursor de las prostaglandinas más relacionadas con la reproducción, en particular las prostaglandinas F₂; (PGF₂;) Y la prostaglandina E₂ (PGE₂).

Las PGF₂, tienen propiedades luteolíticas en animales domésticos. Si se retira de una vaca, cerda, oveja o yegua. El Cuerpo Lúteo no involucionará por lo menos durante el tiempo correspondiente a la gestación. El mecanismo durante el cual la PGF₂, llega del endometrio del útero al ovario en los rumiantes es único, ya que esta prostaglandina al ser liposoluble difunde las paredes de la vena útero-ovárica y pasa a la arteria ovárica y de ahí directamente al cuerpo lúteo. Esto es favorecido por la íntima relación existente entre la vena y la arteria de los rumiantes.

En animales domésticos, un incremento de los estrógeno que provoca un incremento en el crecimiento del miometrio del útero favorece la acción de la oxitocina, esta a su vez estimula la síntesis de PGF₂; y su liberación. (Bó y col, 1.998)

Además de la actividad luteolítica, la PGF₂; estimula las contracciones uterinas, desempeña una función en el transporte de los espermatozoides, tanto en la hembra como en el macho y provoca constricción de los vasos sanguíneos. (Hafez, 1996 y Bó Y col, 1.998)

La otra prostaglandina de interés en la reproducción, la PGE₂, actúa durante el parto, estimula la contracción del útero, dilata el cervix y los vasos sanguíneos y no tiene acción luteolítica, en realidad se cree que la PGE₂, tiene acción luteotrófica.

La PGF₂ interviene localmente en la ovulación de la vaca. Puede bloquearse la ovulación mediante la administración de indometacina, que es un inhibidor de la síntesis de prostaglandinas.

La liberación de LH no se afectará en estos animales, de tal manera que la

acción y síntesis de prostaglandinas se realizan probablemente en el folículo ovárico. (Bó y col, 1.998).

3.5. PARÁMETROS REPRODUCTIVOS DE LA VACA.

3.5.1. Estacionalidad de los ciclos sexuales.

Ciertos animales domésticos entre los que se encuentran la presentan normalmente ciclos estrales regularmente recurrentes a lo largo de su periodo de actividad reproductiva, tales . animales son denominados políestricos.

No obstante en condiciones semisilvestres en la que los toros conviven con las vacas todo el año, la monta se efectúa al final de la reproductor, sí no como resultado de la reacción del organismo complejo, dependiendo del medio ambiente en los cuales el animal tiene que equilibrarse según sus capacidades individuales y constitucionales. (Holy, 1.986)

3.5.2. Estro.

Durante la pubertad, surgen tipos rítmicos de conducta sexual. Este cambio de conducta (receptividad sexual) es llamado estro (del latín oistros que significa deseo imperioso, en términos populares se denomina celo) y tiene lugar en cada ciclo estral en las hembras sin estación reproductiva a menos que se interponga la preñez. (McDonald, 1.971)

En este periodo que es bastante definido comienza con la época de la primera aceptación y termina con la última aceptación del macho con duración media de 15 a 18 horas.

El ciclo estral o periodo de celo o estro es relativamente breve, dura sólo de 6 a 36 horas. (Salisbury 1.964)

Los síntomas son numerosos y de diversa intensidad. Jugando en la reproducción dirigida un papel importantísimo ya que nos ayuda a seleccionar las hembras para el proceso reproductivo en el momento adecuado. Las hembras en celo se las llama también alzadas, en calor o en celo.

Los síntomas principales son: se separan del rebaño observando a sus alrededores, hay mugidos, disminución del apetito, disminución de la producción de leche, busca, olfatea, persigue a otras vacas y reflejo de monta y fricción. (Holy, 1.986 y Sorensen, 1.982).

3.5.2.1. Fases del ciclo Estral.

La clasificación más antigua del ciclo estral se divide en 4 fases:

- a) Diestro:** En periodo de reposo sexual, dura aproximadamente nueve días, en los cuales se produce la involución del cuerpo lúteo. suficientes de estradiol como para iniciar el celo y la descarga preovulatoria de LH. (Callejas y col, 1.996 y Bó y col, 1.998).
- b) Fase Preovulatoria (estro y Metaestro)** Esta fase comienza con la receptividad al macho (hembra se deja montar por otras hembras y por el toro), e involucra todos los cambios que permite la ovulación y el comienzo de la formación del cuerpo lúteo. (Albarracin, 1.998)

En este periodo se producen importantes fenómenos: inicio del celo, onda

preovulatoria de gonadotrofinas y ovulación. El intervalo entre el inicio de la luteólisis y comienzo del celo es 58 a 60 horas aproximadamente. Los niveles de estradiol aumentan desde la regresión luteal hasta alcanzar los niveles máximos el día previo a la iniciación del celo. Dicha elevación de estradiol provoca el comportamiento propio del celo e induce la descarga preovulatoria de LH. Esta tiene una duración 6-10 horas, se inicia junto con el celo y alcanza su valor máximo (pico) 4 a 5 horas mas tarde. Durante el pico preovulatorio, la descarga de LH sigue un patrón pulsátil. (Albarracin, 1. 998 Y Bó Y col, 1.998)

El estradiol actúa mediante los siguientes mecanismos para desencadenar la secreción preovulatoria de LH. (Albarracin, 1.998 Y Bó Y col, 1.998)

1. Aumenta la sensibilidad hipofisiaria al estímulo de la GnRH.
2. Aumenta el número de receptores para GnRH en las células hipofisiarias.
3. Estimula la biosíntesis de gonadotropinas, dado el incremento que se observa en el contenido de ARNm para estas hormonas previo y durante la descarga de LH.
4. Aumenta el efecto preparador (self-priming effect) de la GnRH, eso es el proceso mediante el cual la GnRH incrementa la respuesta hipofisiaria a exposiciones sucesivas de la hormona.
5. Establece un mecanismo a nivel hipotalámico que culmina con la liberación de una descarga de GnRH, que a su vez induce el pico preovulatorio de Gonadotrofinas. (Bó y col, 1.998)

Las funciones principales de la LH son la estimulación de la maduración folicular final, la activación del ovocito para que continúe con la meiosis (se encuentra en profase 1, ovocito I.) y el mantenimiento del cuerpo lúteo. La descarga preovulatoria de LH ocurre al comienzo del estro,

concurrentemente con el pico de FSH.

Se cree que este pico de LH causa la ovulación e inicia la luteinización de las células de la granulosa y la teca. Generalmente la ovulación ocurre entre 24 y 30 horas después del comienzo de descargas preovulatoria de LH y FSH.

El pico preovulatorio de LH produce nivel ovárico un aumento de riego sanguíneo, se disocia el cumulus oophorus y en consecuencia se deja de inhibir la meiosis y se elimina el primer corpúsculo polar. Se produce un aumento y cambio en la secreción de esteroides que se manifiesta por un aumento de síntesis de progesterona. Esto produce edema y además, estimula la collagenasa de la teca que comienza a degradar el tejido conectivo que separa el folículo de la superficie ovárica y se inicia la formación del estigma (área extremadamente delgada del apéndice folicular).

Otro cambio que se produce es el aumento de los niveles de PGF2a.. Posteriormente las contracciones ováricas provocadas por la PGF2a producen la ruptura del folículo, el cual se contrae por la misma PGF2a e impulsa el ovocito. Después de la descarga preovulatoria, no se detectan pulsos de LH durante 6-12 horas, lo que refleja el agotamiento del contenido hipofisiario de esta hormona. Sin embargo la secreción de FSH continua y se produce un segundo pico que se debe a la remoción de la retroalimentación negativa de la inhibina al destruirse su fuente de producción (Folículo) al producirse la ovulación.

c) Fase Luteal (Diestro).

Esta fase se caracteriza por el dominio del cuerpo lúteo. (Callejas, 1.996). Después de la ovulación, las concentraciones de progesterona comienzan a

elevarse en los días 3 o 4, alcanzan un pico entre los días 8 y 12, Y luego disminuyen hasta concentraciones basales antes del próximo estro, como consecuencia a la secreción uterina de PGF2a y en ausencia de un embrión viable en el útero. (Bó y col, 1.998) c) l. Formación del cuerpo Lúteo

El factor Luteotropico más importante en la vaca parece ser la LH, aunque también tiene participación la FSH, PGI2, PGE2, e IGF-1 (Bó y col, 1.998)

El cuerpo lúteo en su desarrollo máximo sobrepasa el volumen del folículo de Graff y prolapsa en forma de botón amarillo sobre la superficie del ovario. La formación del cuerpo amarillo sobre la superficie del ovario es muy rápida, a los 4 o 6 días después de la ovulación es posible palparlo por vía rectal. El cuerpo lúteo alcanza su desarrollo máximo a la mitad del ciclo estral (9-12 días) y tiene entonces un color amarillo oro. Cuando el óvulo es fecundado, el cuerpo amarillo persiste como cuerpo amarillo de gestación y su función hormonal protege el curso de la gestación. (Holy, 1.986).

Cuando la ovulación pasa sin fecundación, el cuerpo lúteo, al acabar su desarrollo y funciones máximas involuciona y a los 16 días del ciclo estral comienza a perder su tamaño y su función hormonal (Bó y col, 1.998).

En animales viejos, las funciones del cuerpo luteo declinan como consecuencia de:

- Una incapacidad de las células foliculares (granulosa y teca interna) para responder completamente al estímulo hormonal.
- Cambios en la cantidad, calidad o ambas en la secreción hormonal. Una reducción del estímulo para la secreción hormonal. (Hafez, 1.996)

La región del cuerpo amarillo se sucede por el reemplazo de las células luteínicas por células fibrosas y toma color amarillo claro, esta cicatrización recibe el nombre de cuerpo albicans, fibroso y cándidos. (Hafez, 1.996 y Holy, 1.986)

Dinámica Folicular Ovárica.- Durante el ciclo estral bovino los folículos se desarrollan y regresan en procesos ordenados llamados "ondas de desarrollo folicular". Se han descrito animales con dos, tres y cuatro ondas foliculares en el ciclo estral. (Callejas, 1.996 Y Bó Y col, 1.998)

Generalmente la primera onda comienza el día de la ovulación, mientras que la segunda, tercera y cuarta onda comienza en momentos muy variables. La dinámica folicular ovárica está principalmente regulada por la glándula pituitaria anterior, que controla la función ovárica a través de la síntesis y secreción de FSH y LH. La función principal de la FSH es estimular el crecimiento de ondas de folículos ováricos estrales. Las concentraciones de FSH en el suero o plasma aumentan hasta un pico 1 o 2 días antes del comienzo de una onda. Hay un gran pico más pequeño y secundario alrededor de las 24 horas mas tarde que es la clave para iniciar la primera onda de crecimiento folicular. (Bó y col, 1.998)

d) Luteólisis.

La secreción de PGF₂ por el útero causa la regresión del cuerpo lúteo y consecuentemente finaliza la fase lútea. Después de aproximadamente 14 días bajo la influencia de la progesterona secretada por el cuerpo lúteo. El endometrio secreta pulsos de PGF₂ (cada uno dura aproximadamente seis horas) por un total de aproximadamente 36 horas.

Todavía existe controversia sobre el mecanismo de la luteólisis en el cual intervienen diferentes hormonas provenientes de los folículos ováricos (estradiol), el cuerpo lúteo mismo (oxitocina) y el endometrio (PGF₂). Aparentemente, la clave para que ocurra la luteólisis esta relacionada con la activación de receptores endometriales uterinos para la oxitocina por parte del estradiol. (Bó y col, 1.998)

El estradiol proviene del folículo dominante, interactúa con sus receptores endometriales e induce la síntesis de receptores para la oxitocina. Luego la oxitocina circundante (la cual provienen en primera instancia de la neurohipófisis y luego del cuerpo lúteo) se une sus receptores, activa la fosfolipasa A, libera el ácido araquidónico e induce la cascada sintética de araquidónico que lleva a la producción de PGF₂ uterina. La PGF₂ sale del útero por el sistema venoso y llega al ovario por el sistema arterial, estimula a su vez la liberación de oxitocina por el cuerpo lúteo, y la oxitocina luteal induce una secreción de PGF₂ por el endometrio y establece un feed back positivo entre ambas hormonas que conduce al aumento de los niveles de PGF₂ con la consecuente destrucción del cuerpo lúteo.

Este mecanismo de retroalimentación positiva de la oxitocina del Cuerpo Lúteo al ovario y de la PGF₂ del útero hacia el cuerpo lúteo sirve probablemente como un mecanismo para asegurar que la luteolisis ocurra. La oxitocina administrada exógenamente en los días 5 a 8 del ciclo puede inducir la regresión del cuerpo lúteo pero únicamente si el útero está presente. (Bó y col, 1.998)

Existen tres teorías sobre el mecanismo por el cual la PGF₂ inicia la regresión luteal:

1. Que la PGF₂; es un vasoconstrictor, causa la constricción de los vasos que provee el flujo sanguíneo al cuerpo lúteo por lo tanto este regresa por isquemia.
2. Que al unirse la PGF₂; con los receptores en las células luteales grandes induzcan una disminución de la secreción de progesterona induzca la lisis celular incrementando las concentraciones intracelulares de Ca⁺⁺. Este Ca⁺⁺ llevará a la degradación de las células luteales a través de una estimulación de las endonucleasas que fragmentan el ADN.
3. Que ocurra por una combinación de las dos teorías' anteriores. (Bó y col, 1. 998)

Usualmente se dice que la PGF₂; inducirá la luteolisis a partir del día 5 Y se pensaba que estaba relacionado con la capacidad del cuerpo lúteo de sintetizar receptores de PGF₂;. No obstante se ha demostrado recientemente que la concentración y afinidad de receptores PF₂;. altamente especializados en el Cuerpo Lúteo del bovino son similares en los días 2, 6 Y 10 del ciclo estral, no pudiendo explicar la falta de respuesta luteolítica del CL a la PF₂; antes del día 5 del ciclo. (Bó y col, 1.998)

3.5.2.2. Duración del Ciclo Estral.

Los resultados de diversos trabajos que indican que el ciclo estral para la vaca es de 21 más menos 3.68 días en vacas y más menos 2.33 días en novillas, pero que muchas hembras vuelven a entrar en celo a intervalos mayores o menores que el promedio esperado. Un informe al respecto señala que 30% de todos los ciclos estrales son menores de 17 o mayores a 25 días, y como regla general, cada vaca o vaquillona tienen su duración de ciclo personal. Es decir que existen pocas variaciones en la duración del ciclo en un mismo animal, pero existen mayores diferencias entre los ciclos de

distintas vaca o vaquillonas. (Albarracin, 1.998 y McDonal, 1.971)

3.5.2.3. Duración del periodo de Celo.

El celo es de corta duración, con una media de 15.a 19 horas, estas variaciones se presentan en novillas, las cuales tienen un periodo de celo más corto que las vacas. Por otro lado, los animales que empiezan a presentar calores por la tarde, permanecen en tal estado 2 a 4 horas más que los que inician el celo por la mañana. (McDonal, 1.971 y Salisbury, 1.964).

La duración media del estro, tanto para vaca lechera como para la de carne es de 18 horas y se considera normales periodos de 12 a 24 horas. La duración media del estro parece que es sólo de 12 a 13 horas en vacas de razas europeas en un clima subtropical. La ovulación se produce de 10 a 12 horas de terminado el estro, tanto en vacas lecheras como en las de carne, considerándose normales los intervalos de 6 a 15 horas.

Parece que no se producen frecuentemente ovulaciones tardías y han. tenido poco éxito los intentos de mejorar la fertilidad en las vacas que se repite mediante tratamientos aceleradores de la ovulación durante el estrus.

El comienzo del estro es un fenómeno gradual y resulta difícil identificar los momentos precisos en que realmente se inicia, ya que depende de muchos factores, el principal de los cuales es el cambio de conducta de la hembra y el macho. La duración del estro suele basarse en el periodo de aceptación del macho. La raza y la temperatura ambiental pueden influir en la duración del estro (McDonal, 1.971)

Diversos estudios más recientes demuestran que tanto el acoplamiento fértil, un servicio estéril y el acto de la Inseminación Artificial acortan la duración del celo.

Naturalmente, una serie de factores influyen sobre la duración del estro. Uno de ellos, como ya se dijo, es el acoplamiento, otro es el estado de lactación de la vaca. Así se sabe que en vacas de razas para carne con cría al pie la duración del celo es menor que en vacas secas, (Ortowski, 1.981)

3.5.2.4. Dinámica folicular en el bovino adulto

Los estudios que utilizaron la ultrasonografía para monitorear la población folicular en diferentes categorías por tamaño o folículos individualmente identificados han documentado convenientemente que el crecimiento folicular ocurre simulando ondas y que la mayoría de los ciclos estrales en bovinos comprenden dos o tres de dichas ondas. Además el patrón de ondas de desarrollo folicular ha sido documentado durante el comienzo de la preñez, más recientemente en terneras puberales. (Bó y col, 1.998)

La dinámica folicular ovárica produce a través de estadios integrados de reclutación y dominancia folicular. Este es un proceso recurrente, en el cual uno o dos folículos dominantes anovulatorios desarrollan, previo al folículo ovulatorio. El reclutamiento es un proceso en el que un conjunto de folículos antrales comienza a crecer en medio con suficiente soporte gonadotrófico que permita progresar hacia la ovulación. La selección es un proceso por el cual un folículo evade la atresia y adquiere competencia para alcanzar la ovulación.

La dominación es el medio por el cual el folículo seleccionado inhibe el

reclutamiento de una nueva serie de folículos. (Albarracin, 1.998 y Bó Y col, 1.998).

a) Ondas foliculares.

Una onda folicular involucra el desarrollo sincrónico de un grupo de folículos. Está caracterizada por el desarrollo de un gran folículo dominante, el cual es anovulatorio si ocurre durante la fase luteal y ovulatorio si ocurre en la fase folicular; y varios folículos que invariablemente se atresian. Algunos investigadores han observado una preponderancia de ciclos de dos ondas, mientras que unos indican una preeminencia de tres ondas, especialmente en ganado cebuino. Sí bien los factores que afectan el desarrollo folicular no han sido enteramente dilucidados se les atribuye factores como el nivel nutricional, especie, edad, anestro lactacional. (Bó y col, 1.998)

Para el patrón de dos ondas, la primera onda comienza, en promedio, el día O (Día de la ovulación) y la segunda comienza el día 10. Cada onda esta compuesta de varios folículos individualmente identificables a partir de un diámetro de 4 mm. Se describieron en el desarrollo del folículo dominante de la primera onda una fase de crecimiento (día O a 6), una fase aparentemente estática (día 6 a 12) y una fase de regresión (día 12 en adelante). El folículo dominante en la segunda onda es el ovulatorio y el diámetro máximo alcanzado no difiere de la primera onda (promedio 16 mm). Los folículos subordinados de cada onda incrementan su diámetro promedio de 8 mm tres días después de la emergencia de la onda, luego tienen una pequeña fase estática y luego regresan. Para el patrón de tres ondas, la emergencia de las ondas ocurre en promedio en los días 9 y 16. Las dos primeras son anovulatorios. (Bó y col, 1.998)

b) Manipulación del desarrollo folicular.

Hay varios métodos por los cuales se pueden controlar la dinámica folicular del bovino. La mayoría de los tratamientos han sido orientado hacia la eliminación del efecto del folículo dominante (por medios físicos u hormonales) y de esta manera permitir el comienzo de una nueva onda folicular en un determinado periodo de tiempo conocido. Las bases de este procedimiento derivan de estudios en los cuales la eliminación del folículo dominante o su supresión mediante tratamientos con la fracción proteica del Fluido Folicular Bovino (BBF), fueron seguidos de un pico de FSH y comienzo de una nueva onda folicular. Los tratamientos estudiados incluyen la utilización de Gonadotrofina Corionica humana (hCG) o análogos de gr., que inducirán a la ovulación o la luteinización del folículo dominante.

Otros métodos incluyen la aspiración de todos los folículos mayores o iguales a 5 mm., Mediante ultrasonografía transvaginal, utilizando el mismo método que el de obtención de ovocitos para FIV (Fertilización in gr. , también llamada ablación folicular), o. la supresión de los folículos antrales mediante la utilización de estrógenos y progestágenos. (Bó y col, 1.996 y Bó Y cQI 1.998). (Tatcher y col.).

Han trabajado en Florida sobre el programa de sincronización de ovulaciones y los han puesto a prueba en sistemas reproductivos en diferentes condiciones de estrés calórico, el estudio demostró que un programa de inseminación a hora prefijada incluyendo el uso de un agonista de gr. durante los periodos de estrés por calor, puede eliminar la necesidad de detección de celos y mejorar la tasa de preñez a 120 días pos parto. (Bó y col, 1.998)

3.6. INSEMINACION ARTIFICIAL

La Inseminación Artificial (LA.) consiste en depositar el espermatozoides por vía instrumental en el útero de la hembra antes de que ocurra la ovulación. El semen, recogido mediante el uso de una vagina artificial o por electroeyaculador, es diluido, congelado o no, y depositado en el cuerpo del útero por vía vagino-cervical. (Bó y col, 1.998)

Una vez se ha identificado la hembra en celo se debe constatar que esté debidamente señalada (caravana, tatuaje o marca) y perfectamente inmovilizada. Se debe lavar bien la zona del recto y vulva con agua, luego secar con toallas de papel para evitar contaminación y contacto con la punta del pistolette o pipeta con agua. Está se debe introducir abriendo los labios de la vulva con un ángulo de 45° y la punta del pistolette hacia el techo de la vagina hasta que tope (20-25 cm). Luego se introduce la mano enguantada y lubricada por el recto para no producir daños (utilizar lubricante no irritante), se toma el cuello del útero llevándolo hacia delante para evitar la formación de pliegues en la vagina que puedan dificultar la franca llegada del pistolette al canal cervical. (Bó y col, 1.998)

Una vez que la punta del pistolette se encuentra tocando el cervix se debe tratar de introducirlo en la luz del canal cervical y luego realizando movimientos del cuello uterino se irá pasando a través del cervix hasta llegar al cuerpo del útero donde se debe realizar la siembra. (Bó y col, 1.998)

3.6.1. Temperatura de almacenamiento y procedimientos de descongelado del semen.

El semen se almacena en nitrógeno líquido a una temperatura de – 160° C y

nunca debe calentarse más de -130°C , esta temperatura se encuentra en la base del cuello del termo. (Bó y col, 1.998)

Para Pajuelas, se debe descongelar en aguas de 35 y 37°C durante 30 segundos. Una vez descongelado mantenerlo en el mismo baño a 35°C hasta el momento de la I.A. La Inseminación debe realizarse dentro de los 15 minutos de descongelado. (Bó y col, 1.998).

3.6.2. Lugar de deposito del semen.

Se debe hacer todo el esfuerzo para depositar el semen en el cuerpo del útero (localizando la punta de la pipeta), si se realiza en el cerviz, un mayor porcentaje de espermatozoides serán expulsados hacia la vagina, debido a que existen dos fases de transporte espermático: una rápida donde los espermios son transportados hasta el oviducto sin la participación activa de estos y otra lenta donde los espermias pueden permanecer hasta 18 horas en la región caudal del Istmo del oviducto donde adquieren la capacidad fecundante y luego avanzan hasta el sitio de fertilización cerca de la unión del Istmo con el ámpula. (Bó y col, 1.998)

3.7. TRANSFERENCIAS DE EMBRIONES

La transferencia de embriones es una técnica por la cual los embriones son colectados de una hembra donante y transferidos a una hebra receptora que sirve como madre substituta durante la preñez. este proceso usualmente requiere el uso de gonadotrofinas para inducir superovulación en la donante y por otro lado, sincronizar las futura recipientes para que estén en celo y ovulen al mismo tiempo que las donantes. (Tribulo y col, 1.998)

La técnica de transferencias de embriones (T.E.) incluye varias etapas, desde la selección de las donantes hasta la transferencia del embrión. (Ortiz, 1.999). Las principales etapas y técnicas relacionadas son las siguientes:

- Elección de la donante. Selección y manejo de las receptoras
- Superovulación. Selección del semen. Recolección de los embriones
- Clasificación de los embriones. Criopreservación. Transferencia de los embriones

3.7.1. Elección de la donante

El valor de la donante puede ser definido de acuerdo a diferentes criterios según los beneficiados. Sin embargo, en el caso de la aplicación práctica de la técnica para el mejoramiento genético del ganado, debemos escoger las vacas genéticamente superiores como donadoras. (Ortiz, 1.999)

Los requisitos generales para una donadora son:

- a) Genealogía, con antepasados superiores en producción y conformación. (Ortiz, 1.999)
- b) El animal debe presentar fenotipo que lo coloque como destaque dentro de la raza. (Ortiz, 1.999)
- c) Debe tener una vida reproductiva normal y conocida. Con ciclos estrales normales. Su primer parto debe ocurrir en la edad que corresponde a la medida de la raza; presentar intervalo entre partos variando entre 12 y 18 meses, de acuerdo con cada raza, debe preñar con facilidad a través de inseminación artificial; también es importante registrar el histórico del último parto antes de iniciar el trabajo. Debe poseer una buena habilidad materna, teniendo ya destetados en partos anteriores un ternero pesado. Debe ser una vaca que ya tenga producidos becerros superiores dentro del programa de mejoramiento del rebaño. (Teixeira, 1.999)

- d) Excelente salud y no debe tener una enfermedad hereditaria la matriz debe ser bien conocida debido a que algunas dolencias reproductivas y productivas no impiden que una vaca pueda ser donadora, siempre y cuando podamos mantener al animal aislado del rebaño. (Ortiz, 1.999 Y Teixeira, 1.999)
- e) e) Poseer un alto valor en el mercado. (Ortiz, 1.999) f) No ser demasiado vieja. (Ortiz, 1.999)

3.7.2. Selección y manejo de las receptoras.

La receptora juega un papel fundamental dentro de un programa de transferencia de embriones, ya que sin ella nunca podremos obtener el producto. Existen varios factores que se deben tomar en cuenta en cuanto a la selección y manejo de las receptoras.

Se debe procurar trabajar con vaquillas que tengan un buen desenvolvimiento corporal, escoger las que demuestren una buena habilidad lechera y siempre procurar animales mansos. (Teixeira, 1999).

Dos de los factores de manejo que determinan el éxito o fracaso de un programa de sincronización son nutrición e intervalo postparto. (Teixeira, 1999) Cuando las receptoras son clasificadas de acuerdo a su estado nutricional en el momento de la transferencia, en una escala que va de 1 (flaca) a 5 (gorda), los índices de preñez son superiores en las receptoras calificadas con una condición corporal de 3 y 4. (Tribulo y col, 1998)

Otros factores de nutrición que se deben tener especial cuidado son las deficiencias de minerales como fósforo y cobre. Si vamos a utilizar vacas con cría, éstas deben tener al menos un intervalo post-parto de mas de 50 días y

un tracto reproductivo normal a la palpación o si es posible, haber ciclado 3 veces antes de entrar al programa de sincronización.

Si elegimos vaquillas como receptoras, estas deben tener un peso de mas de 300 Kg, tener un estado óptimo y ciclar normalmente (cada 17 a 25 días). (Tribulo y col, 1998).

Uno de los principales factores a tener en cuenta cuando iniciamos un programa de transferencia de embriones en un establecimiento es el costo de la receptora que tiene una alta incidencia en el costo total del programa; Una de las formas de disminuir los costos de las receptoras es utilizar vacas del mismo establecimiento sin alterar el sistema de producción.

No se deben descuidar los aspectos sanitarios del rodeo y especialmente el de la receptora, estas deben poseer un examen negativo para: brucelosis, tuberculosis, leptospirosis y otras enfermedades reproductivas presentes en el área. O caso contrario deben estar vacunadas contra estas enfermedades, mas IBR-BVD, clostridiosis, aftosa y rabia. También es necesario mantener un buen control de endo y ectoparasitos sobre ellas. (Teixeira, 1999) Tampoco se debe descuidar la disponibilidad del personal e instalaciones adecuadas, en lo posible el personal afectado en la detección de celo debe llevar y recopilar datos precisos y detallados,. Las instalaciones deben ser funcionales y seguras tanto para el operados como para los animales, especialmente si las receptoras son Bos Indicus o cruza.

Además es importante contar con un techo sobre la manga y en lo posible con una pequeña habitación que pueda permitir la instalación de microscopios y demás materiales necesarios a una corta distancia de la manga. (Tribulo y col, 1998)

Otro factor muy importante es la sincronía del celo de la receptora con la donante, la diferencia de celo de las receptoras con la donante no debe ser de mas de 24 horas (24 Hrs. Antes o después)

3.7.3. Sincronización del ciclo estral

Afortunadamente existen tres métodos para la sincronización de los celos de las donantes con las receptoras.

a) Celo natural

Una manera de tener cinco receptoras preparadas para el día de la colecta es tener un hato numeroso y observar la presentación de los naturales. En un hato de 40 receptoras vacías y ciclando con los distribuidos al azar, se puede esperar tener dos en celo (5%) un día antes que la donadora (día -1), dos en el mismo día de la donante (día 0) Y dos en celo un día después de la donante (día + 1).

Mantener un gran número de receptoras y utilizar los celos naturales es la mejor estrategia de sincronización cuando se transfiere gran número de embriones a lo largo del año. (Ortis, 1999).

b) Prostaglandinas F2

Se conoció entonces que las prostaglandinas se encuentran en la mayoría de los tejidos como pulmón, timo, músculo esquelético, fluido menstrual líquido amniótico, intestinos, sangre, tejido graso, etc. Actúan en o muy cerca del lugar en donde se producen y se destruyen rápidamente en circulación, pues de lo contrario debido a su gran actividad biológica, inducirán efectos

generalizados indeseables. Esto hace que sea muy difícil aislar las prostaglandinas naturales en cantidades comerciales y que la mayor parte de las prostaglandinas que se usen a nivel comercial sean de origen sintético.

De modo que las prostaglandinas disponibles se pueden dividir en tres grupos:

➔ **Naturales de extracción** Prostaglandina $F_{2\alpha}$

Naturales ➔ Dinoprost

➔ **Sintéticas**

Análogos ➔ Clorprostenol

➔ Luprostiol

Las primeras, difíciles de obtener, no siempre garantizan un alto grado de pureza. Las naturales de síntesis tienen la fórmula idéntica a las hormonas que se encuentran en los tejidos; en el caso de la PGF_{α} , para sus acciones a nivel reproductivo de los bovinos, se utiliza dosis de 25 a 40 miligramos. Los análogos sintéticos tienen el sitio activo de la molécula similar, pero el resto de la molécula depende del análogo (150 a 800 microgramos), lo cual reduce el riesgo potencial de efectos secundarios. (Bó y col, 1.998)

Existen un sin número de tratamientos con $PGF_{2\alpha}$, con una o dos dosis. Cuando se utiliza una sola dosis se debe palpar a los animales para verificar la presencia del cuerpo lúteo ya que la PGF_{α} solo actúa entre los días 6 y 16 de ciclo, otra alternativa es hacer un banco de receptoras y solo colocarle una inyección a aquellas que estén entre los días 6 y 16 del ciclo estral, con lo que las vacas - presentaran celo entre las 48 y 72 horas. El objetivo de utilizar la segunda dosis en el día 11 o 14, es de que todos los animales posean un cuerpo lúteo sensible a la $PGF_{2\alpha}$ y entren en celo

aproximadamente a las 68 horas.

c) Progestágenos.

Dentro de los Progestágenos más difundidos en Norteamérica podemos citar a los de administración oral como Acetato de Melengestrol (MGA), este funciona muy bien en los lugares donde se tiene a los animales estabulados. Los compuestos mas difundido en nuestro medio son los implantes subcutáneos de Norgestomet, Syncro-mate-B y Crestar, el otro grupo bastante utilizado son los dispositivos intravaginales con progesterona, CIDR y PRID. Norgestomet

d) Implantes Subcutáneos.

Es un progestágeno sintético que es utilizado en dos productos comerciales Syncro Mate B (SMB) (merlal) y Crestar (Intervet). Syncro Mate B es un implante "Hydron" que contiene 6 MG de Norgestomet y Crestar es un implante "silástico" que contiene 3 MG de norgestomet.

Estos implantes son colocados subcutáneamente en la oreja y ambos productos vienen acompañados de una inyección que contiene 5 MG de valerato de estradiol (EV) y 3 MG de Norgestomet (N) que se administra en el mismo momento en que se coloca el implante. Los implantes son extraídos 9 días después. Las vacas presentarán celo alrededor de las 36 horas. Aun que aparentemente la dosis son distintas, la liberación en la circulación es similar y es debido a la diferente composición química del implante. (Bó y col, 1.998)

El uso de estos progestágenos en reproducción ha sido estudiado por más

de 30 años. Cuando todavía no se contaba con PGF en el mercado, investigadores de esa época encontraron que la inyección de 5 MG de estradiol podía inducir la regresión de Cuerpo Luteo. Posteriormente, con el advenimiento de los progestágenos sintéticos se decidió combinarlos con estrógenos para utilizarse en sincronización de celos en bovinos. De esta manera se desarrollo el tratamiento de SMB y Crestar, es decir, el implante más la inyección de Smg de EV y 3 MG de N. La idea es que el EV induce la lúteo lisis y la inyección permite tener altos niveles inmediatos del progestágeno que luego serán mantenidos con la liberación lenta del implante subcutáneo. Este tratamiento ha sido utilizado por gran cantidad de productores en todo el mundo para sincronizar celos de vaquillonas y vacas pos parto. (Bó y col, 1.998)

El estrógeno que acompaña al implante es el Valerato de Estradiol (EV), tiene una vida media larga de 7 días. Se ha observado por ultrasonografía que los folículos presentes en el momento del tratamiento (SMB y la inyección de NorgestoMet más EV) disminuyeron su tamaño por un periodo de 5 días, para luego volver a aumentar debido al crecimiento de una nueva onda folicular (el intervalo promedio es de 5,7 días) (Bó y col, 1.998)

c) Dispositivos Intravaginales.

El CIDR B (INTER – AG) es un implante vaginal que contiene 1,9 g de progesterona natural. (Ortiz, por publicar). CIDR B, funciona de la misma manera que los implantes subcutáneos y se puede utilizar el mismo tratamiento, aunque también se puede combinar con PGF2 α . El día del retiro del dispositivo varia con el tipo de tratamiento que se utilice. Los productores en todo el mundo para sincronizar celos de vaquillonas y vacas pos parto. (Bó y col, 1.998)

El estrógeno que acompaña al implante es el Valerato de Estradiol (EV), tiene una vida media larga de 7 días. Se ha observado por ultrasonografía que los folículos presentes en el momento del tratamiento (SMB y la inyección de NorgestoMet más EV) disminuyeron su tamaño por un periodo de 5 días, para luego volver a aumentar debido al crecimiento de una nueva onda folicular (el intervalo promedio es de 5,7 días) (Bó y col, 1998)

3.7.4. Selección del semen.

La. Capacidad- fecundante del semen en la transferencia de embriones (TE) es de gran importancia. Antes de iniciar un programa de superovulación, se debe seleccionar al reproductor que va a ser usado, debiendo este ser un toro probado y cumplir con los objetivos que persigue la cabaña, para luego hacer un examen de la partida de su semen. Se a observado en la practica que es de gran ayuda el test de TTR “lento” (test de termo-resistencia), se debe dejar el semen durante 4 horas a 37°C. Dependiendo del resultado del TIR, se hacen dos o tres inseminaciones. Semen con motilidad encima de 25% y vigor mayor o igual a 3 son de buena calidad para la TE. (Teixeira, 1999). También se debe examinar la calidad seminal, donde se mide el: volumen, densidad, motilidad, % de vivos y muertos y el % de anomalías espermáticas. (Tríbulo y col, 1998).

3.7.5. Recolección de los embriones

3.7.5.1. Medio, instrumental y drogas necesarias.

a) Medio de recolección

Los siguientes medios pueden ser utilizados para la recolección de

embriones; Ambos medios deben ser suplementados con Albúmina de Suero bovino (BSA, fracción V) ó 1 a 20/0 de suero de ternero inactivado. Si el medio carece de estas proteínas, los embriones fácilmente se adhieren a la superficie plástica de las placas de Petri. PBS modificado (solución tampón de fosfato), ó. Solución de Ringer-lactato. (Ortiz, 1.999 Y Saito, 1.992

b) Instrumentos

- Catéter de Foley (16, 18 ó 20 G) ó catéter balón para vacas . Mandril para el catéter de Foley. Dilatador de cervix. Manguera de silicona con conectar en Y, pinzas de Kocher o clamps.
- Filtro para embriones (Em Con, Curtíss, FHK, etc.) . Jeringas desechables de 5, 20 Y 50 ml y agujas.
- Inyector intrauterino
- Guantes de palpación.
- Algodón.
- Toallas de papel.

c) Drogas

- Alcohol etílico al 70% Desinfectante (Cloruro de Benzalconio al 0, 1 %)
- Xilocaina al 2%.
- Solución de iodo-povidona al 2% (2mg Yodo disponible por ml. Prostaglandina).

3.7.5.2. Procedimiento de la recolección.

La recolección de los embriones bovinos se realiza entre los días 6 a 8

después del celo (celo =día O), 10 que produce embriones adecuados para la transferencia y congelación

En el día 7 la mayoría de los embriones están en la parte anterior del cuerno uterino. (Tribulo y col, 1.998 Y Ortiz, 1.999 Y Saito, 1.992)

El proceso de recolección es el siguiente:

Preparación palpar el tracto genital para confirmar su tamaño y condición, y además de estimar el número de cuerpos lúteos y folículos no ovulados.

- Se entibia un litro de medio de lavaje en un baño María a 37°C antes de utilizado, luego se conecta el sistema de mangueras que llevaran el medio hasta el catéter balón y se deben llenar con el medio de lavaje tanto la manguera de entrada como de salida.
- Se debe lubricar tanto el interior como en exterior del catéter con medio de lavaje antes de fijar el mandril o estilete.(Ortiz, 1999 y Saito, 1992)

Anestesia epidural.

Se corta el pelo de la base de la cola y se desinfecta el lugar con alcohol al 70% Y se procede a colocar 5 ml de xilocaina al 2% entre el sacro y la primer vértebra coccígea. El lugar correcto de la inyección puede ser confirmado por la presión negativa que se encuentra.(si el lugar es el adecuado, cuando se colocan unas gotas de anestésico a la aguja, estas son aspiradas). (Ortiz, 1.999 y Saito, 1.992)

3.7.5.3. Clasificación de los embriones.

No hay duda que la localización, identificación, manipulación, clasificación

evaluación de los embriones son tareas más difíciles que debe enfrentar aquel que esta aprendiendo el transplante de embrionario.(Tribulo y col, 1998).

3.7.5.4. Búsqueda y manejo de los embriones.

Los embriones se buscarán a 10X o 15X de magnificación. El medio de colección se deja sedimentar en una probeta de 500 ml por 20-30 minutos, luego de finalizada la colección. El sobrenadante se extrae por sifón hasta que el medio baje a la marca de 50 ml. Lo que queda en la probeta se coloca dentro de placas de Petri estériles y descartables (100 x 15 mm) y se busca con una magnificación de 10X. Se pasa el sobrenadante (450 ml) por un filtro de plankton de 50µm como paso final para recuperar cualquier óvulo o embrión que haya quedado. (Tribulo y col, 1.998)

Actualmente también se puede filtrar directamente todo el medio de colección utilizando filtros descartables estériles (Vet Concepts Spring Valley, USA). Finalizando el filtrado se lava el filtro con PBS utilizando una jeringa y aguja fina y el fluido de lavado es colectado en una caja Petri y se procede a la búsqueda. (Tribulo y col, 1.998)

Se pone una placa cuadriculada debajo de la placa Petri para facilitar la búsqueda. En cada placa de busca dos veces, más luego de encontrado el ultimo embrión. Finalizada cada búsqueda se realiza un movimiento rotativo con la placa para despegar algún posible embrión adherido a los bordes. A medida que se van encontrando los, embriones se los va colocando en una placa de Petri pequeña que contiene el medio de mantenimiento (PBS + 10-20% FCS). Para cambiar los embriones de placa se utiliza una micropipeta conectada a una jeringa de 1 ml, (tuberculina) o catéter estéril. Cuando la.

Búsqueda sé a completado los embriones son evaluados y colocados en el medio de mantenimiento fresco. Luego son lavados al menos tres veces, preferentemente 10 veces.(Tribulo y col, 1.998).

Antes de ser transferidos los embriones son nuevamente colocados en un medio fresco. Si los embriones se van a conservar por más de 6 horas deberían ser colocados en medios de cultivo frescos

dentro de un tubo de ensayo y luego colocados en un vaso en la heladera.(Tribulo y col, 1.998)

3.7.5.5. Identificación de los embriones

El diámetro de un oocito es de aproximadamente 150-190 μm , incluyendo el grosor de la zona pelúcida (12-15 μm). El diámetro del oocito permanece prácticamente sin variación desde el estado de una célula hasta el estado de blastoeisto expandido.(Tribulo y col, 1.998).

El número de células en que se divide un embrión puede ser contado sin dificultad hasta el estado de 16 células. Hasta este estado los embriones se dividen geométricamente, después las células se dividen sincrónicamente y la individualización se hace dificultosa.

Cuando el embrión alcanza el estado de 32 células se produce la compactación, en la cual los blastómeros pierden su forma esférica y comienzan a adherirse entre ellas. En este estado el embrión recibe el nombre de MORULA. (Tribulo y col, 1.998)

Los blastómeros comienzan a diferenciarse dando origen a dos tipos de

células, las células del trofoblasto y macizo celular interno (MCI). Las primeras darán origen a la placenta y el MCI dará origen al feto. Es más fácil distinguir el MCI cuando el embrión se encuentra en estado de blastocisto que en el estado de morula. El blastocisto se caracteriza por tener una capa de células de trofoblasto que rodean una cavidad o blastocele. (IRAC, 1.998)

La individualización de embriones 8-10 días de edad es difícil ya que la zona pelúcida se pierde durante estos días y el embrión puede ser confundido con grupos de células desprendidas del endometrio al momento del lavado. (Tribulo y col, 1.998)

La zona pelúcida refleja la luz del microscopio observándose como una estructura transparente. El color de los blastómeros es más oscuro que el debris celular, lo que ayuda a la búsqueda del oocito.

Es buena práctica mover el debris celular y mucus que se encuentra en la placa, ya que los embriones tienden a adosarse a ella. (Ortiz, 1.999 y Saito, 1.992).

3.7.5.6. Estadios del desarrollo del embrión.

Se identifican de acuerdo al desarrollo morfológico, Por ejemplo 8 células, 16 células. Luego reciben diferentes nombres.

Morula: se asemeja a una mora. Los blastómeros son difíciles de distinguir unos de otros. La masa de células Embrión ocupa casi todo el espacio perivitelino (edad estimada 5 días)

Morula compacta: los blastómeros se han juntado formando una masa compacta. El embrión ocupa 60-70% del espacio perivitelino.

Blastocito temprano: presenta una cavidad con fluido o blastoncele, dando la apariencia de un sello como anillo. El embrión ocupa 60-70 % del espacio perivitelino. Se puede en este estado diferenciar en forma visual el trofoblasto.

Blastocisto eclosionando: en este estadio los embriones pueden estar en el proceso o estar completamente fuera de la zona pelúcida.

Los blastocistos eclosionados son esféricos con el blastoncele bien formado o colapsado. Es muy dificultoso en este estado la identificación del embrión por un inexperto. (Tribulo y col, 1.998.) (Ortiz, 1.999 y Saito, 1.992)

3.7.5.7. Clasificación de los embriones.

Con la clasificación se pretende evaluar la calidad del embrión. Se califican en base a sus características morfológicas que lógicamente son subjetivas y dependerá muchas veces de la experiencia del operador. No hay duda que la viabilidad de los embriones sólo se puede predecir evaluando la tasa de preñez obtenida después de ser transferidos. (Tribulo y col, 1.998)

Algunas características que se analizan para calificar a los embriones se describen a continuación:

1. Forma de embrión
2. Color y textura de la masa celular
3. Número y compactado de los blastómeros.
4. Diferencia de tamaño entre blastómeros.
5. Tamaño del espacio perivitelino.
6. Presencia, número y tamaño de vesículas (indican degeneración).
7. Presencia de blastómeros sueltos, degenerados o detritos celulares.

8. Apariencia de la zona pelúcida.

3.7.6. Guía propuesto por la Asociación Internacional de Transferencia de Embriones (IETS).

La guía propuesta por la IETS es la que utilizan actualmente los especialistas en transferencia de Embriones para calificarlos, sobre todo los que trabajan en exportación.

a. Estado de desarrollo

- a) 1. => Infertilizado
- b) 2. => De 2 a 12 células
- c) 3. => Mórula temprana
- d) 4. => Mórula
- e) 5. => Blastocisto temprano
- f) 6. => Blastocisto
- g) 7. => Blastocisto expandido
- h) 8. => Blastocisto eclosionado
- i) 9. => Blastocisto eclosionado en expansión

b. Calidad

- 1. => Excelentes o buenos
- 2. => regulares
- 3. => Malos
- 4. => Muertos o degenerados

Los embriones de calidad:

- 1) son los mejores para congelar. Los de calidad.
- 2) pueden ser congelados con pobres resultados, pero aceptables para ser transferidos frescos. Los de calidad 3 no deben ser congelados y tienen índice de preñez regulares a malas si son transferidos frescos (Tribulo y col, 1.998)

La calidad de los embriones es, una de las variables que condicionan los resultados. Una buena calificación de los embriones nos permitirá predecir el porcentaje de preñez a obtener con la transferencia.

3.7.7. Crió preservación de los embriones.

El éxito en la congelación de los embriones ha posibilitado que la técnica de la transferencia de embriones sea más eficiente y aplicable a una mayor área. Por lo tanto, la sincronización de las receptoras no es imprescindible y ha posibilitado el comercio internacional de los embriones (Ortiz, 1.999 y Saito, 1.992)

La. criopreservación de los embriones bovinos es ya un procedimiento de rutina dentro de la transferencia de embriones.

Todos los protocolos han sido diseñados para proteger a los embriones contra la formación de cristales de hielo intracelular durante el congelado y contra la recristalización durante el calentamiento (Ortiz, 1.999 y Saito, 1.992)

La congelación permite el mantenimiento de la viabilidad por largos periodos, así como un transporte cómodo y seguro. No obstante los porcentajes de preñez son menores, por lo cual se recomienda solo congelar los embriones

de excelente calidad y con el grado de desarrollo adecuado (Ortiz, 1.999 y Saito, 1.992)

Para prevenir la formación de cristales de hielo, el agua intracelular es reemplazada por crioprotectores impermeables y los embriones son deshidratados a una tasa relativamente lenta de enfriamiento. Las principales técnicas actuales de uso comercial incluyen la utilización de dos crioprotectores intracelulares como son el glicerol (Método convencional) y el etilenglicol (Método de transferencia directa), (Ortiz, 1.999 y Saito, 1.992)

Principales procesos de la congelación

Básicamente la congelación de los embriones es llevada a cabo siguiendo estos pasos:

1) Recolección de Embriones:

Enfriamiento e inducción a la congelación (ice seeding). Inmersión en nitrógeno líquido

2) Almacenamiento en nitrógeno líquido:

Descongelación Dilución en crioprotector Estimación de la viabilidad.

3) Transferencia:

Como alternativa para simplificar este procedimiento, especialmente después de la descongelación se ha desarrollado métodos de Una Etapa en la Pajuela (One Step Straw Method) que no tuvo mucha acogida como el método de Transferencia Directa (Direct Transfer Method) que día a día va ganando más adeptos. (Ortiz, 1.999 Y Saito, 1.992)

3.7.7.2. Crioprotectores y procedimientos de enfriamiento

a) Crioprotectores

Muchas sustancias han sido utilizadas como crioprotectores para la criopreservación de los embriones en bovinos tales como el dimetil sulfóxido (DMSO), glicerol, etilenglicol, 1,2 propanodiol, sacarosa, lactosa y glucosa.

Los crioprotectores se dividen en dos categorías intracelulares (permeables) y extracelulares (no permeables).

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. MATERIALES.

4.1.1. Descripción del área de estudio.

El trabajo evaluó los registros de 45 cabañas de ganado bovino cebuino asociadas a ASOCEBU procedentes de 7 provincias del departamento de Santa Cruz.

Santa Cruz es el más grande de los nueve departamentos de Bolivia, y está situado en la zona este del país, se halla comprendida entre los 57° 30' y los 64° 40' de Longitud Oeste del meridiano de Greenwich y entre los 13° 40' y 20° 20' de Latitud Sur. Tiene una superficie territorial de 370.621 Km², representando el 33,74% del territorio nacional. Alberga alrededor de 2.029.471 habitantes (INE, 2003), el 21,1% de la población total del país. Político - administrativamente está compuesta por 15 provincias, siendo su capital la ciudad de Santa Cruz de la Sierra, habitada aproximadamente por 1.100.000 personas. El departamento está a una altura de 437 metros sobre el nivel del mar; tiene una precipitación anual de 244 mm; y una temperatura ambiente (media Aritmética) de: Verano: 25,9 °C; Otoño: 25,5 °C; Invierno: 20,6 °C; Primavera: 24,9 °C. (AASANA, 2004).

4.1.2. Unidad de muestreo.

Se utilizaron las denuncias y/o comunicaciones del servicio de Transferencias de Embriones realizadas en los respectivos formularios de ASOCEBU en el periodo desde el año 1997 hasta abril del año 2006, las

cuales son presentadas por los propietarios de las cabañas y/o ganaderías que fueron estudiadas.

4.2. MÉTODOS.

4.2.1. Método de campo

De junio a julio del año 2006, se trabajó con los registros de la Asociación de Criadores de Ganado Cebú (ASOCEBU) del departamento de Santa Cruz. La información fue obtenida de la denuncia de transferencia de embriones (TE), reportadas en el periodo desde el año 1997 hasta abril de 2006. Los datos se tabularon en hojas electrónicas de Excel para su evaluación.

4.2.2. Método estadístico

Los resultados se tabularon y resumieron a través de medidas de tendencia central y de porcentajes.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

La evaluación de transferencia de embriones, periodo de 1997 a abril de 2006, en razas de bovinos cebuinos, permitió llegar a los siguientes resultados:

En la época evaluada, se trabajó con 45 cabañas, de las cuales el 71,11% representa en la raza Nelore, el 20,0% en Brahman y el 8,89% en la raza Gir, (Cuadro 1).

CUADRO 1. NÚMERO Y DISTRIBUCIÓN PORCENTUAL DE CABAÑAS DE ACUERDO A LA RAZA (ASOCEBÚ, 1997 A ABRIL DE 2006)

Raza	Cabañas	
	Nº	%
Nelore	32	71,11
Brahman	9	20,00
Gir	4	8,89
Total	45	100

En los 10 años, se obtuvo un total de 1371 donantes (media anual de 137) y 1743 colectas (174 por año). El mayor porcentaje de colectas se realizó el año 2005 (25,4%), seguido del año 2004 (18,0%), (Cuadro 2).

**CUADRO 2. N° DE COLECTAS Y DONANTES PARA LA
TRANSFERENCIA DE EMBRIONES EN RAZAS CEBUINAS**

(ASOCEBÚ, 1997 A ABRIL DE 2006)

Año	Donantes		Colectas	
	Nº	%	Nº	%
1997	12	0,9	13	0,7
1998	61	4,4	76	4,4
1999	88	6,4	116	6,7
2000	131	9,6	189	10,8
2001	78	5,7	93	5,3
2002	140	10,2	174	10,0
2003	141	10,3	179	10,3
2004	242	17,7	314	18,0
2005	341	24,9	443	25,4
2006*	137	10,0	146	8,4
Total	1371	100	1743	100
Promedio	137		174	

*Hasta abril de 2006

De acuerdo al número de embriones viables obtenidos por año, se puede indicar que se obtuvo un total de 12633 en los 10 años evaluados, con un promedio de 1263 por año. La media de los embriones viables en relación al número de colectas es de 7,24. El siguiente cuadro detalla las medias individuales por año.

**CUADRO 3. MEDIA DE EMBRIONES VIABLES, EN RELACIÓN
AL N° DE COLECTAS EN LA T.E. EN RAZAS CEBUINAS
(ASOCEBÚ, 1997 A ABRIL DE 2006)**

Año	Nº Colectas	Nº de embriones viables	Media viables por colecta
1997	13	82	6,31
1998	76	417	5,49
1999	116	767	6,61
2000	189	1299	6,87
2001	93	599	6,44
2002	174	1275	7,33
2003	179	1260	7,04
2004	314	2475	7,88
2005	443	3391	7,65
2006*	146	1068	7,32
Total	1743	12633	7,24
Promedio	174	1263	

*Hasta abril de 2006

El porcentaje de las transferencias realizadas en fresco, en relación al número de embriones viables totales es de 85,8% y de congelados el 13,4%. En los 10 años se realizaron 10.840 TE en fresco y 1695 TE de congelados.

El cuadro 3 detalla los números y su porcentaje de la TE fresco y congelado desde el año 1997 a abril del año 2006, haciendo notar que el año 2005 representó el de mayor número de transferencias en fresco en relación a los otros años evaluados (93%) y en el año 1997 se realizaron más TE de congelado (26,8), (Cuadro 4). Cabe hacer notar que en este trabajo no se incluyen las donantes que no dan embriones viables, debido a que esta información no está disponible en las denuncias.

CUADRO 4. NÚMERO DE T.E. CONGELADOS Y FRESCOS EN RELACIÓN AL TOTAL DE EMBRIONES VIABLES, EN RAZAS CEBUINAS (ASOCEBÚ, 1997 A ABRIL DE 2006)

Año	Total N° embriones viables	T.E. embriones frescos		T.E. embriones congelados	
		N°	%	N°	%
1997	82	60	73,2	22	26,8
1998	417	355	85,1	59	14,1
1999	767	580	75,6	166	21,6
2000	1299	998	76,8	187	14,4
2001	599	493	82,3	119	19,9
2002	1275	1024	80,3	247	19,4
2003	1260	1127	89,4	156	12,4
2004	2475	2071	83,7	390	15,8
2005	3391	3154	93,0	243	7,2
2006*	1068	978	91,6	106	9,9
Total	12633 ⁽¹⁾	10840	85,8	1695	13,4
Promedio	1263	1084		170	

*Hasta abril de 2006

(1) En el transcurso de los años evaluados, se cuantificaron una cantidad de 98 embriones viables no transferidos, los cuales son considerados como perdidos.

La distribución porcentual promedio anual de colectas de embriones en razas bovinas, mostró que en la raza Brahman se obtuvo un 7,9%; en la raza Gir, 0,7% y en Nelore, el 91,4% de promedio total para los años evaluados (Cuadro 5).

CUADRO 5. N° Y DISTRIBUCIÓN PORCENTUAL DE COLECTAS DE EMBRIONES POR RAZAS CEBUINAS

(ASOCEBÚ, 1997 A ABRIL DE 2006)

Año	Total N° Colectas	Nelore		Brahman		Gir	
		N°	%	N°	%	N°	%
1997	13	13	100				
1998	76	76	100				
1999	116	114	98,3	2	1,7		
2000	189	146	77,2	43	22,8		
2001	93	89	95,7	4	4,3		
2002	174	173	99,4	1	0,6		
2003	179	170	95	7	3,9	2	1,1
2004	314	286	91,1	26	8,3	2	0,6
2005	443	402	90,7	40	9	1	0,2
2006*	146	124	84,9	15	10,3	7	4,8
Total	1743	1593	91,4	138	7,9	12	0,7

*Hasta abril de 2006

Evaluando el número de cabañas que realizaron transferencia de embriones por años, se observa que en el año 2005 hubo la mayor participación, seguida del año 2004. El porcentaje de participación de estas cabañas por razas, es la siguiente: Cabañas de bovinos Brahman 13,1%, Gir 2,3% y cabañas de Nelore 84,7%. (Cuadro 6).

CUADRO 6. NÚMERO Y DISTRIBUCIÓN PORCENTUAL DE CABAÑAS POR RAZAS QUE REALIZAN T.E. ANUALMENTE
(ASOCEBÚ, 1997 A ABRIL DE 2006)

Año	Nº cabañas	% sobre el total	Nelore		Brahman		Gir	
			Nº	%	Nº	%	Nº	%
1997	3	1,7	3	100,0				
1998	14	8,0	14	100,0				
1999	16	9,1	15	93,8	1	6,3		
2000	16	9,1	14	87,5	2	12,5		
2001	13	7,4	12	92,3	1	7,7		
2002	16	9,1	15	93,8	1	6,3		
2003	19	10,8	16	84,2	2	10,5	1	5,3
2004	24	13,6	19	79,2	4	16,7	1	4,2
2005	36	20,5	28	77,8	7	19,4	1	2,8
2006*	19	10,8	13	68,4	5	26,3	1	5,3
Total	176	100,0	149	84,7	23	13,1	4	2,3

*Hasta abril de 2006

La media de embriones viables por año y el rango se presenta en el cuadro 7

CUADRO 7. MEDIA Y RANGO DE EMBRIONES VIABLES OBTENIDOS DE RAZAS CEBUINAS
(ASOCEBÚ, 1997 A ABRIL DE 2006)

Año	Embriones viables		Media	±ESM
	Mínimo	Máximo		
1997	1	13	6,31	3,99
1998	1	21	5,49	4,22
1999	1	24	6,61	5,08
2000	1	29	6,91	5,68
2001	1	31	6,58	5,76
2002	1	27	7,47	5,62
2003	1	32	7,15	5,37
2004	1	30	7,89	6,10
2005	1	40	7,65	5,41
2006	1	24	7,32	5,08
Total		271	7,25	

De acuerdo a los datos del cuadro precedente, la mejor media se obtuvo el año 2004, con 7,89 embriones viables por colecta (EE 6,10), seguida del año 2005, con 7,65 (EE 5,41). La media más baja se observó el año 1998 con 5,49 (EE 4,22).

El análisis de la transferencia de embriones, de acuerdo a la raza utilizada, el cuadro 7 muestra que en la raza Brahman, desde el año 1999, hubo 97 donantes (media de 12 por año), se realizaron 138 colectas (media de 17), el número de embriones viables fue de 1130 (media de 141), la media de embriones viables por colecta fue de 8,2. (Cuadro 8).

**CUADRO 8. NÚMERO DE DONANTES, COLECTAS, EMBRIONES
VIALES Y MEDIAS EN LA RAZA BRAHMAN
(ASOCEBÚ, 1999 A ABRIL DE 2006)**

Año	Nº de donantes	Nº Colectas	Nº de embriones viables	Media viables por colecta
1997	-	-	-	-
1998	-	-	-	-
1999	2	2	18	9,0
2000	25	43	359	8,3
2001	4	4	40	10,0
2002	1	1	1	1,0
2003	6	7	43	6,1
2004	20	26	222	8,5
2005	25	40	331	8,3
2006*	14	15	116	7,7
Total	97	138	1130	
Promedio	12	17	141	8,2

*Hasta abril de 2006

En la raza Nelore, evaluada desde el año 1997, se presentaron 1262 donantes (media de 126 por año), se realizaron 1593 colectas (media de

159), el número de embriones viables fue de 11500 (media de 1.150), la media de embriones viables por colecta fue de 7,2, (Cuadro 9).

CUADRO 9. NÚMERO DE DONANTES, COLECTAS, EMBRIONES VIABLES Y MEDIAS EN LA RAZA NELORE
(ASOCEBÚ, 1997 A ABRIL DE 2006)

Año	Nº de donantes	Nº Colectas	Nº de embriones viables	Media viables por colecta
1997	12	13	82	6,31
1998	61	76	417	5,49
1999	86	114	749	6,57
2000	106	146	947	6,49
2001	74	89	572	6,43
2002	139	173	1299	7,51
2003	133	170	1226	7,21
2004	220	286	2249	7,86
2005	315	402	3053	7,59
2006*	116	124	906	7,31
Total	1262	1593	11500	
Promedio	126	159	1150	7,2

*Hasta abril de 2006

En la raza Gir, evaluada desde el año 2003, se presentaron 11 donantes (media de 3 por año), se realizaron 12 colectas (media de 3), el número de embriones viables fue de 69 (media de 17), la media de embriones viables por colecta fue de 5,75. (Cuadro 10).

CUADRO 10. NÚMERO DE DONANTES, COLECTAS, EMBRIONES VIABLES Y MEDIAS EN LA RAZA GIR
(ASOCEBÚ, 2003 A ABRIL DE 2006)

Año	Nº de donantes	Nº Colectas	Nº de embriones viables	Media viables por colecta
1997	-	-	-	-
1998	-	-	-	-
1999	-	-	-	-
2000	-	-	-	-
2001	-	-	-	-
2002	-	-	-	-
2003	2	2	11	5,50
2004	1	2	5	2,50
2005	1	1	7	7,00
2006*	7	7	46	6,57
Total	11	12	69	
Promedio	3	3	17	5,75

*Hasta abril de 2006

La distribución porcentual de razas de toros utilizados en los años evaluados fue de 75,14% (130 animales) Nelore; 21,39% (37 animales) de la raza Brahman y 3,47% (6) de la raza Gir. Totalizando 173 bovinos utilizados (Cuadro 11).

CUADRO 11. NÚMERO Y DISTRIBUCIÓN PORCENTUAL DE RAZAS DE TOROS UTILIZADOS EN LAS DONANTES
(ASOCEBÚ, 1997 A ABRIL DE 2006)

Raza	Nº	%
Nelore	130	75,14
Brahman	37	21,39
Gir	6	3,47
Total	173	100

*Hasta abril de 2006

VI. CONCLUSIONES

De 1997 a abril del año 2006, se trabajó con un total de 1371 donantes, realizándose 1743 colectas, siendo el año 2005 el de mayores transferencias de embriones.

Se obtuvieron 12.633 embriones viables en los años evaluados, con una media de 7,25 embriones por colecta. Las transferencias realizadas en fresco representaron el 85,8% y las realizadas con embriones congelados, el 13,4%.

La mayor cantidad de colectas se obtuvo de la raza Nelore, seguido de Brahman y Gir.

Del total de cabañas evaluadas, el mayor porcentaje correspondió a cabañas de razas Nelore, Brahman y Gir, en ese orden.

La distribución porcentual de razas de toros utilizados en los años evaluados fue superior en Nelore, seguido de Brahman y Gir.

Finalmente se concluye que la raza Nelore es la que tuvo mayor participación en la transferencia de embriones, tanto a nivel de donadores, receptoras y cabañas, durante el periodo 1997 hasta abril de 2006.

VII. BIBLIOGRAFÍA

- ALBARRACIN, J. L. 1998.** Inseminación Artificial a Tiempo Fijo en vacas gir, con GnRH, PGFz a y Estrógeno. Tesis. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia - U.A.G.R.M. Santa Cruz - Bolivia. pp. 3-4, 48-51.
- BÓ, G.; CACCIA, M. 1996.** Segundo Simposio Internacional de Reproducción Animal de Córdoba (IRAC). Córdoba - Argentina, pp. 61-109.
- BÓ, G.; CACCIA, M. 1998.** Actualización en Fisiología de la Reproducción de la vaca. Curso de Post - Grado. En Reproducción Bovina. Instituto de Reproducción Animal de Córdoba (IRAC). Córdoba -Argentina, pp. 1- 87.
- CORDECRUZ. 1992.** Diagnóstico Socioeconómico. Corporación Regional de Desarrollo. Santa Cruz - Bolivia. pp. 146 -147.
- DELLMAN, H. D. 1980.** Histología Veterinaria. Traducido del Inglés por Dr. TARAZONA VILAS, J. M. Acribia. Zaragoza- España, p. 11.
- DORN, CG et al. 1991.** Repeated, Short interval superovulation in virgin heifers. Theriogenology. January 1991. Vol. 35 No 1.
- GALINA, H. C. 1986.** Reproducción de los Animales Domésticos. Limusa. México, pp. 55 - 60.
- HAFEZ, E. S. E. 1996.** Reproducción e Inseminación Artificial en Animales. México. D. F. Sexta Edición. Interamericana. pp. 1 - 523.
- HOLY, L. 1986.** Biología para la Reproducción. México D. F. Editorial Diana, pp. 34 -39.
- HOLY, L. 1987.** Biología para la Reproducción. México D. F. Editorial Diana, pp. 78 - 93.
- INTERNET, www. calier. es/ rumiantes, htm. # pluset.**
- MAPLETOF, R. J. 1996.** Superovulación en Ganado Bovino. Segundo Simposio Internacional de Reproducción Animal. Córdoba -Argentina. Octubre - 31, Noviembre 2. pp. 69 -87.

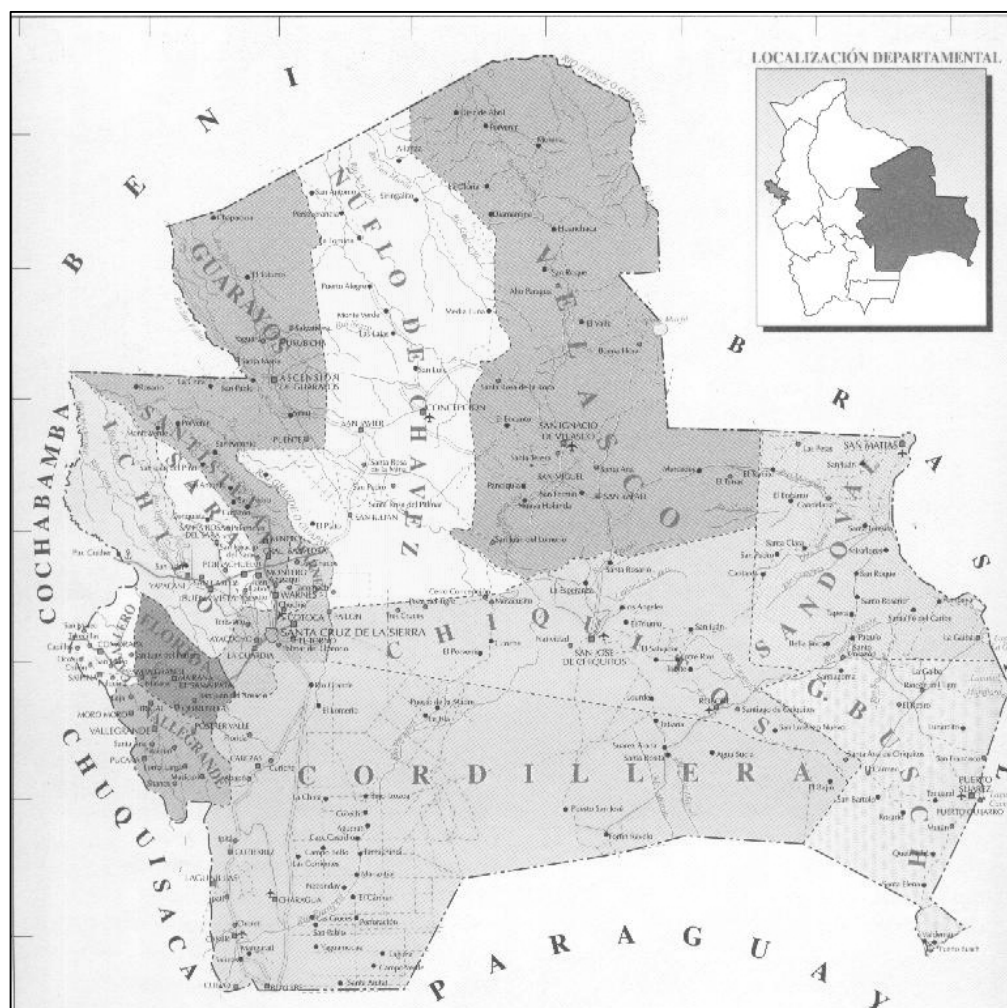
- McDONALD, L. E. 1971.** Reproducción y Endocrinología Veterinaria. Traducido de la Primera Edición por LOLEEHERO, A. México D. F. Interamericana. pp. 150- 153, 226.
- ORTIZ, J. O. 1999.** Manual de Transferencia de Embriones Bovinos. Santa Cruz - Bolivia Proyecto de Mejoramiento Genético de Ganado de Carne, pp. 1 - 37.
- ORTIZ, J. O.; LOPEZ, L.; QUEZADA, J. 2.001.** Manual de Transferencia de Embriones. Santa Cruz - Bolivia Proyecto de Mejoramiento Genético de Ganado de Carne (P.M.G.B.C.). pp. 21 - 24.
- REVISTA. ASOCEBU Activa, 2006.** Raza brahman. Edicion marzo de 2006. P6-8.
- PALMA, G.; BREM, G. 1993.** Transferencia de Embriones y Biotecnología de la Reproducción en la Especie Bovina. Primera Edición. Editorial Hemisferio Sur. Buenos Aires - Argentina, pp. 80 -87.
- SALISBURY, G. W. y VANDEMARK, N. 1. 1964.** Fisiología de la Reproducción e Inseminación Artificial de los Bovinos. Traducido por Louque, J. M. Zaragoza - España. Editorial Acribia. pp. 30-140.
- SORENSEN, A. M. 1982.** Producción Animal; Principio y Prácticas. Traducido de la Primera Edición Inglesa por MATA, E. México D. F. Editorial McGRAW Hill. pp. 198-199, 388.
- TEIXEIRA, M. T. 1999.** Transferencia de Embriones. Segundo Simposio Latinoamericano de Productividad en Ganado de Corte. Santa Cruz - Bolivia. Mayo 17-18 pp. 72 -75.
- TRIBULO, H. y Col. 1998.** Transferencia de Embriones. Curso de Post - Grado en Reproducción Bovina (IRAC). Córdoba - Argentina, pp. 1 - 109.
- TRIBULO, H. y Col. 1999.** Capacitación Reproductiva del toro. Curso de Post -Grado de Reproducción Bovina (IRAC). Córdoba - Argentina. pp. 120-134.

VATTI, G. 1985. Ginecología y Obstetricia Veterinaria. Traducido de la Tercera Edición en Italiano por Blaistem, R J. Hispanoamericano. México, pp. 54-61.

ANEXOS

ANEXO 1.

LOCALIZACIÓN DEL ÁREA DE TRABAJO



ANEXO 2.

TOROS NELORE UTILIZADOS EN EL PERIODO 1997 - 2006

Nº	Nombre	Cantidad colectas	Nº	Nombre	Cantidad colectas
1	BIG BEN	145	45	JERU	6
2	BITELO SS	140	46	VIRADO	6
3	FAJARDO	124	47	TRUCO DE SAUS	6
4	1646 MN	100	48	OTON DA QUILOMB	5
5	PANAGPUR	93	49	MAGNIFICO	5
6	RANCHI	88	50	CHAPLIN	4
7	ILUSTRE	64	51	DALI TE DA QUILO	4
8	FERIADO	59	52	ATMA	4
9	LUDY	49	53	RASTA OB	4
10	RAPILHO	46	54	PITMAN	4
11	HELIACO	43	55	MIKE DA COLONIAL	3
12	ENLEVO	36	56	PARDINHO OB	3
13	GANHOSO	29	57	OMULU	3
14	ENFEITIZADO	22	58	TABADAH POI	3
15	PRADESH	22	59	TANGO 0169 LS	3
16	BARDO	22	60	TIGRE	3
17	GANDHI	21	61	FAMOSO	3
18	LEGAT	20	62	COBRA 1325	3
19	CHIVA	20	63	IGUAZU	3
20	BACANA	20	64	NABUCO	3
21	GENIO	19	65	GHETTO LM	3
22	VOLTAIRE	19	66	ATILA	3
23	VASUA DA GR	17	67	PAYSANDU	3
24	REGENTE PRETO	13	68	TEMPLO DA ZEB VR	3
25	CAJADO 2 I	12	69	LADHUR PO DA JATOBA	3
26	INCA	12	70	AUSAT MJ DO SABIA	3
27	FIEL	11	71	ERECHIM DA PRAIA	2
28	GALANTHE	11	72	CALMANTE	2
29	EDHANK TE BM	10	73	TAPI DE GRACA	2
30	XAVANTE VG	10	74	EGIPAN LR DO VALE	2
31	PACARA	10	75	BALCAO DA JAPARANDUBA	2
32	HURACAN	9	76	ZEFEC ABDALA	2
33	IMPERIO	9	77	JANGUEDO DO ARROIO	2
34	EVEREST	9	78	MARAJA II DA GR	2
35	NAPOLEAO	8	79	IDILIO DA YB	2
36	VISUAL PO	8	80	DIAGO DE CV	2
37	TATCHER	8	81	HOBBY AJJ	2
38	HUACO	8	82	MEXICO	2
39	LORDE	8	83	GUDI DA LAGOA	2
40	PORCHE	8	84	NASKHAM	2
41	TARZAN	7	85	JISAM	1
42	BANAL	7	86	JAMBO TE DJ GALERA	1
43	NESO LM	7	87	RAMBO DA MN	1
44	PRETO DE SAUS	7	88	REY TE LS DE NELORI	1

CONTINUACIÓN ANEXO 2.

TOROS NELORE UTILIZADOS EN EL PERIODO 1997 - 2006

Nº	Nombre	Cantidad colectas
89	GUARANI DA GOYA	1
90	GLADIADOR TE VER SI ES BRAHMAN	1
91	THANDU	1
92	GENETICO	1
93	REY RICARDO	1
94	SISO DA FC	1
95	FURACAO	1
96	FREGUEZ	1
97	FIGARO	1
98	FANO TE DA FAZ.	1
99	EXPRESIVO	1
100	EXCEPTION	1
101	ESPANTO	1
102	DHALAI DA MATA VELHA	2
103	DORAVANTE DA QUILOMBO	2
104	IMBU DA MIRAFLORES	2
105	CHAMPION TE BM	2
106	DINGO OB	2
107	ASTRO 2 I	2
108	MACGIVER	2
109	JOGO	2
110	BIG DO BON JESUS	2
111	LICEU BOTICAO	2
112	NATO	2
113	GODHAR DA FAZ	2
114	701 DE CET	1
115	DAHRITI	1
116	TRANAU TROVAO	1
117	ROLEX	1
118	BERILIO	1
119	CHEDALLU	1
120	CHAVE DE OURO	1
121	BHAJOL	1
122	VERMUT FORT	1
123	D 681 VER NOMBRE	1
124	REY LS REPETIDO	1
125		
126	ORDENADO	1
127	MAREL	1
128	LAJEDO	1
129	LAGAM	1
130	JIVARO TE	1

ANEXO 3.

TOROS BRAHMAN Y GIR UTILIZADOS EN EL PERIODO 1997 - 2006

BRAHMAN		
Nº	Nombre	Cantidad colectas
1	JDH KARU 800	11
2	JK MR SUGAR CRATA	11
3	MR V8 700/3	10
4	JDH MR MANSO 776	8
5	POWER STROKE	8
6	JDH MR MANSO	7
7	PILAR QUITUMBA VER SI ES 04	7
8	MR REX CRATA	7
9	MR NR 838	6
10	BAI DUDSONS PISTON 254	6
11	DATA PACK 56315	5
12	MR V8 754/3	5
13	JJ RING CRATA 688	4
14	MR PILAR 75	4
15	TWA GRANDE REM TON	4
16	MR. ST SYR IMPERTOR	4
17	STERLING MANSO	4
18	MR V8 189	3
19	MR. DIAMOND 183	3
20	MR GLADIADOR	3
21	MR JS 507	2
22	MR V8 730/5	2
23	MAXIMUN VER SI ES MAXIMUS	1
24	TTT MR SUVA CRATA	1
25	E 3 JUMBO ELEFANTE	1
26	JDH 847	1
27	TAMICO	1
28	ROCKY	1
29	REX CRATA	1
30	JJ RING DIDOR	1
31	MR JS 515	1
32	JDH STERLING	1
33	MR BEER POI TE 73	1
34	MR DIAMOND	1
35	NELSON 107/9	1
36	MV8 30014	1
37	PILAR 2460	1

GIR		
Nº	Nombre	Cantidad colectas
1	EMULO	5
2	SANSAO	3
3	PATRIMONIO	1
4	PALADINO	2
5	INDIANO	1
6	IMPRESSOR	1

ANEXO 4

NÚMERO DE COLECTAS POR PROCEDENCIA DEL TÉCNICO (ASOCEBÚ, 1997 A ABRIL DE 2006)

Año	Nº de colectas	Nacional		Extranjero	
		Nº	%	Nº	%
1997	13	13	100,0	0	0,0
1998	76	51	67,1	25	32,9
1999	116	30	25,9	86	74,1
2000	189	51	27,0	137	72,5
2001	93	25	26,9	68	73,1
2002	174	24	13,8	150	86,2
2003	179	27	15,1	152	84,9
2004	314	76	24,2	239	76,1
2005	443	129	29,1	314	70,9
2006	146	41	28,1	105	71,9
Total	1743	467	26,8	1276	73,2