

中國人民日報社  
編輯部

一九五九年

中國人民日報社

第...號





JICA LIBRARY



1034713[6]

国際協力事業団	
受入 月日 '86. 6. 26	708
登録No. 12829	87.3
	ADL

## はじめに

国際協力事業団は、昭和57年12月から5年間の協力期間でパラグアイにおける牧畜業の振興に資する為、「パラグアイ家畜繁殖改善計画」(プロジェクト方式技術協力を実施中である。これまでの派遣専門家活動報告については専門総合報告書(Ⅰ,Ⅱ)にまとめられている。

本報告書は、本計画開始時からプロジェクト活動に従事された長期専門家3名の他、最近帰国された家畜栄養関係の2名の専門家の総合報告書を取りまとめたものである。

業務並びに報告書のとりまとめに当られた専門家各位に感謝の意を表するとともに、本報告書が関係者各位に利用され、今後ともプロジェクトが成功裡に推進されることを祈念するものである。

昭和61年2月

国際協力事業団  
農業開発協力部長  
田内 堯



# 目 次

1. リーダー（兼）家畜衛生	1
海老名 六郎	
2. 人工授精（人工授精及び繁殖障害）	9
小池 和明	
3. 家畜衛生（試験的受精卵移植）	23
山崎 大輔	
4. 家畜栄養	127
左 久	
5. 草地生産	185
堀川 洋	





担当分野 リーダー(兼)家畜衛生

氏名 海老名 六郎

所属先 農林水産省畜産局衛生課

派遣期間 昭和58年3月27日～昭和60年4月10日



## I リーダー業務

### 1. 本プロジェクトの特性

パラグアイの牧畜は冬期の栄養不足、衛生、繁殖の立ちおくれから、ラ・プラタ3国の中で最も生産性が低い、そこで繁殖率の改善を中心に栄養、繁殖、衛生を3位1体として、プロジェクトが仕組まれた。JICAパラグアイのプロジェクトの中で技術協力が先行し無償協力が迫行する唯一のプロジェクトである。サイトも前述の3分野をカバーする為獣医大学(FCV)を中心に農牧省家畜人工授精所(CIA)、家畜衛生院(SENACSA)と3ヶ所にまたがるプロジェクトとして発足した。

### 2. プロジェクトの発足

海老名赴任後、プロジェクトの事務所の選定、後続の専門家の受入、住宅の確保に忙殺された。資材の入手には1年以上後になるので、単独資材供与JICA 3,000万円の活用その他各専門家の携行資材を活用し出来る処から着手した建物に余裕がないので畜産研究棟の一室を確保したが雨もり、停電は常時の事で連絡用の電話もなく、その都度本部の電話を借用した。58年9月スイスのジョンソン財団のFCVの附属牧場プロジェクトが引上げたあとへ引越した。

### 3. プロジェクト、サイト3ヶ所の業務分担

繁殖分野では従来のベレットからストロー0.5ccへ徐々に切り換えるが、この分野のみCIAで分担し、ET発情発見の改善等すべてをFCVで分担する事、衛生分野ではSENACSAがFMD、TB、狂犬病と共にブルセラを法定伝染病に指定し、それ以外キャンピロバクター、乳房炎はFCV細菌研究室で、トリコモナスはFCV寄生虫研究室で対応することとした。

栄養分野は幸いFCV栄養研究室が唯一の機関なので基本6成分の分析から消化率 *in vitro*, *in vivo* にいたる迄FCVの栄養研究室が対応することとした。

### 4. 専門家の配置

FCVの勤務時間は7~11, 14~18, SENACSA 7~13, CIA 7~12, 14~17 とまちまちであるがFCVの勤務時間に統一し次の通りとした。

	7～11	14～18
海老名	SENACSAフルセラ・ラボ	FCV事務所
小池	FCV家畜病院	FCV家畜病院
山崎	FCV ETラボ	FCV ETラボ
松岡, 左	FCV栄養ラボ	FCV栄養ラボ
松崎, 西郷	CIAラボ	CIAラボ
早瀬	FCV事務所	FCV事務所

カウンターパートも詰所として日常コミュニケーションとスペイン語の学習に便を図った。

#### 5. 定期会議

毎月曜 8:00 専門家会議, 先週の報告と今週の予定, 連絡事項

毎月曜 15:00 日パ合同委員会, 日側専門家全員とバ側CPの主要メンバー

各分野についての報告と今週の予定, 双方から書記がmemo をとり双互にノートの交換, デカーノ議長, 進行海老名でデカーノ不在時は他の日に開催

#### 6. 資材

専門家, ミッション携行資材は別として年次毎の必要資材は各分野の専門家, CP協力してリストを作成し日パ合同委員会にかけ同意しJICAに送付, 第1次資材は59年6月到着したが, CIAの取分(ストロー切換えの為)が多いとデカーノからクレームがつき, 事前に了解をとってあるにもかかわらず現物が着いてからクレームをつけられても仕様がないので第2次より総枠を決め全体の1/2以上をFCVに残りをCIAとSENACSAに案分する事とした。

パラグアイの他のプロジェクトでは資材がアスンシオン港に着いても関税の交渉等に手間取り半年以上入手するのに手間どるケースが多いが, 本プロジェクトだけは引取について遅れた事はなくどうしてこうなるのか他プロジェクトに相談をうけた。

#### 7. モデル, インフラ

第1年次はFCVに家畜栄養の関連整備を行い, 施行管理者として鈴木氏があたり, 試験圃場には牧草の前野専門家がコロンビアCIATから導入した牧草の種子を播種した。

第2年次は牛の選抜を行う場所としてCIAの関連で国立バレリーター種畜牧場400haを10区画し, 飲水場, コラール等の整備を行った。

資材の配分とモデルインフラの投入場所についてデカーノはすべてFCVに集中を希望

し、何故自分の働きで発足したプロジェクトで農牧省に援助するのか納得出来ないとクレームをつけ支部長、大使迄動員し説得におおわらはであった。勿論、日パ合同委員会にかけて事前の了解をとってあるにもかかわらず現物を目の前にするとこの様にクレームをつける。

この背景としてパラグアイには獣医対農学の勢力争いがあり、一方FCVとSENA GSAでは同じ獣医仲間という事からそれほどクレームはつけなかった。バレリート一種畜牧場のモデルインフラの施行管理には本多氏が設計についての助言は育種の松川専門家が助言した。

## 8. 研 修

CPで良い人材を確保する事がプロジェクトの成否を決定するといっても過言ではないがパ側の人事権を一手に握るデカーノと事前に充分協議し、予定の人を派遣できる様に仕向けた。CPの中でFCVと無関係のCP SENACSAのみとか、CIAのみの場合充分な根まわしが必要である。

CIAのDra Hermelinda (59年)、SENACSAのDra Nelly (60年)が好例である。プロジェクトで必要な技術は何かをよく理解した上で研修に出すが一番の問題は英語力である。しかしやる気があり年令が若ければ言葉はそれ程問題でない、研修CPが結婚している場合はその間の事情を考え6ヶ月間を目途としている。研修先は専門家ないしは専門家予定の人の処へ研修に派遣するが効果的である。

CP Dr Brambilla ←→ 伊佐山専門家、CP Dr Espinolla ←→ 下平専門家

## 9. 後半プロジェクトの計画

プロジェクト運営上最大の問題はローカルコスト、幸い今迄は現地業務費で対応出来たがパラグアイのインフレの進行から考え、今後ローカルコストを支出することはむずかしいので、プロジェクト個有の財源を作る必要がある。

ひとつはLN<sub>2</sub>の製造である。パラグアイ酸素が月産1,000ℓ、3年前にCIAが世銀融資で導入したフリップス2基で日量240ℓであるが維持管理のミスから1/2の生産量しかない。繁殖季節10, 11, 12, 1月にはLN<sub>2</sub>の不足を来すのでAI普及上の問題点となっている。FCVの整備が無償がついた時点でLN<sub>2</sub>製造機を設置する。幸いFCVでは電気代を支払わなくて良い。もうひとつの計画は資材購入費で種牡牛(ネローレ、ブラーマン)を購入しCIAに預託し精液の1/2はプロジェクトの財源、残り1/2はCIAの取分となる。パラグアイの気候からみて主力はセブ系となり、ネローレはブラジルからブラーマンはアメリカから導入予定である。

#### 10. 後方支援 etc

現地でプロジェクト運営で問題は長短期の専門家の確保とローカルコストである。日本の技術者でスペイン語の冗れる人を探す事は不可能なので英語で意志が伝えられる位の英語力が必要である。CPの殆んどは英語を理解するのでむしろ言葉より、技術でキメワザを持っている事が大切である。言葉で説明できなくても技術を介して技術移転は可能である。長期専門家は言葉、習慣になれる面からも若い人の方が有利である。プロジェクトごとのワーキング、グループを作り、研修員の受入、資材のツメを責任もって対応していただければ現地では非常に助かるので早急に組織してほしい。

同様これらワーキング、グループの人材をミッションに活用しプロジェクトの円滑な運営が出来る様配慮ねがいたい。

## II 家畜衛生業務

### 1. ブルセラの位置付け

本プロジェクトの家畜衛生分野で最も重要なのがブルセラ病である。ブルセラはFMD, TB, 狂犬病と共に法定伝染病でSENACSAの専決となっている。その他の繁殖障害の原因となるキャンピロバクター, トリコモナス, 乳房炎, etcはFCVの所管となっている。

ブルセラはTB, 狂犬病と共に人畜共通伝染病として公衆衛生上重要な疾病でアルゼンチン, プエノスアイレスにあるcepanzo (Centro Panamerican Zoonosis)のコントロールを受けている。cepanzo参加諸国の経済不振からcepanzoがSENACSAに供給(有料)していた診断液(アンチゲン)がストップしてしまった。折よく本プロジェクトが発足しアンチゲンの自国生産を悲願としていた。CPでブルセラ研究室長のDr Brambillaをアンチゲン製造の為6ヶ月家畜衛生の研修生として家畜衛生試験場へ派遣したCP帰国後, 短期専門家として伊佐山氏が派遣され3ヶ月間精力的な技術移転が行われた。折よく第1次の資材が到着しこれを活用した。はじめての試作品を携えて, 伊佐山, Brambilla両氏がcepanzoに赴きアンチゲンの検定を受け, 優秀な成績で合格した。以来別紙の通り製造を重ね, SENACSAの収入の75%はブルセラが占める迄になった。勿論この成果はTV, ラジオ, 新聞を介し大きく報道された。

### 2. 今後の問題点

ブルセラの検査を受けなければならない家畜は共進会, 競売会に出品する家畜で牛, めん羊, 山羊であるが, SENACSAとブルセラ撲滅計画を持っているコロニア(チャコ4コロニア, カンボ93コロニア, エンカルナシオン, アスシオン周辺酪農家etc)でサンプリングは獣医が行い材料をブルセラ研究室に持込み血清反応が行われる。

本プロジェクトの主なる対称は肉牛牧場である。デモンストレーション, ファームはすべてこれに含まれる。パラグアイの肉牛牧場では肉牛の中で乳の出そうな牛から毎朝搾乳しこれを飲用し, 残りはパラグァイチーズに加工している。今後の課題としては検査材料からの菌分離, 陽性限界であり目下CPのDra Nellyを伊佐山研究室で研修中である。

一部, ブルセラワクチンの製造を民間メーカー(フォン・フランケン社)で行っておりこれの製品検定も行っている。他にブラジル, アルゼンチンのメーカーワクチンも輸入され使用されており, これ等を含んだコントロールが必要である。日本の様に法定伝染病, 陽性の場合には淘汰し, これを保証しているがパラグアイの場合, FMDを含め4種の法定伝染病はすべて自衛殺であり, 農民教育が必要である。

肉牛牧場で組織だったブルセラの汚染実態調査は初めてで, 人工授精牛群の中から最終

的に不妊牛で処分される牛を対称に調査を行う。勿論、必要であれば自然交配用種牡牛、めん羊、山羊も対称とする。

ブルセラを中心に細菌のラボワークに習熟し、これからキャソピロバクター、乳房炎等の検査に発展させられるようになった。

### 3. ブルセラの今後

ブルセラ研究室ではルーチンワークについてはほぼ技術移転がなされているが、GPの研修を深め細菌のラボワークを確立し、ウイルス性繁殖障害へと発展させ、次プロジェクトはセナクサを中心とした家畜衛生プロジェクトが最も効果的と考える。

特に FMD、狂犬病については日本になく、日本側技術者の研修場所としても活用すれば、相互に利益となる。





# SERVICIO NACIONAL DE SALUD ANIMAL

SENACSA

DIRECCION: Km. 10 1/2 RUTA MCAL. ESTIGARRIBIA - SAN LORENZO  
CASILLA DE CORREO No. 1110 - ASUNCION, PARAGUAY

## PRODUCCION DE ANTIGENOS DE BRUCELOSIS EN EL LABORATORIO DE BRUCELOSIS DE SENACSA.

La producción se ha iniciado en el mes de mayo de 1984, <sup>con la</sup> asistencia técnica del J.I.C.A. a SENACSA. El inicio de la producción se realizó durante la estadía del Dr. Yasuro Isayama; cuya participación ha sido fundamental en la producción de antígenos. Actualmente, SENACSA dejó de importar antígenos; y produce toda la cantidad necesaria, para cumplir con el Programa Nacional de control de la Brucelosis.

### DETALLES DE LA PRODUCCION

METODO: La producción se realiza en medios sólidos; utilizando agar - papa en botellas.

Roux.

Cepa utilizada: Cepa B. Abortus 1119-3

Tipos de antígenos: .

1 - Antígeno de Placa

#### Serie Nº 1

Fecha de producción: 25 - V - 84

Fecha de vencimiento: V - 85

Volumen: 630 ml.

#### Serie Nº 2

Fecha de producción : 12 - VII - 84

Fecha de vencimiento: VII - 85

Volumen total : 480 ml.

#### Serie Nº 3

Fecha de producción: 6 - IX - 84

Fecha de vencimiento: IX - 85

Volumen total : 640 ml.

#### Serie Nº 4

Fecha de producción : 12 - XI - 84

Fecha de vencimiento: XI - 85

Volumen total : 250 ml.

#### Serie Nº 5

Fecha de producción : 16 - XI - 84

Fecha de vencimiento: XI - 85

Volumen total : 270 ml.



# SERVICIO NACIONAL DE SALUD ANIMAL

SENACSA

DIRECCION: Km. 10 1/2 RUTA MCAL. ESTIGARRIBIA - SAN LORENZO  
CASILLA DE CORREO No. 1110 - ASUNCION, PARAGUAY

Serie N° 6

Fecha de producción

Fecha de vencimiento

Obs: Esta serie fue desechada por contaminación

Volumen total

Serie N° 7

Fecha de producción : 6 - XII - 84

Fecha de vencimiento: XII - 85

Volumen total: 240 ml.

Serie N° 8

Fecha de producción : 13 - XII - 84

Fecha de vencimiento: XII - 85

Volumen total : 380 ml.

Serie N° 9

Fecha de producción : 6 - II - 85

Fecha de vencimiento : II - 86

Volumen total : 571 ml.

Serie N° 10

Fecha de producción 21 - II - 85

Fecha de vencimiento : II - 86

Volumen total : 368 ml.

Serie N° 11

Fecha de producción : 15 - III - 85

Fecha de vencimiento: III - 86

Volumen total : 1.000 ml.

2 - Antígeno de tubo Serie N° 1

Fecha de producción : 4 - VII - 84

Fecha de vencimiento: VII - 85

Volumen total : 575 ml.

3 - Antígeno Card - Test Serie N° 1

Fecha de producción : 31 - VII - 84

Fecha de vencimiento: VII - 85

Volumen total : 620 ml.

Serie N° 2

Fecha de producción : 20 - IX - 84

Fecha de vencimiento: IX - 85

Volumen total : 872 ml.

担当分野 人工授精(及び繁殖障害)

氏名 小池和明

派遣期間 昭和58年7月7日～昭和60年7月6日



# I 家畜人工授精（家畜繁殖）

## 1. ストロー方式による牛凍結精液の製造、供給

### (1) ペレット方式からストロー方式への移行（I-2-(1)）

59年7月に58年分供与器材到着し、59.9～59.10機材据付短期専門家馬原元生氏（家畜改良事業団熊本種雄牛センター）の赴任により西郷穂高専門家と協力の上業務を開始した。

精液稀釈液は家畜改良事業団が現在採用しているものをバラグアイでも採用したかったが、トリス、ラフィノースの在庫が少く、また今後将来薬価の面で現地で自主調達するのが困難であるため、グルコース液（G液）、グルコース、ラクトース液（G,L液）としたが最終的には後者を採用した。

稀釈液処方：

グルコース稀釈液（略称G液）

100ml当り

区分	2.7%クエン酸ソーダ液	グルコース	卵黄	グリセリン	ペニシリン	ストレプトマイシン
A液	37.5ml	0.5 g	12.5ml	—	37,500 $\mu$	37.5mg
B液	30.5ml	1.0 g	12.5ml	7 ml	37,500 $\mu$	37.5mg

グルコース・ラクトース稀釈液（略称G,L液）

100ml当り

区分	2.7%クエン酸ソーダ液	卵黄	グルコース	ラクトース	グリセリン	ペニシリン	ストレプトマイシン
A液	37.5ml	12.5ml	—	—	—	37,500 $\mu$	37.5mg
B液	30.0ml	12.5ml	1.0 g	0.5 g	7.5ml	37,500 $\mu$	37.5mg

⑨ A液は第1次稀釈、B液は第2次稀釈（グリセリン平衡）に用いるものである。

試験製造ストロー精液本数：

回数	採精頭数	製造本数	廃棄本数	保有本数	受胎試験供用本数
7回	延 37 頭	4,630 本	970 本	3,660 本	800 本

採精種雄牛の内訳は次のとおりである。

品 種	実 頭 数	延採精回数
ネ ロ ー レ	4 頭	11 回
ブ ラ ー マ ン	5	13
サンタ・ヘルトルーディス	1	3
ブラウン・スイス	3	5
アバーディン・アングス	2	4
シンメンタール	1	1
計	16	37

またストロー方式凍結精液（試験製造）の製造前後の活力の分布は次の表のとおりである。

活 力	精液採取直後	凍結前	凍結後
卅 85 %	例	例	例
" 80	3	1	
" 75	7	5	
" 70	9	13	
" 65	8	5	
" 60	11	4	
" 55		8	
" 50	1	7	2
" 45		1	5
" 40			9
" 35			12
" 30			13
" 25			
" 20			1
" 15			
計	※ 39	☆ 44	◎ 42

※延 37 頭の採精のうち 2 回採りをしたもの 2 頭あるため延 39 頭となる。  
 ☆ 1 回の採精の精液を稀釈液 G, G.L の 2 種類に分けたため上記 39 頭分より余計となった。  
 ◎ 44 例のうち活力検査をしなかったもの 2 例あったため 42 例となった。

受胎試験には 59. 10. 24, 試験製造精液 800 本を 2 牧場に提供したが内訳は次のとおりである。

品種	牧場	
	バレリート (国立)	ブエナ・ビスタ
ブラーマン B-230	10/15 200 本 (G.L)	
	10/17 50 " (G)	
ブラーマン B-228		10/15 200 本 (G)
		10/19 100 " (G.L)
ネローレ N-212	10/17 50 " (G)	
	10/19 200 " (G.L)	
計	500 "	300

日付は各製造月日 G … グルコース・卵黄稀釈液

G L … グルコース・ラクトース・卵黄稀釈液

これ以後は西郷穂高専門家と日本での研修を終え帰国したエルメリンダ、ベニテス獣医師（女性）に製造業務を委託した。

## 2. 優良種雄牛の精液を用い、人工授精による家畜改良技術の指導

### (1) ストロー方式による授精師の教育訓練 (I-3-(1))

家畜人工授精師養成講習会 58.9 サンファン・パウティスタ

” 59.4 サン・ペドロ

講義・実習ともに主としてDr.オカの指導の下に講習が行われたが、当方としては精液製造工程の説明(写真提供)、凍結精液取扱上の注意、家畜人工授精実績の記録及び集計法や精液注入上の諸注意を指導した。

中堅獣医技術者講習会(第10回) 59.2 ~ 59.3 獣医学部外

” (第11回) 60.2 ~ 60.3 ”

第10回講習会に於ては当方の担当として家畜繁殖障害とその治療法について講義を行い、実習に於ては難産介助、胎児摘出、切胎術、直腸検査、カテーテル挿入技術を指導した。また第11回講習会においてはパラグアイ国におけるトリコモナス症、ビブリオ病(キャンピロバクター症)の発生実態に触れ、野外におけるそれら疾病材料の採取方法について指導した。この外伝染性繁殖障害としてブルセラ病、レプトスピラ病、非伝染性のものとしては、この国で発生が予想される卵巣機能不全、卵巣のう腫、黄体遺残症、鈍性発情又は無発情及び子宮内膜炎についてのみ解説を行った。

### (2) 人工授精成績の総括 (I-3-(2))

パラグアイ国における家畜繁殖成績向上のためには各牧場における各年次毎の繁殖成績の把握が必要欠くべからざる要件である。ところがこの国においては粗放飼育管理の実態から繁殖成績の基礎となる記録さえなされていない牧場もかなりあり、またあったとしても各牧場毎に別々の方法で記録されているので集計するのがむづかしい。

幸いバレリート国立種畜牧場に於て各年次毎に記録がなされており、それを資料とすれば我が国で行われている人工授精成績に近いものにまとめられるので1979年分よりの成績の総括を試みてみた。

但しこの国の肉牛繁殖の実態としては、前年に種付し、翌年分娩・哺乳中の牛群ではその年内に発情回帰し種付出来るものが極く少い。(最大25%)つまり大部分は毎年繁殖でなく隔年繁殖(2年に1回分娩)であるので、当該年次の繁殖対象頭数に入れることが出来ない。だからその年の繁殖率(人工及び自然交配による受胎率)が仮りに80%としても全繁殖対象頭数(本年分+前年分)からみると半分の40%となり、それに前年分のうち翌年に発情が来て種付し受胎したもの(10~25%)を加えても50~最大65%の繁殖率にしかならないことに注目しなければならない。

以下表により各年次の繁殖成績を示してみるが1981~1982年分より以前のものに交配方法不明のもの(人工なのか自然交配なのかはつきりしないもの)がかなりあるこ

とを念頭において御覧頂きたい。

年次別繁殖成績 バレリート国立種畜牧場

年次	繁殖対象頭数	人工授精頭数 (人工授精率)	人工授精 受胎頭数(%)	1頭当り 受胎の回数	自然交配及び 交配方法 不明のもの	総繁殖率
1979 } 1980	1,701 頭	1,421 頭 (83.6%)	1,120 頭 (78.8%)		276 頭	※ 75%以上
1980 } 1981	1,335 "	834 " (62.5%)	619 " (74.2%)		491 "	※ 62%以上
1981 } 1982	1,704 "	1,135 " (66.6%)	834 " (73.5%)		561 "	※ 61%以上
1982 } 1983						
1983 } 1984	1,335 "	860 " (64.4%)	640 " (74.4%)	2.0 回	467 "	61.3%
※※ 1984 } 1985	1,389 "	(55.5%)	(86.4%)	1.76 "		74.6%

※ 人工・自然交配ともに妊否不明のものが多く、その中でも受胎したものとみて総繁殖率は〇〇%以上とした。

※※ 西郷専門家の集計成績を引用。

バラグアイにおける繁殖成績は当該年の冬の天候、草生によって大いに左右されるということが言える。

例えば 1983 年冬…長雨低温…人工授精受胎率…総繁殖率  
70%台 60%台  
1984 年冬…暖冬 …… 80%台 70%台

となる。

試験製造したストロー方式凍結精液の受胎成績だけ抽出して比較することが出来なかつたらしいが、西郷専門家の報告によると1984～1985年の繁殖成績が前年分よりそれぞれ10%以上伸長しているので、試験的製造精液の受胎成績は良好なものと推測出来る。

なお1回授精の受胎率の計算は各年次について行わなかつたが、次の年次の分についてのみ計算してみた。

1978～1979年分 …… 77%  
1983～1984年分 …… 50%



3. 発情発見法の改善及び試験的発情同期化

- (1) チザール作出方法の検討 ( I - 4 - (1) )
- (2) チンボール方式の導入とその検討 ( I - 4 - (2) )

この項についてはさきに井上忠恕短期専門家が総合報告書 I に詳述してあるので、ここでは次表のみにて詳細は省略する。

チザール作出手術成績

実施牧場名	従来法 (陰茎横出法)	固定法 (井上氏変法)	再手術	チンボール 装着
バレリート	3頭	5頭	2頭	8頭
ブエナ・ピスタ	0 "	11 "	1 "	7
計	3 "	16 "	3 "	15頭

4. 試験的受精卵移植 ( ET ) ( I - 5 )

58年 井上忠恕短期専門家着任時  
59年 下平乙夫 " } 作業に協力

特に 58 年度においては本作業の内、臨床部門と手術法 ( 開腹式受精卵移植法 ) を担当した。

II 家畜衛生

1. 牛の繁殖障害調査

(1) 感染症

- a ビブリオ病 ( II - 1 - (1) - b )
- b トリコモナス病 ( II - 1 - (1) - c )

59年、60年の2年にわたり、獣医学部寄生虫研究室、微生物研究室、SENACSA、家畜人工授精所、獣医学部内近代牛舎のカウンター・パートや職員と協力して標記の調査を実施した。

なお本調査に当り、59年には伊佐山康郎短期専門家、60年には久米常夫専門家の指導をうけた。

[ トリコモナス病、ビブリオ病 ( キャンピロバクター病 ) 調査成績 ]

1984年 ( 昭和59年 )

	性別	頭数	トリコモナス陽性 ( 検出率 )	キャンピロバクター陽性 ( 培養又は塗抹 )
調査数	♂	16頭	1 ( 6 % )	0
	♀	148 "	2 ( 1.3 % )	0
計		164 "	3 ( 1.8 % )	0

キャンピロバクター腔粘液凝集反応成績

牧場名	調査数	陽性数	検出率
イタグア近郊牧場	4	4	100%
FCV近代牛舎	24	8	33%

調査場所：農牧省家畜人工授精センター，アンドレア・パトリシア牧場

サン・ロレンソ屠場，FCV（獣医学部）近代牛舎

イタグア近郊牧場，ブエナ・ビスタ牧場

1985年（昭和60年）

牧場名	性別	調査数	陽性例数（ ）内検出率			
			トリコモナス	キャンピロ培養又塗抹	キャンピロ凝集	ブルセラ
バレリート国立種畜牧場 (60.5.29)	♂	23頭	6(26%)	6(26%)	-	0
	♀	25	3(12%)	-	0	0
ブエナ・ビスタ牧場 (60.5.3)	♂	40	19(47.5%)	32(80%)	-	0
	♀	20	1(5%)	-	1(5%)	0
FCV近代牛舎 (60.6.7)	♂	-	-	-	-	-
	♀	25	-	1(4%)	0	-
FCV普通牛舎 (60.3.7)	♂	-	-	-	-	-
	♀	9	-	-	2(22%)	-
家畜人工授精センター (60.3.11)	♂	2	0	-	-	-
	♀	-	-	-	-	-
計	♂	65	25(38.4%)	38(58.4%)	-	0
	♀	79	4(5%)	1(1.3%)	3(3.8%)	0

採材の方法については我が国の成書に記載されている方法に準拠したが使用器材の状況や対象牛の頭数等により変法を応用せざるを得ない場合もあった。しかし結果的にはパラグアイの実情に適合したユニークでオリジナルの方法が確立し定着させることが出来た。

総じて調査結果として次の事がいえる。

1984年の特徴：トリコモナス検出率が低い

（理由：検出テクニックの未熟，不慣）

キャンピロバクター腔粘液凝集反応の陽性例多し

（理由：感染牛群を対象とした）

1985年の特徴：トリコモナス，キャンピロバクター検出率高い

（理由：検出テクニックの慣熟）

キャンピロバクター腔粘液凝集反応の陽性例少い。

(理由：F C V 普通牛舎以外，前年の感染群においては感染源の種雄牛に対する治療効果があったことと，明らかな感染牛群が調査対象とならなかった。)

c. レプトスピラ病 ( II - 1 - (1) - d )

パラグアイでのレプトスピラ症浸潤状態を知るためのスクリーニング，テストとして凝集反応が応用されたが，久米常夫短期専門家が持参された診断用抗原が 20 検体分と極めて少く，そのため獣医学部寄生虫研究室 Dr. ロドリゲス保存の牛血清 20 検体についてのみ実施した。

結果として類属反応もあるかも知れないが，どの血清もレプトスピラの各系列に強く反応した。

ワイル氏病系列抗原に陽性反応を示したもの…… 20 検体中 18 検体

秋やみ A	"	"	……	"	16	"
" B	"	"	……	"	17	"
" C	"	"	……	"	19	"
カニコーラ	"	"	……	"	17	"

d. 乳房炎 ( II - 1 - (1) - f )

この項についても久米常夫短期専門家の業務報告書に詳述してあるのでここでは省略する。

(2) 非 感 染 病

a. 子宮蓄膿症，子宮内膜炎 ( II - 1 - (2) - b )

(3) 出 産 障 害

a. 後産停滞 ( II - 1 - (3) - a )

b. 子宮脱・膣脱 ( II - 1 - (3) - b )

c. 難産 ( II - 1 - (3) - c )

以上は臨床例に対応し，処置方法等の技術指導を実施した。これら疾病の発生状況についてアンケート調査を実施したが，回収成績不良のためとりまとめが出来なかったが，回答例についてのみいえば肉牛牧場に於ては子宮内膜炎，蓄膿症以外上記疾病の発生例は極めて少いという感触を得た。

III その他の事項

1. 一般臨床例に対する対応

(1) 細菌学的病性鑑定

- 仔豚への死例 大腸菌性下痢症，仔豚浮腫病等

- 精液細菌汚染調査      やはりペレット方式精液はストロー方式のものより細菌学的に汚染されていることが実証された。

(2) 一般臨床外科手技の指導

実地及びスライド映写による指導を実施した。

2. 器材供与外

(1) 58年分供与器材の引渡し、配布

58年以前の単独供与器材の管理・保守状況調査

(2) 新潟小動物臨床研究会よりの外科用資・器材の贈呈

(3) 新潟県小千谷市原産錦鯉の贈呈

但し(2)、(3)の項は個人的経費負担で贈呈した。

IV 問題点及び提言

1. パラグアイにおける家畜人工授精普及は今後将来とも必須の条件であるが、日本のように個体管理が主流の畜産形態と異り典型的な集団粗放管理のパラグアイの畜産にあっては効率的発情発見法の開発、定着がのぞまれる。そのためには

a) チンボールを装着したチザーブルの利用

b) 発情同調法の定着

がのぞまれる。これらの方法はまだ緒についたばかりか未着手のものもあるので早急なる開発、定着を要望するものである。

2. トリコモナス症、ビブリオ症（キャンピロバクター症）は、これまでの調査でかなり浸潤していることがわかったが、本プロジェクト終了までにこれらの疾病防遏の方策・手段が定着されることを要望する。

3. 今回、後任の長期専門家の問題が懸案となっているが、このままの状態ではプロジェクト中断になりかねないし、事業の流れが完全にストップという状態である。また短期専門家で現況をカバーするという気運がみられるが、言語、生活環境、人間関係に習熟しない短期専門家だけではいかに高度技術の伝達に努めても現地に浸透、定着し得ない。現地の状況を熟知した長期専門家との協同作業により技術協力の実効があがるということを念頭において専門家派遣に対処して頂きたい。

V 謝 辞

1983年（昭和58年）7月より2年間、パラグアイにおける家畜繁殖改善計画のうち家畜人工授精と家畜繁殖障害部門の任務遂行に当り、日本側海老名・池田両チーム・リーダー

はじめ長・短期専門家の各先生方，技術者，調整員の皆様，国際協力事業団本部，同アスンシオン支部皆様，在パラグアイ日本大使館の皆様及び国内にて後方支援下された関係者の皆様，パラグアイ側国立アスンシオン大学エドアルド・ルイス・アルマダ獣医学部長はじめ獣医学部，農牧省家畜人工授精所，国立家畜衛生院（SENACSA）に勤務するカウンター・パート及び職員の皆様，協力牧場の各位の御協力，御支援に深甚なる謝意を呈するものであります。

EL INFORME SOBRE PROYECTO DE MEJORAMIENTO  
DE LA REPRODUCCION ANIMAL

( Area: INSEMINACION ARTIFICIAL )

Experto largo plazo: Dr. KAZUAKI KOIKE

Mandato: 7, julio, 1983 ----- 6, julio, 1985 ( 2 años )

Yo llegé al Paraguay hace 2 años como experto en Inseminación Artificial, pero también llevé a cabo trabajos en otros campos en cooperación con doctores veterinarios paraguayos. Esto es debido a que poseo muchos conocimientos, técnicas y experiencias en varios campos, adquiridos durante los pasados 30 años.

Me gustaría ahora, puntualizar mis logros y trabajos, los cuales fueron llevados a cabo junto con la cooperación de las contrapartes durante los pasados 2 años.

1. MANUFACTURA DE SEMEN CONGELADO TIPO PAJUELA EN EL CENTRO DE INSEMINACION ARTIFICIAL.

En el mes de setiembre del año pasado con la llegada del Ing. MAHARA como experto en instalación de equipos, se comenzamos a cambiar el sistema de congelamiento de semen en pastilla por el de semen congelado tipo pajuela, también idear la solución diluyente para el semen en pajuela, ajustando a las condiciones de este país, se hicimos una serie de ensayos antes de alcanzar un uso práctico.

Ahora estos trabajos continúan y está siendo conducidos por la Dra. HERMELINDA BENITEZ y el Ing. HODAKA SAIGO en el Centro de Inseminación Artificial.

2. OPERACIONES QUIRURGICAS PARA HACER RETAJOS EN TOROS.

Para fortalecer la práctica de la Inseminación Artificial en el campo, en una forma eficiente, es necesario detectar el celo en vacas en forma más eficaz. El toro retajado con Chin-ball es un método muy eficaz para detectar el celo en vacas.

Hasta hace un tiempo atras el método de Desviacion de pene ha sido provado con este proposito en este país.

Pero nosotros llevamos a cabo otro método llamado Fijación de pene baja la direccion del Dr. INOUE. El resultado de este operación es como sigue:

NOMBRE DE ESTANCIA	METODO DE DESVIACION DE PENE	METODO DE FIJACION DE PENE	RE-OPERAC.	TOROS CON CHIN - BALL
Barrerito	3 toros	5 toros	2 toros	8 toros
Buena Vista	0	11 "	1 "	7 "
Total	3 "	16 "	3 "	15 "

Entre los toros retajados a los cuales se le realizó la operación de fijación de pene, ocasionalmente, en algunos de estos casos, el pene no se fijó al tejido abdominal. Pero este método es mejor que el metodo de desviación de pene, desde el punto de vista de que se puede realizar en el campo, con menos hemorragia, menos tiempo para operar, y la reoperación es posible aplicar para fijar el pene firmemente otra vez.

Colocamos Chin-ball a 15 toros y hemos notado que estos toros actuaron muy bien, y las vacas en celo fueron detectados muy facilmente.

### 3. SUMARIZACION Y ANALISIS DE DATOS OBTENCION DE LA INSEMINACION ARTIFICIAL.

Es necesario incrementar el resultado de la Inseminación Artificial por medio de la sumarización de datos obtenidos en ese campo. Yo ideé la forma de llevar a cabo este trabajo y sumarizé los datos de reproducción de cada año en la Estancia Barrerito. También enseñé esto en el curso de entrenamiento para Inseminadores.

#### 4. TRANSFERENCIA DE EMBRIONES

Los ensayos de la E.T. en este país comenzara en la epoca de servicio del año 1983. Yo también he cooperado con contrapartes paraguayos en este trabajo poniendo mi esfuerzo para aloanzar el exito baja la direccion del Dr. INOUE ( 1983 ) y Dr. SHIMOHIRA ( 1984 ).

#### 5. CURSO ESPECIAL DE ENTRENAMIENTO PARA POST-GRADUADOS

Este curso de entrenamiento ha venido realizandose cada año promovido por la Facultad de Ciencias Veterinarias y la M.T.J. Yo di una serie de charlas sobre reproducción animal en 1984 - 85.

Especialmente este año di charlas sobre trichomoniasis y campylobacteriosis en este país.

#### 6. TRABAJOS DE INVESTIGACION SOBRE MASTITIS Y OTRAS

##### INVESTIGACION BACTERIOLOGICAS

Sobre este punto el Dr. KUME dio su informe al termino su misión y después hizo informe por lo tanto no tocare el.

#### 7. TRABAJOS DE INVESTIGACION SOBRE TRICHOMONIASIS Y CAMPYLOBACTEROSIS

Estos trabajos fueron llevado a cabo con la <sup>o</sup>operación de los miembros de Laboratorio de parasitologia, Laboratorio de microbiologia, SENACSA y C.I.A. desde el año pasado.

Los resultados de estos trabajos son como sigue:



RESULTADOS DE LOS TRABAJOS DE INVESTIGACION SOBRE TRICOMONIASIS  
Y CAMPYLOBACTERIOSIS

Año: 1984

	Sexo	Numero testado	Trichomoniasis positivo	Campylobacteriosis cultivo o flotes
Numero total de testadas	♂	16	1 ( 5% )	0
	♀	148	2 ( 1.3% )	0
Total		164	3 ( 1.9% )	0

RESULTADO DEL TEST DE AGLUTINACION PARA  
CAMPYLOBACTERIOSIS (Solo en vacas )

Nombre de la estancia	No. total de testadas	Aglutinación positiva	%
Estancia Itagua	4	4	100%
Tambo moderno	24	8	33%

Lugar de donde se recolectaron las muestras:

1. C.I.A., M.A.G.
2. Estancia Andrea Patricia
3. Matadero de San Lorenzo
4. Caso de aborto en el C.I.A.
5. Tambo moderno
6. Estancia de Itagua
7. Estancia Buena Vista

Año: 1985

Nombre de la estancia	Sexo	Numero testado	Casos de reacción positiva			
			Trichomonas	Campylo. cultivo o flotes	Campylo. test de aglut.	Brucela
E. Barrerito 29-V-'85	♂	23	6(26%)	6(26%)	-	0
	♀	25	3(12%)	-	0	0
E. Buena Vista 3-V-'85	♂	40	19(47.5%)	32(80%)	-	0
	♀	20	1( 5% )	-	1(5%)	0
Tambo moderno 7-VI-'85	♂	-	-	-	-	-
	♀	25	-	1(4%)	0	-
Tambo rustico 7-III-'85	♂	-	-	-	-	-
	♀	9	-	-	2(22%)	-
C.I.A. 11-III-'85	♂	2	0	-	-	-
	♀	-	-	-	-	-
Total	♂	65	25(38.4%)	38(58.4%)	-	0
	♀	79	4( 5% )	1(1.3%)	3(3.8%)	0

## 8. OTROS TRABAJOS.

He demostrado mi técnica en medicina veterinaria en el campo de la clinica animal en los siguientes casos:

Retención de placenta, Prolapso uterino, Endometritis, Piometra, corte de oreja en perro, etc:

Ilustrando también mi técnica por medio del uso de proyector de slide.

## 9. RECOMENDACION

La mejor forma de incrementar la calidad del ganado bovino es por medio de la técnica de I.A. y E.T.

Pero aún quedan muchos problemas que impiden la promoción de la Inseminación Artificial. Uno de ellos es la exacta detección de celo en vacas, por lo tanto las investigaciones y logros para superar este problema es muy importante para promover la I.A. en el campo.

Después de los trabajos de investigación sobre campylobacteriosis y trichomoniasis hemos obtenido el resultado que estas enfermedades estan diseminadas aun en Estancia de buenas condiciones.

Es necesario tomar serias medias para erradicar dichas enfermedades en los periodos siguientes.

担当分野 家畜衛生（及び試験的受精卵移植）

氏名 山崎大輔

派遣期間 昭和58年8月26日～昭和60年8月25日



## はじめに

パラグアイ家畜繁殖計画における試験的受精卵移植（以下E,Tと略す。）の計画前半期実施目標は、R/Dの協力基本構想および計画打合せチームと両国合同委員会（1983年11月29日）の合意に基づき、次の7項目を実行計画の課題とする事になった。

1. パラグアイにおけるE,Tの可能性の調査
2. E,Tの基礎知識と情報の提供
3. E,Tのための機材整備
4. ヨーロッパ系品種をドナーとする試験
5. ゼブー系品種をドナーとする試験
6. 受精卵凍結試験
7. 野外における実用的E,T技術の検討

更に巡回指導チーム（1984年10月26日）によりE,T技術の移転に際しては育種手段の目的を明確にするとともに、試験的実施にとどめるよう勧告が行われた。

以下、計画前半期のこれらの課題の遂行状況を述べる。

### 1) パラグアイにおけるE,Tの可能性の調査

1983年8月末の赴任直後から、当国畜産関係者と意見交換を行い、当国におけるE,Tの可能性につき調査した。

パラグアイ（以下パ国と略す。）の肉牛飼養形態は、自然牧野への通年放牧と自然交配による繁殖が基本となっているため、各牧場は多数の種雄牛を必要とする。

優良種雄牛を生産する牧場においては、計画的改良を進めるために人工授精を行っており、このため多くの優秀種畜が輸入されていたが、近年の慢性的外貨不足の経済状況下においては輸入による更新は殆んど不可能となった。このため今後の改良促進のためには、数少い優秀種畜群をE,Tの導入により急速に増殖させる事が必要となっている。

特に育種目標として、耐暑耐病性に秀れたゼブー系品種と産肉性に秀れたヨーロッパ系品種の計画的交配により、雑種強勢を利用した販売用牛群の計画的生産を指向している先進牧場においては、基礎牛群増殖の手段としてE,Tに大きな期待を持っている。

一方において、パ国でのE,T技術導入と確立の可能性については、多くの検討を要する問題があるが、当国の獣医学教育の水準はかなり高く、かつすでに数名の日本でのE,T研修経験者が居り、また液体窒素の自給体制も確立していると言う条件もそろっているため、本計画において試験的範囲において将来の中核的技術者となるべきC/Pに対して技術移転を行う事ができる可能性は極めて高いと考えられる。

### 2) E,Tの基礎知識と情報の提供

計画第1年次の繁殖期（1984年9月）から長期、短期各1名の専門家が活動を開始した。

まず最初にC/Pをはじめ獣医学部（以下F.C.Vと略す。）関係者全員を対象として、スライド等を用いた特別講義を行いE.T技術の基礎的理解の普及に努めた。

学外においても牧場主協会の要請で日本におけるE.T産仔の登録規定に関する説明を行った。

C/Pに対しては、第1回試験開始前に、準備した西語版テキストとスライドを用い2週間の講習を行い、更にバレリート牧場における第2回試験実施の過程で基本手技研修の経験を重ねさせた。また第1年次繁殖期終了後に、基礎理論、屠場材料実習、器具機材準備などの実験室内作業実習を含め約1ヶ月の講習を、現地で作成した副テキストを教材として実施した。続いて野外実習を計画したが実習予定牧場における口蹄疫発生のため実施不可能となり、十分な実習ができぬまま第2年次繁殖期を迎えた。

第2年次には短期専門家による集中的な実技指導のため実習用牛11頭を購入し、F.C.V肥育施設で飼育して卵回収模擬実習を反復して行った。更にSENACSA隔離試験牧場（以下SENACSA牧場と略す。）の不妊牛を用いて2週間の集中実習を行い、この結果C/Pの手技はかなり向上を示した。

### 3) E.Tのための機材整備

第1年次繁殖期においては、供与機材は未到着であったが、現地にあった個別専門家派遣当時の単独供与機材と携行機材および寄贈を受けた薬品類などによって試験の準備をはじめた。試験室には物置部屋として使われていた老朽教室の提供を受け、電源、給排水設備、備品什器の整備を行い、不足品については自製あるいは借入れにより間に合わせた。

第2年次に入り、初年度供与機材が到着し、基本的必要品については充足されたが、旧教室は家庭用電灯線のみの配線しか行われておらず、供与機材使用にあたっては防災上の危険を伴うため、屋内外配線および変圧器につき根本的な改修工事を行った。しかし電圧不安定、停電の頻発、学内の水道水の水質不良と低水圧、盗難事故多発のため重要機材の安全保管を期し難いこと等の問題点をかかえている。

### 4) ヨーロッパ系品種をドナーとする試験

第1回試験はE.T産仔を実例によって示す事を目的として、主に日本側専門家が実施し、C/Pは助手として参加した。肉用牛において性周期記録の明確な牛群を準備する事が困難なため、この試験ではF.C.Vモデル牛舎のブラウンスイス種乳牛5頭をドナー（以下D牛と略す。）に用いた。レセピエント（以下R牛と略す。）にはSENACSA牧場の雑種牛群から10頭をF.C.V肥育施設に移送して、PGF2 $\alpha$ による発情同期化により使用する事を計画した。しかし半野性化している当国の放牧牛に対する捕護、輸送、環境変化のストレスは予想をこえて強く作用し、1頭以外はすべて性周期が停止してR牛としては使用できなかった。

この試験の結果、21個の受精卵が回収され、16個の正常卵が移植され、それらのうち

SENACSA牧場からの移送牛の中の只一頭の発情同調牛に移植した一例が受胎し、1984年8月にバ国で最初のET産仔を分娩した。その他の15例は計画を変更して約200km離れた民間牧場(本計画モデルファーム)にバスで輸送し、自然発情の同調したR牛に移植したが受胎例を得る事ができなかった。

#### 5) ゼブー系品種をドナーとする試験

第1回試験の結果提起された次の如き課題に対して、農牧省バレリート種畜牧場(以下バレリート牧場と略す。)のゼブー系品種肉牛群を用いて第2回試験を実施した。

1. D牛、R牛が同一の牧場に飼養されている条件の下で、回収、移植を同時に実施する。
2. ゼブー系品種の多排卵処理に対する反応性を検討する。
3. C/Pに対して実技習得の機会を作る。

このため1984年1月から2月にかけて4週間にわたり38頭のD牛を用いて試験を行った。その結果、多排卵処理により30頭が発情を示し、このうち20頭から91個の受精卵が回収された。

91個の回収卵のうち33個の正常卵が、回収後4~6時間のうちにR牛として準備された自然発情の同調した同牧場のサンタヘルトルージュ種雌牛32頭に移植された。移植は12頭には右臍部切開法で、20頭には子宮頸管経由法で行われ、このうち後者の9頭が受胎した。

第2回試験は当国における通常的肉用牛放牧管理の条件下で行われ、その結果次の如き問題点が明らかになった。

1. 多排卵処理に対するゼブー系品種の反応は殆んどヨーロッパ系品種と変わらないが、発情発見にはかなり困難性がある。
2. ゼブー系品種はいずれも子宮頸管の屈曲が甚しく、卵回収および移植にあたって器具の子宮頸管通過が容易でない上に、保定柵内での騒擾、伏臥による抵抗のため、ヨーロッパ系品種に比べて作業が困難であり、本試験においても10頭で作業を中止せざるを得なかった。
3. 変性卵の発生率が、回収卵91個のうち55個(60%)と極めて高く、次期試験において検討すべき課題となった。

#### 6) 受精卵凍結保存試験

第1年次の試験の結果、繁殖期が限定されている当国の肉牛放牧経営において、R牛確保のためかなりの数の自然発情同調牛を卵回収日に合わせて待期させる事は、限られた交配の機会を逸する結果となり、牧場にとっては無視し得ない経済的負担となる事が明らかになった。実用段階においては、この問題の解決方法として凍結保存卵による繁殖期早期の集中的移植が必要となる事が予測される。このため第2年次の試験では、卵の凍結保存と移植を

課題とした。

各種の卵凍結保存法のうち、農水省福島種畜牧場で開発されたワン・ステップ法が現地の条件に適しているので、本法による成功例を演示する事を主目的として、併せて受精卵凍結保存と移植の手技指導のため、同牧場から短期専門家が派遣され試験を実施した。

第3回試験は、当初の計画ではバレリート牧場において10月下旬より12月下旬に至る8週間の期間中に、約80頭のD牛から約400個の正常卵を回収し、200頭のR牛に対し凍結卵、新鮮卵、各100例ずつの移植を行う予定であった。

しかし、第I群では10頭から回収された40卵のうち正常卵は12個のみで、このうち凍結されたものは6個、第II群でも10頭から回収された38卵のうち正常卵はわずかに5個で、そのうち2個を凍結保存したにとどまった。第III群では厳選されたD牛3頭からの回収により20個の正常卵を得る事ができたが、全体的にみてバレリート牧場では変性卵発生率が昨年同様に高いため、この問題の解決が必要となった。

その原因に付いて検討した結果、同牧場のD牛に対する管理は多くの問題がある事が明らかになった。

このため当初の計画を中止して、D牛候補を少数の栄養状態の良い個体に限定し、特別に管理を改善する事を牧場側に要請し、縮小した計画による第2次試験を行った。その結果、成績は改善され1頭平均7.2個の正常卵が回収された。

また同牧場の他に、良好な管理の行われている牧場として、F.C.Vモデル牛舎と、本計画モデルファームの一つであるピリブクS.A牧場を試験計画に追加した。

これらの試験の結果85個の受精卵が凍結され、このうち26個が移植され、3例が受胎した。

#### 7) 野外における実用的E,T技術の検討

主としてバレリート牧場における試験の経験に基き、野外における実用的E,T技術に関する検討を行った。

最も重要な問題は、D牛、R牛の管理状況の検討であった。D牛、R牛として準備されるべき雌牛は、栄養状態が良好で少くとも2回以上の正常発情が確認され、処理後の発情発見が確実に行われ、かつストレスの少ない状態で飼養されている事が高い受胎成績を得るための重要な条件である。

バレリート牧場はこのような条件を充す上で、次の如き問題点があった。

- 1) 放牧地の牧養力は低く、これに対して保有牛頭数が多すぎるため栄養状態が不良である。
- 2) 個体繁殖記録が未整備で、大群管理のため発情監視が不十分である。
- 3) 牧夫は、牛群移動、人工授精のための発情牛選別などの本来の業務に多忙なため、E



T用牛群を特別に編成管理する事は困難である。

4) このためD牛候補群は、処理期間中はコラル内で給水、給餌なしに放置される場合もあった。

5) 国立牧場であるために、勤務時間終了後の発情監視体制が未確立である。

これらの問題解決のため、D牛候補は栄養状態良好な個体のみ限定し、コラルに近い良好な牧区に入れて、牧夫には時間外勤務手当を支払って発情監視にあたらせるなど同牧場の基本業務と両立する範囲内での改善策をとった。

バレリート牧場でこれらの経験の検討は、同様な粗放管理が当国の肉牛牧場では一般的であるため、E,T技術実用化のためには極めて重要である。

これと対照的に、ピリブクS,A牧場では改良牧野を造成し牛群は良好な栄養状態で管理され、個体繁殖記録も整備されており、多排卵と発情同期化のための処理は同牧場の専属獣医師が我々の指示に基づいて自ら実施して、極めて良好な結果を得た。この事例は、今後の民間牧場における実用化試験の模範例とする事ができる。

野外におけるE,Tの実施にあたっては、使用機材についても日本と異なる当国の牧場の状況に対応するために、独自の発想に基づいて検討した。

我々の開発した移動E,T車はその一例である。

バレリート牧場で卵回収作業は、炎天下のコラルでおびただしいハエの飛来と牛群による塵埃の中での作業を余儀なくされ、器材、回収液の汚染防止が不可能な状況に置かれ、更に準備室との連絡も毎回牧欄の開閉と車輛による往復を要するため作業は困難を極めた。

このような条件はバ国の肉牛牧場では殆んど共通なので、今後の野外試験においては、コラル内の採卵現場に駐車して無菌的に準備作業、検卵作業が行える試験室を搭載した移動E,T車が必要となるとの構想に基づいて、現地で基本設計を行い日本の特注車体改装工場関係者とも細部仕様に関する打合せを行って、独自の開発特別仕様車輛を第2年次機材として供与した。

また受精卵凍結装置については、現在すでに多くの機種が市販されているが、バ国の野外条件を考慮した場合には陸路交通網不備のため飛行機が主な交通手段となる牧場も多い事を予測し、自家用セスナ機への搭載を前提条件として開発された機種を採用したので、こうした条件下にあり常時セスナ機による往復を必要としたピリブクS,A牧場での野外試験にも支障なく使用する事ができた。

#### 考 察

これまでに述べた経過により、本計画前半期の7項目の実施目標はおおむね達成されたと考える。

ここで計画前半期を担当した長期専門家の立場から、2年間の経験に基づき計画後半期にお

ける課題と問題点ならびに今後の展望について意見を述べたい。

#### 1) R牛群の確保

計画後半期における最重要問題はR牛群の確保である。初年度第1回試験の経験から、パ国では多数の安価な雑種牛群をR牛として使用できる有利な側面はあるが、実際にこれらの雌牛を放牧地から移送して人為的管理下における環境に順適させるには、かなりの期間を要する事が明らかになった。

また第2回、第3回の試験の経験は、当国の粗放的管理下にある肉用牛群から直接にD牛、R牛を準備して供用しても良好な結果を期待し得ない事を示している。

問題はこれらのR牛候補牛群をいかにして良好な栄養条件の下に飼育し、正確な性周期記録を整備し、確実な発情発見のできる管理体制を確立するかと言う点にある。試験的E.Tが、成功例の展示の段階から、安定した受胎成績を示す段階に進むためには、この課題の解決をさけて通る事はできない。したがって計画後半期において試験的段階としての技術移転を進めるためには、このような条件を備えてR牛管理のあるべき姿を示す試験的R牛群牧場確立のための基盤整備計画を先行させる必要がある。

特に卵凍結技術導入によりF.C.Vモデル牛舎で年間を通じて採卵・凍結保存試験が可能となった現段階では、R牛群確保が不可欠の問題となっている。

本計画のプロジェクトサイトであるF.C.V、バレリート牧場、SENACSA牧場および各モデルファームにおいて、現状でこれらの要件を充す牧場の確保は困難であるが、本計画における基盤整備事業実施の可能性を考慮して検討すると、計画後半期の試験実施には次の如き展望を持つ事ができる。

##### (1) F.C.Vモデル牛舎

第1年次より採卵試験を行って来たD牛飼養牛舎で、通年発情がみられ記録も整備されており年間を通じてブラウン・スイス種の純血種からの計画的採卵および凍結保存試験が可能である。

##### (2) F.C.V肥育施設

この施設には小規模ながらもコラル、積降し場、給水槽が完備しているので付帯する自然草地を改良牧野として造成整備すれば肥育効果展示施設と兼用で、E.T実習場として年間を通じてO/Pの実技研修を継続できる。

##### (3) バレリート牧場

農牧省の管理下で純血牛群（ネローレ種、ブラーマン種、サンタヘルトルージュス種）の増殖と販売を基本業務とする種畜牧場である。

第1～2年次の試験において、その牛群の一部を試験的E.Tのために使用する事につき協力を得てきたが、今後更にE.T専用牛群を編成して特別管理する事は作業員と牧野

の現状からみて困難である。今後も同牧場の純血ゼブー系品種をD牛として使用し得る可能性はあるが、同場のサンタヘルトルーシス種純血牛群を第1～第2年次の如くR牛に用いる事は、安価な雑種牛をR牛に用い純血種との価格差によりその有利性を発揮するE,T技術本来の意義を定着させる点からみて不適切である。

#### (4) SENACSA 牧場

本来は口蹄疫ワクチン検定用牛確保のため開設された牧場であるが、現在は特別な任務を課される事なく約1,000haの牧野、5～600頭の雑種牛群と4名の牧夫をもち、実習生用宿泊施設がありF,C,Vの実習牧場としても活用されている。小規模ながらC/PのDr.パスケスにより良く管理されており、今後本計画による移転技術の演習普及のための展示牧場としてパイロットインフラ事業による基盤整備事業が実現すればR牛群牧場としても活用でき、現状ではこれが最も実現可能なR牛群確保対策と考えられる。併せてSENACSAがF,C,V肥育施設に隣接して所有する自然草地(約20ha)を同事業で整備すれば、両施設間で常時試験牛の移動が可能となりF,C,V肥育施設のE,T実習場としての機能を補完して有効活用ができる。

#### 2) 育種手段としての目的の明確化

パ国においてE,T技術の導入を図る育種上の目的については、初年度における調査により得られた所見と、育種およびE,Tの各短期専門家による報告により明確化されたものとする。

#### 3) 試験的段階としての技術移転

試験的段階としての技術移転は、計画後半段階での重点事項であり、このため日本における適切な研修先へのC/Pの研修員としての受入れと、専門家派遣の継続が必要である。

#### 4) 機材供与

供与機材については指示に基づき計画最終年次までの購送予定リストを作成送付したが、その内容については後任専門家により状況の変化に応じて再検討されるべき必要がある。特に最終年次は薬品類、消耗機材類を重点とする必要がある。これらの資材は計画後半段階において、計画終了後も現地で継続購入可能な銘柄、仕様の資材に切替える事を検討すべきである。

#### 5) 民間牧場との協力

計画後半段階では、E,Tに関心を示す民間牧場との協力関係確立が重要となって来ると予想される。

試験的範囲において、パ国の民間牧場の条件下におけるE,Tの可能性を実証する事は重要な課題である。

ただし、第一義的に経営上の採算性を追究する事を本質とする民間牧場との協力にあた

っては、本計画における E,T 実施が試験的なものである事を牧場側に明確に理解させた上で、牧場主自身の積極的関心と自己責任に基く協力を得る事に特に留意すべきである。

6) E,T チームの構成について

E,T 技術は訓練を重ねたチーム構成員による明確な責任分担に基かないと成功が得られぬ本質を持っている。

したがって、技術移転の対象となるべき O/P チームの構成にあたっては、熱意ある O/P を恒常的にメンバーとして固定すると共に、特にチームのリーダーには責任感ある人物を任命する事をパ国側に強く要望する必要がある。

別添資料

INFORMACION DEL EXPERTO DE LA MISION TECNICA JAPONESA  
SOBRE LOS ENSAYOS DE TRANSFERENCIA DE EMBRIONES EN EL  
PROYECTO DE MEJORAMIENTO DE LA REPRODUCCION ANIMAL  
EN PARAGUAY

DAISUKE YAMAZAKI

AGENCIA DE COOPERACION INTERNACIONAL DEL JAPON (JICA)

AGOSTO de 1985

\*\*\*

## INTRODUCCION

El ensayo de Transferencia de Embriones en el Proyecto de Mejoramiento de la Reproducción Animal, se ha decidido realizar conforme con la R/D, Diciembre 3, 1983.

Y el Plan de ejecución de los primeros 3 años, se ha determinado según el acuerdo de la reunión del Comité Conjunto Paraguayo-Japonés, sobre la elaboración del Plan de ejecución ( 29 de Noviembre de 1983).

El Plan está formado de la siguiente manera:

### - Ensayo de Transferencia de Embriones

La transferencia de embriones es una técnica sumamente útil para el aprovechamiento al máximo de una vaca de alta calidad, obteniendo varios descendientes con las mismas cualidades en menor tiempo. Por lo tanto, se buscará la forma de realizar la transferencia de embriones en el Paraguay, realizando investigaciones de las técnicas más adecuadas e instalación de los equipos para el laboratorio de Transferencia de embriones.

### - Plan de Ejecución

1. Investigación de técnica más adecuada de transferencia de embriones para el Paraguay.
2. Enseñanza de la técnica de transferencia de embriones para su aplicación a nivel de productores.
3. Equipamiento del Laboratorio de T.E.
4. Ensayo de T.E. utilizando vacas de raza europeas como donantes.
5. Ensayo de T.E. utilizando vacas de raza India como donantes.
6. Investigación de Técnica para congelación de embriones.
7. Aplicación práctica de T.E. en el campo.

Aquí presento un informe sobre el desarrollo de este trabajo durante dos años.

\*\*\*\*\*

## NECESIDAD Y POSIBILIDADES DE APLICAR LA T.E. EN EL PARAGUAY

Paraguay es un país sub-tropical, la mayoría de las estancias introducen razas Zebuinas, como la Nelore y Brahman para mejorar su ganado. Estas razas resisten muy bien a las altas temperaturas y enfermedades tropicales.

Algunas estancias también introducen razas europeas para mejorar su producción, pero la población animal de éstas, son menores.

Una limitación al rápido incremento de la población de razas puras es debida a la eficiencia reproductiva del ganado. Además, la importación del ganado de raza pura, que también es costosa, resultando en el alto precio pagado por toros de raza pura, lo cual no beneficia a los ganaderos.

La técnica de Transferencia de Embriones (T.E.), ayudaría a multiplicar la población de raza pura a un costo más bajo, y más rápidamente si la técnica es mejorada.

La Transferencia de Embriones es una nueva técnica para mejorar el Ganado Bovino.

El principio de esta técnica, es recoger embriones de vacas excelentes, y transferirlos al útero de otras vacas de inferior calidad.

Generalmente, la vaca entra en celo cada 21 días y ovula un óvulo en cada celo, y éste óvulo es el que va a unirse con el espermatozoide, y es cuando se produce la fecundación.

La vaca parirá un ternero después de 9 meses de gestación. Por este medio, conseguimos nada más que un ternero por vaca, cada año. Pero, en caso de que usemos la hormona, podremos conseguir más óvulos de una misma vaca de un solo celo.

Con el aprovechamiento de la técnica para recoger embriones de donantes seleccionadas y transferirlas a receptoras de baja calidad, se podrá entonces realizar una selección más intensa entre aquellas vacas del rodeo y mejorarlas más rápidamente.

Esta técnica comprende varias fases: se empieza seleccionando donantes y receptoras, y se acaba con el registro de ternero.

Las 20 fases son las siguientes:

1. Selección de donantes y receptoras
2. Revisión del órgano reproductivo de la donante y la receptora
3. Control del ciclo estral de la donante y receptora
4. Aplicación de hormonas para la superovulación en la donante
5. Aplicación de Prostaglandina  $F_{2\alpha}$  para producir celo en la donante
6. Aplicación de Prostaglandina  $F_{2\alpha}$  para sincronización del celo de la receptora

7. Control del celo de la donante y de la receptora
8. Inseminación artificial a la donante
9. Preparación para el lavado uterino de la donante
10. Preparación de la receptora
11. Lavado uterino de la donante
12. Examen del líquido recuperado del lavado uterino para buscar los embriones, separación y preservación
13. Implantación del embrión en las receptoras por el método quirúrgico o no quirúrgico
14. Control de la donante de modo que vuelva su ciclo estral normal, a fin de ser utilizada nuevamente como tal
15. Control post operatorio de la receptora, en el caso de que sea el implanta por método quirúrgico
16. Diagnóstico de preñez de la receptora
17. Control de la salud de la receptora para que no se enferme y aborte
18. Se seleccionan nuevamente como receptoras, las que no quedaron preñadas
19. Controlar para que tenga parto normal la receptora
20. Control de la salud del ternero, tipificación sanguínea y su registro

Especialmente, las fases de superovulación, el lavado uterino de las donantes para recolección de embriones, buscar, examinar e implantar los mismos en las receptoras, son muy importantes.

Básicamente se usa la hormona folículo estimulante en la superovulación. Las donantes son inseminadas con semen congelado dos veces, a las 12 y 24 hs. después que el celo se ha iniciado.

Los embriones son colectados por lavado uterino con el cateter de Foley (de doble conducto), 7 o 8 días después de la doble inseminación. Este equipo es cuidadosamente insertado en la cervix dilatada y llega al cuerno uterino. El líquido de lavado es colectado en un recipiente cilíndrico de vidrio. El líquido decantado es colocado en una Caja de Petri, y es observado en un microscopio binocular de disección.

Cuando el embrión es detectado, se lo aspira con una pipeta y luego se le transfiere a otra Caja de Petri pequeña que posee el medio de conservación. Este medio se compone de solución de sales, con nutrientes proteicos.



Mientras se prosigue la recolección de los embriones, se preparan vacas receptoras. Las receptoras deben estar en ciclo estral sincronizados con las donantes.

La transferencia no quirúrgica, se practica con un equipo de inseminación artificial. Un pequeño medio conteniendo el embrión, se aspira con una pajuela especial muy fina. Luego esta pajuela que contiene el embrión, es colocada en el inyector de inseminación artificial. Este inyector es insertado en el cuerno uterino de la receptora y el embrión es depositado.

El trabajo para conservar con vida al embrión en circunstancias de in vitro, no es fácil. Si se fracasa en algunas de las fases, la transferencia de embriones no tendrá éxito.

Por esa razón, la transferencia de embriones requiere de una gran maestría, y de un gran entrenamiento a los Técnicos Veterinarios a fin de alcanzar un alto nivel técnico antes de introducir la T.E. en el Paraguay.

Esta obra no es fácil en las circunstancias del país, pero se puede transferir dicha técnica de T.E. a los contrapartes paraguayos, porque algunos de ellos tuvieron ya la experiencia de cursillos de T.E. en Japón, y el nivel de educación veterinaria es bastante alta, y además establecer el sistema de suficiencia de Nitrógeno líquido en el país.

\*\*\*\*\*

## ENSEÑANZA DE LA TÉCNICA DE T.E.

En el primer año di tres semanas de clases, de acuerdo al siguiente programa.

Usamos un libro de texto que traduje, el Text book for group training course in artificial insemination for cattle, al español (Anexo 1), y otro que hicimos como texto auxiliar sobre las técnicas (Anexo 2).

En el segundo año, dio la clase especial el Dr. Shimohira (Experto a corto plazo), y el programa de esta clase fue la siguiente:

La Misión Técnica Japonesa compró 11 vacas para práctica de recolección de embriones y contrapartes paraguayos se entrenaron en la técnica del lavado de útero. Luego estas vacas se vendieron y se compraron otras 15 para continuar con la práctica.

La Misión Técnica Japonesa contribuyó al techo e instalación sobre el brete del corral de la F.C.V. para continuar con la práctica.

Después de terminada esta práctica, el equipo de T.E. viajó a la Estancia de SENACSA para continuar dicha práctica usando un mayor número de vacas, durante dos semanas.

Como resultado de estas prácticas, las técnicas de los contrapartes paraguayos están mejorando.

\*\*\*\*\*

## CURSO DE TRANSFERENCIA DE EMBRIONES

### PROGRAMA

DURACION: 3 semanas, teórico y práctico.

Teórico: 7 clases de 3 hs.

Práctico: 10 clases de 3 hs.

### PRIMERA SEMANA

Lunes: Preparación de equipos para transferencia de embriones.

Martes: Teórico: Teoría general, Introducción de T.E. y Selección de donantes y Superovulación.

Miércoles: Teórico: Preparación de medios y esterilización de equipos.  
Práctico: Colección y manejo de embriones (mat. matadero)  
Técnica de colección de embriones (mat. matadero)

Jueves: Teórico: Colección de embriones.

Viernes: Teórico: Preparación de donantes y Selección.

Sábado: Teórico: Preparación de donantes (inyección de PMS)

### SEGUNDA SEMANA

Lunes: Preparación de donantes (inyección de  $PGF_2^d$ )

Martes: Teórico: Métodos de examinar embriones.

Práctico: Técnica de recolección de embriones.

Miércoles: Teórico: Transferencia de embriones, Método de Inseminación Artificial.

Práctico: Detección e Introducción de embriones en pajuelas.

Jueves: Teórico: Transferencia de embriones, Método quirúrgico.

Práctico: Introducción de embriones por método quirúrgico.

Viernes: Preparación de donantes e Inseminación artificial.

### TERCERA SEMANA

Lunes: Preparación general de equipos.

Martes: Práctico: Preparación de equipos para recolección de embriones.  
Preparación de donantes por palpación rectal.  
Detección de folículos para ovulación.

Miércoles: Práctico: Recolección de embriones en vacas de experimentación  
Examen e Introducción de embriones en pajuelas.

Jueves: Práctico: Recolección de embriones en vacas de experimentación,  
Transferencia de embriones en los recipientes.

Viernes: Discusión Práctica: Transferencia de embriones por método quirúrgico.

PROGRAMA DEL CURSO DE TRANSPLANTE DE EMBRIONES

DURACION: 12 DIAS

DIAS	FECHA	AM: 7:30 - 11:00 Hs.	PM: 14:00 - 18:00 Hs.
1		<p>CONFERENCIA: . Introducción                      . Selección de Donadores                      . Superovulación</p>	<p>CONFERENCIA: . Recolección de Embriones                      . Clasificación de Embriones                      . Selección de Recipientes                      . Transferencia de Embriones</p>
2		<p>CONFERENCIA: . Equipos                      . Preparación del medio</p>	<p>CONFERENCIA: . Técnica sobre manejo del embrión                      . Congelamiento del embrión</p>
3		<p>PRACTICA: Recolección del embrión                      ( material de matadero )</p>	<p>PRACTICA: Recolección del embrión                      ( en vacas sin tratamiento hormonal)</p>
4		<p>PRACTICA: Recolección del Embrión</p>	<p>PRACTICA: Recolección del Embrión</p>
5		<p>PRACTICA: Transplante de Embrión</p>	<p>PRACTICA: Transplante de Embrión</p>
6		<p>PRACTICA: Clasificación del Embrión</p>	
7			
8		<p>PRACTICA: Técnica sobre manejo del Embrión</p>	<p>PREPARACION DEL MEDIO Y EQUIPOS</p>
9		<p>RECOLECCION Y CLASIFICACION DEL EMBRION</p>	<p>CONGELAMIENTO DEL EMBRION</p>
10		<p>DESCONGELAMIENTO Y CULTIVO DEL EMBRION</p>	<p>TRANSPLANTE DEL EMBRION</p>
11		<p>PRACTICA: CONGELAMIENTO DEL EMBRION</p>	<p>PRACTICA: CONGELAMIENTO DEL EMBRION</p>
12		<p>DISCUSION FINAL</p>	

## EQUIPAMIENTO DEL LABORATORIO DE T.E.

Cuando comenzamos el primer ensayo, los equipos no llegaron todavía. Por esta razón comenzamos nuestro trabajo con los *equipos viejos y en contribución.*

Para el laboratorio se arregló una vieja sala que se ha estado usando para cuarto trastero.

Luego de un año llegaron los equipos, cuya lista es el Anexo 3.

La instalación eléctrica del laboratorio era vieja y no la adecuada para usar con los nuevos equipos.

La Misión Técnica Japonesa ha hecho la obra de cambiar la instalación eléctrica de dicho local y colocar un transformador más potente en el predio de la Facultad.

\*\*\*\*\*

## ENSAYO DE T.E. USANDO VACAS DE RAZA EUROPEA COMO DONANTES

El primer ensayo se realizó con el objeto de mostrar el primer ternero de T.E.

Se ha utilizado una vaca de la raza Gardo Suizo del Tambo Moderno de la F.C.V. como donante.

10 vacas criollas del Centro de Aislamiento de SENACSA, trajeron a la F.C.V. como receptoras. Estas vacas han sido tratadas con PGF<sub>2α</sub> para la sincronización del celo, pero solo una vaca ha presentado signo de celo, y las otras no presentaron celo debido a la mala influencia del cambio de ambiente que actuó en forma más fuerte.

Como resultado de este ensayo, se recolectó 16 embriones y uno de ellos se transplantó a la vaca de SENACSA, y el resto de los embriones se llevaron a la Estancia Demostrativa siendo transplantados a las vacas criollas que se han preparado como receptoras.

La vaca de SENACSA en quien se realizó el transplante, quedó preñada y a los 9 meses y poco más nació el primer ternero de T.E. de este país, el día 13 de Agosto de 1984.

El programa de este ensayo y la información sobre la donante y la receptora es el siguiente.

\*\*\*\*\*

PROGRAMA DEL PRIMER TRANSPLANTE DE EMBRION

27 DE OCTUBRE DE 1983

- 6:30 hs AM: Llegada de los técnicos al Laboratorio de Transfe-  
rencia de Embrión.
- 7:00 hs. AM: Inicio de lavado uterino del animal donante en el  
Tambo Moderno de la Facultad de Ciencias Veterina-  
rias.
- 9:00 hs. AM: Búsqueda de huevos en el Laboratorio de Insemina-  
ción Artificial del Ministerio de Agricultura y  
Ganadería.
- 11:00 hs. AM: Salida del micro ómnibus con los técnicos, llevan-  
do los huevos a la Estancia Buena Vista, Itá Yurú,  
Misiones.
- 13:30 hs. PM: Inicio de Implantación de huevos en los animales  
recipientes.
- 15:30 hs. PM: Regreso de los técnicos a Asunción.
- 18:30 hs. PM: Llegada a Asunción.

Nómina de Técnicos:

Prof. Dr. Inoue

Prof. Dr. Yamazaki

Prof. Dr. Oka

Prof. Dr. Gaona

Ayudantes:

Dr. Báez

Dr. Sanabria

Filmador:

Yamamoto

Chofer:

Centurión

OBSERVACION: El almuerzo se hará durante el viaje.

INFORMACION DE DONANTE Y RECEPTORA

DONANTE

RAZA: Pardo Suizo  
EDAD: 4 Años  
FECHA DE NACIMIENTO: 79-2-26  
Nº DE PARICIONES: 2  
PESO: 545 kg.

Fecha de preparación de superovulación:

Inyección de la Hormona PMSG (gonadotropina de suero de yegua preñada)  
83 - 10 - 16

Inyección de la prostaglandina 83 - 10 - 18

Fecha del celo 83 - 10 - 20

Recollación de embriones

Fecha: 83 - 10 - 27

Nº de embriones: 4

RECEPTORA

RAZA: Criolla

EDAD: 3

Nº DE PARICIONES: 1

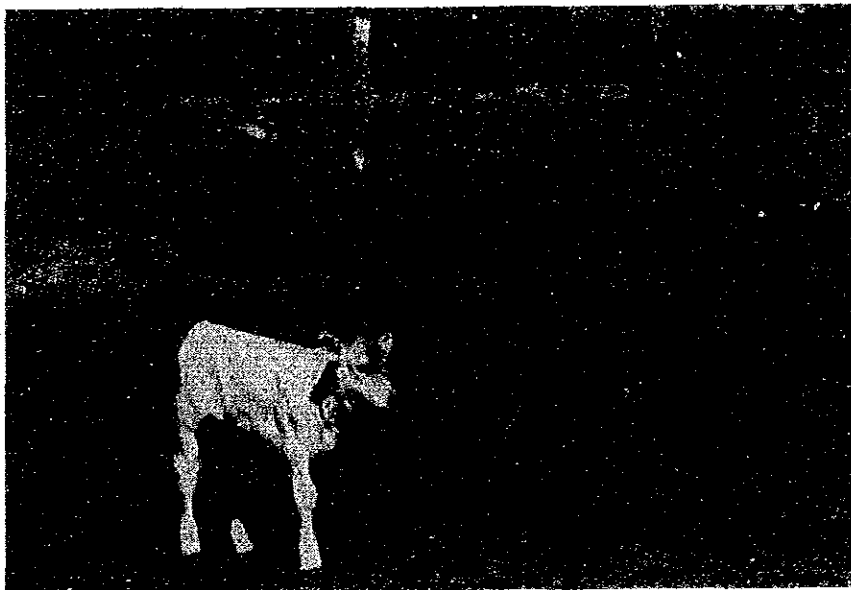
PESO: 365 kg.

FECHA Y HORA DEL TRANSPLANTE: 83 - 10 - 27 AM II - 14





1. 1er. ensayo de Lavado uterino realizado por el Dr. Inoue



2. 1era. ternera nacida en el Paraguay por transferencia de embriones



ENSAYO DE T.E. UTILIZANDO VACAS DE RAZA INDIANA COMO DONANTES

El objetivo de este estudio fue investigar un método apropiado de T.E. en el ganado de carne, sobre todo en la raza Cebú en el Paraguay.

En este ensayo, se han utilizado vacas de raza Cebú ( Halore, Brahman, Sta. Gertrudis ), de la Estancia Barrerito del Ministerio de Agricultura y Ganadería como donantes y receptoras.

El resultado de este ensayo es el siguiente.

\*\*\*\*\*

## RESUMEN

El objetivo de este estudio fue investigar un método apropiado de transferencia de embriones en el ganado de carne, sobre todo en la raza Cebú en el Paraguay.

1. 30 vacas de la raza Cebú fueron tratadas como donantes. Consistió en 26 vacas Nelore puras y 6 vacas Brahman; 5 vacas Santa Gertrudis y 1 Limousin. 12 vacas fueron tratadas con PMS y PGF<sub>2</sub> y 26 vacas fueron tratadas con FSH y PGF<sub>2</sub> para la superovulación.
2. De las 30 vacas, 8 aparecieron con signo de celo 1-2 días después del tratamiento. 7 vacas Nelore y 1 vaca Brahman no aparecieron con signo de celo, pero de acuerdo con el resultado del examen rectal, las 8 vacas han respondido al tratamiento.
3. Las 30 vacas en celo fueron inseminadas artificialmente 2 veces al día. Después de 6-7 días del servicio, se realizaron los lavados uterinos para coleccionar embriones, pero en 19 de los casos fue suspendido el trabajo debido a algunos problemas técnicos. La causa de los problemas fue principalmente la mucha resistencia de las vacas, por falta de docilidad.
4. Fueron recolectados 91 embriones de 20 vacas donantes.
5. Fueron usadas como recipientes 32 vacas mestizas Cebú, con sincronización natural de celo con relación a las donantes, con una diferencia de 1-0 días. En 12 vacas se realizó el trasplante de embriones por el método quirúrgico, pero ninguna quedó preñada. En 20 vacas se realizó el trasplante de embriones por el método no quirúrgico y 9 de ellas (45%) quedaron preñadas.

\*\*\*\*\*

TABLA 1. RESULTADO DE SUPEROVULACION

TRATAMIENTO	RAZA				TOTAL DE VACAS SIN SIGNO DE CEI	
	Nelore	Brahman	Sta. Gertrudis	Limousin		
PMS+PGF <sub>2</sub>	7	1	4	0	12	0
FSH+PGF <sub>2</sub>	19	5	1	1	26	8

TABLA 2. RESULTADO DEL TRANSPLANTE DE EMBRIONES

TRATAMIENTO	Nº DE RECIPIENTE	Nº DE VACAS PREÑADAS	CLASE DE EMBRIONES TRANSPL/	
			CLASE A	CLASE B
TRANSPLANTE QUIRURGICO	12	0 (%)	10	2
TRANSPLANTE NO QUIRURG.	20	9 (45%)	13 (7)	7 (2)

( ) Nº DE EMBRIONES Y CONCEVIDOS \* EMB. = EMBRIONES

TABLA 3. RELACION ENTRE DONANTES Y RECIPIENTES EN VACAS PREÑADAS

RAZA DONANTE	Nº DE VACAS	Nº DE EMBRIONES	RAZA RECIPIENTE	
			BRAHMAN	STA. GERTRUDIS
NELORE	3	5	3	1*
BRAHMAN	2	5	1	4

\* DOS EMBRIONES FUERON TRANSPLANTADOS EN UNA VACA

RESULTADO FINAL DE TRANSFERENCIA DE EMBRIONES EN LA ESTANCIAS BARRERITO -  
M.A.G.

Periodo 1.983-12 = 1.984-2

Número de cabezas de Donantes: 38

N-P = 26    B-P = 6    SG-P = 5    Lim = 1

Método de Superovulación    PMS + PG = 12 cabezas  
    FSH + PG = 26    "

Número de cabezas que no aparecieron con celo: 8 (N-P = 7 ; B-P = 1 )

" " " de las que se recogieron embriones: 20

Vacas y Vaquillas con problemas:

- 5: dificultad de pasar por la cérvix.
- 3: animal muy nervioso.
- 1: ovario quístico.
- 1: problema de locomoción.

Número de embriones recogidos: 91

Clasificación:            A 22  
    B 13  
    C 7  
    D 49

Relación entre Donantes y la Cantidad de Embriones recogidos:

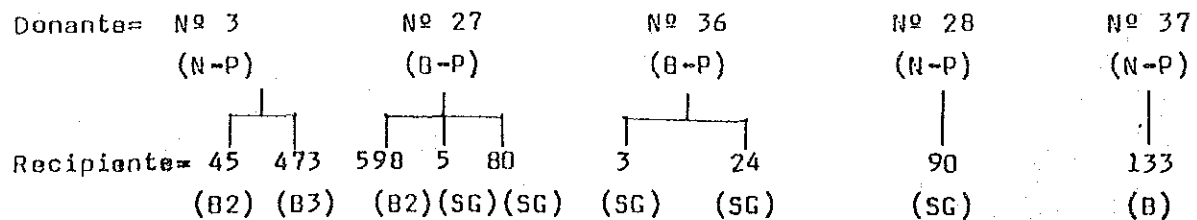
Embriones por Cabeza	Nº de Cabezas
0	2
1 - 2	5
3 - 4	6
5 - 10	6
11 -	1
	<u>Total = 20</u>

RESULTADO DEL TRANSPLANTE

Método	Nº de Cabezas	Calidad de Embriones	Nº preñadas
Quirúrgico	12	A: 10    B: 2	8
No quirúrgico	20	A: 13    B: 6	9(A:7    B:2)

Porcentaje de preñez = 28.1%

RELACION DONANTE - RECIPIENTE



\*\*\*\*\*

RESULTADO DEL TRABAJO DE TRANSFERENCIA DE ENDRIONES REALIZADO POR TECNICOS  
Y EXPERTOS DE REPRODUCCION ANIMAL EN LA ESTANCIA BARRERITO EN LOS MESES DE  
ENERO - FEBRERO DE 1.984

<u>DONANTE</u> Nº (Raza)	<u>RECIPIENTE</u> Nº (Raza)	<u>CLASIFICACION</u> <u>DE ENDRION</u>	<u>DIFERENCIA</u> <u>EN EL DIA</u> <u>DEL CELO</u>	<u>VETERINARIO</u> <u>COLECTOR</u>	<u>VETERINARIO</u> <u>TRANSFEREN-</u> <u>CIA</u>	<u>FECHA</u> <u>TRABAJO</u>
3 (N.P)	45 (B <sub>2</sub> )	MO-B	-1	Yamazaki	Oka	15/X
3 (N.P)	473(B <sub>3</sub> )	MO-B	-1	Yamazaki	Oka	15/X
27(B.P)	598(B <sub>2</sub> )	BL-A	0	Gaona	Yamazaki	31/X
27(B.P)	5 (S.G)	BL-A	0	Gaona	Gaona	31/X
27(B.P)	80 (S.G)	BL-A	0	Gaona	Gaona	31/X
28(N.P)	90 (S.G)	MO-A MO-A	0	Uaez	Yamazaki	31/X
36(B.P)	3 (S.G)	H-BL-A	-1	Gaona	Gaona	14/XI
36(B.P)	24 (S.G)	Ex-BL-A	0	Gaona	Gaona	14/XI
37(N.P)	133 (B)	BL-A	-1	Gaona	Gaona	14/XI

\*\*\*\*\*







3. Ternero Brahaman puro nacido en la Estancia Barrerito, siendo recipiente esta vaca Santa Gortrudis



4. Terneros nacidos por transferencia de embriones, en el 2do. ensayo



## INVESTIGACION DE TECNICA PARA CONGELACION DE EMBRIONES

Estamos haciendo ensayos con objeto de estudiar un nuevo método de congelamiento de embriones.

El nuevo método que ha sido desarrollado, permitió que el crio protector sea removido del embrión mediante una solución de sacarosa, la cual se encuentra dentro de la pajuela. El método requiere solamente 10 minutos y no necesita microscopio ni equipos de laboratorio.

Los embriones congelados pueden ser descongelados (diluidos) y transferidos directamente a la recipiente por el método no quirúrgico similar a la Inseminación Artificial.

El primer ensayo se ha hecho en la Estancia Barrerito F.A.S., ( con el siguiente programa). Pero no se pudo obtener suficientes embriones de buena calidad, debido a que las vacas donantes no han sido manejadas en forma adecuada.

Por esta razón, hemos cambiado el programa de ensayos.

En la Estancia Barrerito, hemos disminuido la escala de ensayos, y recomendamos mejorar el sistema de manejo de las vacas donantes.

También hemos hecho en otros lugares los ensayos, como ser la F.C.V. y la Estancia Demostrativa PIRIPUKU S.A.

El resultado de los ensayos son los siguientes.

\*\*\*\*\*

PROGRAMA DE TRANSFERENCIA DE EMBRIONES 1984

PERIODO: OCTUBRE - DICIEMBRE

DURACION: 8 Semanas Primera: Oct. 29-31

Octava: Dic. 17-19

NUMERO DE VACAS DONANTES: total 96

8 grupos con 12 vacas cada uno.

grupo de 4 donantes durante 3 días= 12

PORCENTAJE ESTIMADO DE RESPUESTA NEGATIVA: 10 - 12%

NUMERO ESTIMADO DE DONANTES PARA RECOLECTAR EMBRIONES: 80

PROMEDIO DEL NUMERO DE EMBRIONES POR C/ DONANTE: 5

TOTAL DEL NUMERO ESTIMADO DE EMBRIONES: 400

PROPORCION ESTIMADA DE EMBRIONES DE BUENA CALIDAD: 200 (50%)

NUMERO DE VACAS RECIPIENTES: 200

IMPLANTACION: Cervical

METODO DE CONSERVACION DE LOS EMBRIONES:

1. En fresco.

2. Congelado.

PORCENTAJE ESTIMADO DE PREÑEZ, Y NUMERO DE TERMEROS:

1. 40% 40

2. 30% 30

TOTAL 70

TABLA 1. RESUMEN DE LA RECOLECCION DE EMBRIONES

AÑO		PASADO	ESTE AÑO				
DATOS	Grupo	BARRERITO	BARRER 1	BARRER 2	F C V	PIRIPUKU	TOTAL
Donadora	(A)	38	23	10	6	4	43
Donadora c/ Celo	(B)	30	21	8	6	4	39
Donadora c/ Celo %	(B/A)	78.9	91.3	80.0	100.0	100.0	90.7
Donadora c/Embr.	(C)	20	11	6	5	4	26
Donadora c/Embr. %	(C/A)	52.6	47.8	60.0	83.3	100.0	60.5
Total Embrion	(D)	91	78	81	49	41	249
Embrión /Donadora	(D/A)	2.3	3.4	8.1	8.2	10.3	5.7
Embrión Transferible	(E)	42	17	72	27	36	152
Embrión %	(E/D)	46.2	21.8	88.9	55.1	87.8	61.0
Embrión Trans./Donadora	(E/A)	1.1	0.7	7.2	4.5	9.0	3.5

TABLA 2. CALIDAD DE EMBRIONES RECOLECTADOS

CALIDAD Grupo	BARRERITO 1	BARRERITO 2	F C V	PIRIPUKU	TOTAL
Transferible	17	72	27	36	152
A %	6(7.7)	17(21.0)	4(8.2)	11(26.8)	38(15.3)
A' %	8(10.3)	37(45.7)	9(18.4)	12(29.3)	66(26.5)
B %	1(1.3)	12(14.8)	10(20.4)	10(24.4)	33(13.3)
C %	2(2.6)	6(7.4)	4(8.2)	3(7.3)	15(6.0)
Intransferible	61	9	22	5	97
D { Degenerado %	55 (70.5)	7 (8.6)	4 (8.2)	5 (12.2)	71 (28.5)
{ Infertil %	6 (7.7)	2 (2.5)	18 (36.7)	0 (0)	26 (10.4)
TOTAL	78(100.0)	81(100.0)	49(100.0)	41(100.0)	249 (100.0)

TABLA 3. RESUMEN DE LOS EMBRIONES USADOS

DATOS \ Grupo	BARRERITO	BARRERITO	F C V	PIRIPUKU	TOTAL
	1	2			
Embriones Transf. Recolec.	17	72	27	36	152
Embriones Fresco Transferidos	6	9	0	23	38
Embriones Congel.	8	52	12	13	85
Embriones Cultiva- dos	3	11	15	0	29

TABLA 4. RESUMEN DE TRANSPLANTE

DATOS \ Grupo	BARRERITO 1	BARRERITO 2	F C V	PIRIPUKU	TOTAL
Fresco	6(3)	9(4)	0(0)	23(21)	38(28)
Congel-Descong- evaluado	4(4)	0(0)	0(0)	5(5)	9(9)
Congelado Directo	0(0)	7(7)	0(0)	6(6)	13(13)
Congelado-Descong- Cultivado	1(1)	0(0)	0(0)	0(0)	1(1)
Cultivado	3(2)	2(1)	0(0)	(0)	5(3)
TOTAL	14 (10)	18 (12)	0 (0)	34 (32)	66 (54)

( ) Número de Recipientes

54 total de animales transplantados

66 total de embriones transplantados



TABLA 5. RESULTADO DE EMBRIONES CULTIVADOS ( B o C )

DATOS \ Suero	SUERO A	SUERO B	TOTAL
Embriones Cultivados	14	15	29
Embriones Desarrollados	10	13	23
Desarrollados (%)	71.4	86.7	79.3
Transferidos	5	0	5
Congelados	0	9	9
No Congelados	5	4	9

. Suero A y B : Suero de Donadora F C V .

TABLA 6. RESULTADO DE SINCRONIZACION DE CELO P/ RECIPIENTE

DATOS / Grupo	BARRERITO	SENACSA (Quyquyho)	PIRIPUCU	TOTAL
Vacas Inyectadas PG (A)	5	7	48	60
Vacas q' aparecieron Celo (B)	3	6	45	54
Vacas q' aparecieron Celo % (B/A)	60%	85.7%	95.6%	90%
Vacas sincronizadas (C)	2	1	35	38
" " % (C/A)	40%	14.3%	72.9%	63.3%

. En Barrerito y Senacsa ( Quyquyho) no se obtuvo éxito en la sincronización porque no fueron controladas los Celos en las candidatas.

En Piripukú se obtuvo éxito porque se controló los celos y las condiciones de manejo son mejores que en Barrerito y Senacsa.

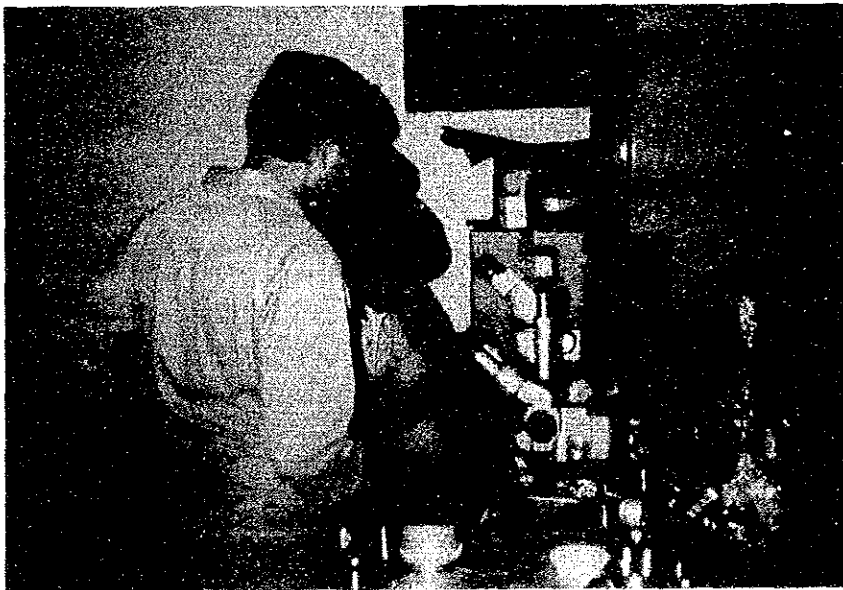
TABLA 7. NUMERO DE VACAS PREÑADAS

GRUPO DATOS	BARRERITO 1	BARRERITO 2	SENACSA	PIRIPUKU	TOTAL
FRESCO	0/3	3/4	-	10/21	13/28 (46.4%)
CONGELADO	0/5	1/6	1/1	1/11	3/23 (13.0%)
CULTIVADO	0/2	0/1	-	-	0/3 (0%)
TOTAL	0/10	4/11	1/1	12/32	16/54 (29.6%)



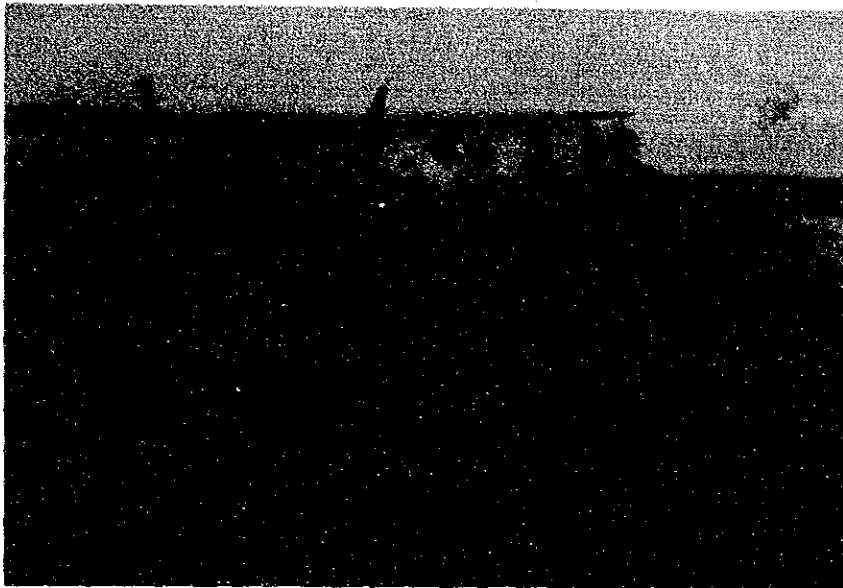


5. Tercer ensayo. Colección de embriones en Barrerito

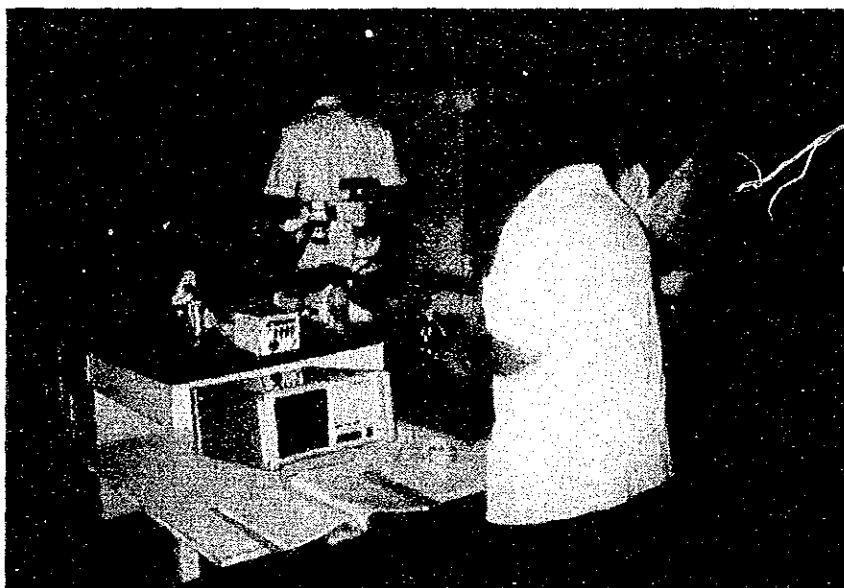


6. Tercer ensayo. Búsqueda de embriones en Barrerito





7. Tercer ensayo. Gr. Shimohira en Ganadera Piripucú S.A.



8. Práctica de búsqueda y congelamiento de embriones en el





## APLICACION PRACTICA DE T.E. EN EL CAMPO

Hemos obtenido mucha experiencia durante estos dos años, pero eso necesita ser examinado más para la aplicación en la condición de campo.

Lo más importante es el examen sobre la situación del manejo de las vacas como donantes y receptoras. Las donantes no solo deben ser superiores, sino también estar sanas. Es importante que ellas sean tratadas durante dos ciclos estrales antes del tratamiento, además es necesario que se hagan observaciones exactas del celo después del tratamiento. También se deben criar en buenas condiciones, sin problemas.

Sin embargo, las vacas de la Estancia Barrerito tenían los siguientes problemas para resolver las condiciones de manejo:

1. La condición de los pastos está bajo nivel aceptable, y además existe sobre-carga de animales.  
Por esta razón, las condiciones de las vacas donantes y receptoras son malas.
2. Los registros sobre el ciclo estral de cada vaca no es conservado bien, y la observación del celo es imperfecta, debido a que el rebaño de las vacas es muy grande.
3. Los peones están ocupados en sus trabajos específicos, debido a que es difícil formar un rebaño especial para T.E.
4. Al terminar la hora de trabajo de los peones, la observación del celo también se suspende.

Hemos resuelto la manera para seleccionar solamente vacas en buenas condiciones, como candidatas a donantes, y manejarlas en un piquete especial, bueno, y sería esto pagando una asignación especial a los peones que se dedican a la observación del celo.

Generalmente, en esta misma condición que la Estancia Barrerito se encuentran la explotación del ganado de carne en el Paraguay. Por eso es importante examinar estas experiencias, para obtener una aplicación práctica de T.E. en el campo.

En la Estancia Piripukú, al contrario, las vacas se manejan en mejores condiciones de pastos, y los registros sobre el ciclo estral de cada vaca son conservadas exactamente.

El tratamiento para superovulación y sincronización de celo, es practicado con el veterinario de la estancia y se tiene un buen resultado.

Este caso es un buen modelo en el futuro trabajo para la aplicación a nivel de los productores.

Sobre los equipos examinados desde el punto de vista de las condiciones del campo, se observa lo siguiente:

Por ejemplo, el vehículo de T.E. que se diseñó con una idea original, se basa en las experiencias de nuestro trabajo en la Estancia Barrerito.

En el futuro, es necesario que esta clase de vehículo tenga un laboratorio para buscar embriones y preparar transplantes, para el trabajo de aplicación de T.E. en la condición común del campo.

Además, sobre el aparato de congelación de embriones, ahora se venden muchos modelos, pero preferimos un modelo basado en el punto de vista de la situación de las Estancias en el Paraguay, que solo se pueden usar aviones pequeños para ser transportados, sería necesario usar CRYOEMBRYO - PSP, este modelo se desarrolló y se diseñó inicialmente para llevar en pequeños aviones; por eso es más compacto y ligero que todos los otros modelos.

En el caso de la estancia Piripukú S.A., se necesita usar avión siempre, y este modelo fue adecuado para el transporte.

\*\*\*\*\*

## CONCLUSION Y RECOMENDACION

1. Los expertos japoneses y los contrapartes paraguayos ejecutaron el plan de Ejecución casi totalmente.
2. El punto más importante de esta segunda etapa es el desarrollar una estancia especial para receptoras.  
La situación del ganado vacuno del Paraguay es favorable para preparar las vacas receptoras debido al bajo costo de las vacas criollas. Pero las experiencias de los ensayos de estos dos años indican que es imposible ganar buenos resultados si se usan vacas criollas que se manejan en malas condiciones.  
El rebaño de vacas para receptoras tiene que ser cuidado en buenas condiciones y hacer observaciones exactas del celo.  
Por eso es necesario que se desarrolle una estancia especial, que tenga buenos pastos, piquetes bien conservados para manejar correctamente las observaciones del celo.  
De acuerdo a las experiencias adquiridas en estos dos años, la Estancia Barrerito no es adecuada para este objeto, porque su finalidad es producir animales de sangre pura, y todas las vacas que se crían son puras o semipuras.  
No es recomendable usar estas vacas de alto precio como receptoras. Es más adecuado preparar la Estación de Aislamiento de SENACSA en QUYQUYHO, como la Estación Especial de receptoras, debido a que ellas tienen suficiente número de vacas criollas y manejan muy bien su rebaño de vacas.
3. Transferir la técnica de T.E. a los contrapartes paraguayos, es el más importante objetivo en esta segunda etapa.  
Es necesario que se realice el plan de envío de becarios paraguayos al Japón y el Programa de envío de expertos japoneses al Paraguay.
4. En la futura etapa de aplicación práctica de T.E. en las estancias de los productores, el equipo de T.E. debe trabajar con responsabilidad desde la primera etapa de selección de donantes y receptoras hasta la última etapa de registros del ternero.  
Por eso todos los miembros del equipo tienen que cumplir responsablemente con su misión.

\*\*\*\*\*

( ANEXO I )

TEXTO DE ENTRENAMIENTO EN  
INSEMINACION ARTIFICIAL DE  
GANADO BOVINO

1983

CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACION DE FUKUSHIMA  
MINISTERIO DE AGRICULTURA, FORESTAL Y PESQUERIA  
AGENCIA DE COOPERACION DEL JAPON

1. SELECCION DE DONANTES
2. SUPEROVULACION DE DONANTES
3. COLECCION DE EMBRIONES
4. TRANSFERENCIA DE EMBRIONES
5. CONGELAMIENTO DE EMBRIONES
6. CONCLUSION

## UN METODO PRACTICO DE TRANSFERENCIA DE EMBRIONES EN BOVINOS.

### Sección de preñez artificial.

Durante muchos años los productores han podido usar la inseminación artificial (I.A.), seleccionando sus mejores toros y mejorando así sus rodeos.

Con la disponibilidad de técnicas para recoger embriones de donantes seleccionados y transferirlos a receptores no entorados, se podrá entonces realizar una selección mas intensa entre aquellas hembras del rodeo y mejorar lo mas rapidamente. El objetivo de este trabajo es describir los métodos que se han estado desarrollando para recoger, manipular y transferir los embriones.

#### 1.- Selección de los donantes (dadores).

Los donantes no sólo deben ser superiores, sino también estar sanos. Es importante que ellos sean testados durante dos ciclos estrales antes del tratamiento. Toda hembra con problemas reproductivos, sin signos de estro no debe ser usada en la superovulación. Si estas vacas son tratadas difícilmente se encontrará superovulación, en este sentido, las vacas viejas y aquellas que difícilmente quedan preñadas, no son aconsejables como donantes.

#### 2.- Superovulación de las donantes.

Básicamente se usa PMSG (gonadotrófina de suero de yegua preñada) y FSH (hormona folículo estimulante) en la superovulación.

PMSG y FSH se inyectan intramuscular en los días 9 - 14 del ciclo estral (celo = 0). La dosis óptima de PMSG es de 2500-3000 UI (vaquillona) y de 3500-4000 UI (vaca).

Cuando se usa FSH en la superovulación, generalmente se da una combinación de FSH-LH (5:1) en diez inyecciones durante 5 días. La dosis es en mg de FSH y es dada subcutáneamente dos veces por día, de la siguiente manera: 5,5, 4,4, 3,3, 2,2, 2,2, mg. El intervalo de tiempo entre el tratamiento con gonadotrofinas y la inyección de PG que sigue es de 40-48hs. La dosis normal de PG<sub>2a</sub> (PG) es de 30 mg intramuscular, una sola vez, pero a veces se usa entre 30-40 mg dividido en dosis 8 hs aparte (Fig 1, y Tabla 1).

La tasa ovulatoria de respuesta a este tratamiento, puede variar desde 0 hasta mas de 20. Una lista de factores que se cree influencia la respuesta a las gonadotrofinas es la siguiente: dosis de gonadotrofina, raza de la vaca, factores individuales, ciclo estral, estado nutritivo, época, etc.

Los donantes son inseminados con semen congelado tres veces, a las 12, 24, y 36 hs después que el celo ha sido detectado. Se confirma los signos del celo por la actitud o comportamiento. Si no hay signos de celo (actitud), se detiene el esquema de trabajo.

Es importante señalar que mientras se detecta el celo y se realiza la IA por palpación rectal, se debe evitar palpar los ovarios, dado que al tocar los se puede interferir con la ovulación.

### 3.- Recogida de los embriones (colección).

Los embriones son colectados en los días 7 y 8. Las donantes deben permanecer sin comida y agua durante 24 hs antes de la colección. Durante la colección las donantes son colocadas en un cepo, con la parte anterior mas elevada. Se inyecta 5 a 7 ml de lidocaína al 2% en la articulación de la cola (epidural). Se quitan las heces del recto dejándolo limpio, la cola es entonces desviada. Si el recto contiene aire por el bloqueo, se puede vaciar con una bomba de succión.

Como el cervix de las vaquillonas generalmente es estrecho, en esos casos podemos usar un dilatador. Luego de quitar el dilatador, se coloca un estilete en el catéter de foley. Este equipo es insertado cuidadosamente en el cervix dilatado y llevado al cuerno uterino ( que tiene el ovario con cuerpo luteo), justo atrás de la bifurcación palpable de los cuernos (fig. 2 y 3).

El balón o globo es inflado con 15-30 ml de aire, dependiendo del tamaño del cuerno y entonces el estilete es retirado.

Aproximadamente 500 ml del medio de lavado PBS modificado, que es previamente calentado a 37°C, es colocado en el recipiente fijado al tubo de entrada, junto al catéter y el tubo de salida. Este recipiente es sostenido 1 m mas alto que la vulva. Entonces se comienza el lavado y el cuerno se llena con el medio, cerrando el tubo de salida con una pinza y también apretando y cerrando la unión utero-tubal por manipulación rectal.

Cuando el cuerno uterino se distiende, se suelta la pinza de drenaje y se coloca el tubo de salida en el recipiente cilindrico llevando el líquido del cuerno lavado al mismo. El cuerno es cuidadosamente masajeadó mientras el medio es lavado y retirado a travez del sistema.

Cada cuerno uterino es llenado y vaciado entre 5 y 10 veces con 30 - 60 ml de medio cada vez. Los embriones son lavados y recogidos en el recipiente cilindrico. Cuando el mismo está lleno se le deja a la temperatura ambiente de aprox. 25°C.

El medio de lavado es dejado reposar por lo menos 30 minutos para luego ser drenado por medio de un sifón desde la parte alta del recipiente, dejando 100 ml en su base. Este líquido remanente es colocado en un vidrio reloj o caja de petrí y es observado en una lupa o microscopio.

Cuando el embrión es detectado, se le aspira con una micropipeta y luego se le transfiere a otra caja de petrí pequeña que posee el medio de conservación. Así se les mantiene hasta su transferencia a la temp. ambiente de aprox. 25°C. El medio para conservación y cultivo es el PBS modificado al que se le agrega 20% de suero bovino tratado por calor (Tabla 2).

Al día 7 u 8 que se colecta el embrión, está en estadio de mórula o blastocito. Se clasifica el embrión recogido en alguno de los tres tipos de acuerdo a su aspecto morfológico:

(A) es bueno como embrión para la transferencia.

(B) puede usarse para transferencia, pero tiene 10-20% embriones degenerados

(C) " " " " " " 30% o mas " "

#### 4.- Transferencia de los embriones.

##### a) -Selección de los receptores.

-Los receptores deben estar con los celos sincronizados en el mismo día que los donantes.

mismo día en celo que los donantes:	0
un día en celo antes " " :	-1
un día después:	+1

ya sea el mismo natural o inducido con PGF<sub>2a</sub>

Cuando los receptores en celo natural no son suficientes, se puede inyectar otras con PG que estén entre los días 5 - 15 del ciclo estral. Se inyecta una vez con 15 mg o dos veces con 5 mg (cada 24 hs) intramuscular (Tabla 1) A los 3-4 días post inyección, los receptores estarán en celo.

Tenemos que usar receptores que demuestren un celo verdadero y confirmar CL antes de la transferencia de los embriones. Generalmente un celo verdadero es fácil de detectar viendo a las hembras montarse o usando detectores o tóros marcadores. Antes de la transferencia no quirúrgica, los receptores son tratados con una anestesia epidural (3ml de lidocaína al 2%).

##### b) Procedimiento de transferencia.

La transferencia no quirúrgica, se lleva a cabo con una pistola de inseminación Cassou de 0,25 ml. La cánula o pajuela es acortada en aprox. 1,5 cm. Luego de esto se aspira un pequeño volumen de medio, luego una burbuja de aire y entonces otro volumen de medio conteniendo el embrión, otra burbuja de aire y otro pequeño volumen de medio. El volumen total de medio, es de aprox. 0,2 ml (Fig. 5).

La cánula de 0,25 ml que contiene el embrión, es colocada en la pistola Cassou y cubierta con una cánula de plástico. Luego de esto la pistola es colocada en otra cánula mas grande que la cubre y que posee en su extremo un papel de celofán esterilizado (Fig. 6).

La vulva de la vaca debe estar limpia. La cánula exterior cubre y protege la pistola Cassou durante su pasaje a través de la vagina y su cubierta (de papel celofán) es puncionada por la pistola cuando alcanza la parte exterior del cervix. La introducción a través del cervix es similar a la realizada durante la I.A.

La pistola es manipulada a través del recto y es insertada en el cuerno uterino correspondiente al del cuerpo lúteo. La punta de la pistola debe ser introducida 7 - 10 cm adentro de la bifurcación uterina interna.

El embrión es expulsado al presionar firme la pistola. Debe ponerse cuidado en no herir el cuerno uterino durante este proceso.

##### c) Diagnóstico de gestación.

El diagnóstico de gestación se realiza dos veces, por dos técnicos, por palpación rectal a los 40 y 60 días después de la transferencia. En casos dudosos, el diagnóstico se repite mas adelante.



## 5.- Congelado de embriones.

El medio para congelar es el de Bulbecco modificado PBS al que se le agrega 20 - 30% de suero bovino tratado por calor. Al agregar el suero bovino se consiguen buenos resultados luego del descongelado.

Son necesarios también crioprotectores al congelar los embriones, ej. glic<sub>e</sub>rina, DMSO, PVP, sucrosa, etc. En nuestro laboratorio, el glicerol es usado como crioprotector. El método para equilibrar el glicerol a la temperatura ambiente se hace en 5 etapas: 0,18; 0,33; 0,57; 0,88; 1,00 M (10 minutos cada uno. Entonces recién en 0,1 M de glicerol el embrión es aspirado en la cánula de 0,25 ml. El extremo abierto se cierra con alcohol polivinílico en polvo.

El congelado se realiza entonces:

- a.- Enfriando a  $-4,5$  o  $-5^{\circ}\text{C}$  ( $1^{\circ}\text{C}/\text{min.}$ )
- b.- Luego mantener a esta temperatura por 10 min.; el procedimiento se realiza, tomándo la cánula con una pinza y enfriándola en N líquido.
- c.- Descenso de  $0,3^{\circ}\text{C}/\text{min.}$  hasta  $-29^{\circ}\text{C}$  ( $-35^{\circ}\text{C}$ ) y a  $0,1^{\circ}\text{C}/\text{min.}$  hasta  $-30^{\circ}\text{C}$  ( $-36^{\circ}\text{C}$ )
- d.- Descenso a  $-100^{\circ}\text{C}$  (rápidamente y mantener durante 10 minutos.
- e.- Entonces colocar las cánulas directamente en N líquido (Fig. 7).

El descongelado se realiza:

- a.- Las cánulas que contienen los embriones son descongeladas rápidamente agitándolas en un baño con agua a  $25^{\circ}$ - $30^{\circ}\text{C}$ .
- b.- El crioprotector es retirado en 5 pasos a la temperatura ambiente en intervalos de 5 minutos.
- c.- Luego el embrión es cultivado a  $37^{\circ}\text{C}$ , dos horas antes de transferirlo.

La sobrevivencia in vitro es determinada por la expansión o reexpansión luego de 2-24 hs de cultivo.

Con este método de congelado, aprox. 50% de los embriones congelados y descongelados se desarrollan tanto in vivo como in vitro. Actualmente se está investigando sobre nuevos métodos de congelado de embriones.

## 6.- Conclusión.

La técnica, especialmente la de congelado de embriones será simplificada en el futuro. Es probable que lleve algunas décadas antes de que la técnica de transferencia de embriones sea usada en igual escala como lo es la I.A.

Con las técnicas de producción de gemelos idénticos y de sexado (en semen) será posible incrementar la producción de carne, contribuyendo así en la crianza del ganado en el futuro y disminuyendo los costos finales.

Fig. 2. Colocación y posición del balón.

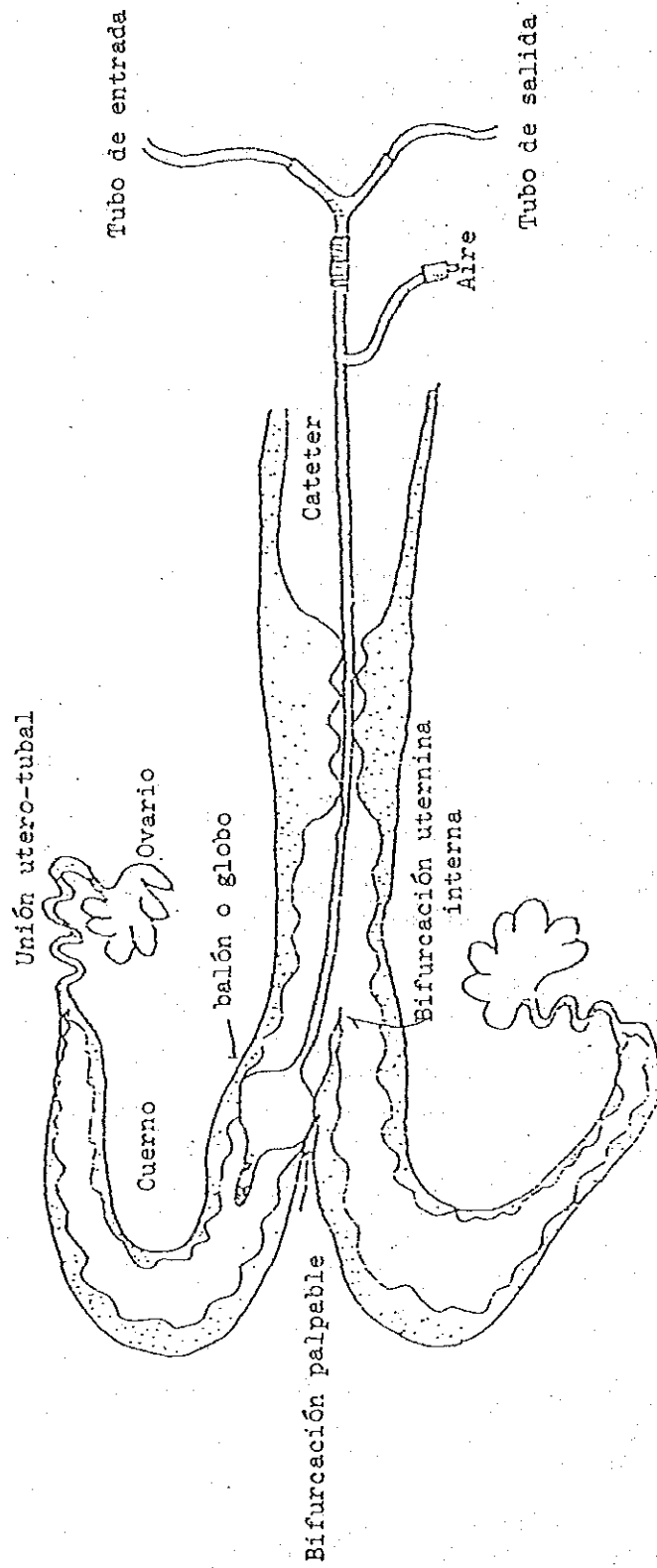


Table 2. Composición del medio modificado-PBS para colección de embriones.

Componente		mM	g/l
Dulbecco's PBS <sup>†</sup>	NaCl	136.87	8.00
	KCl	2.68	0.20
	CaCl <sub>2</sub>	0.90	0.10
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1.47	0.20
	MgCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0.49	0.10
	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	8.09	1.15
Componente modificado	Na pyruvate	0.55	0.036
	Glucose	5.56	1.00
	Bovine serum albumin		4.00
	Penicillin		500 u/ml
Agua destilada			1,000 ml

\* Medio de conservación : M - PBS + 20 %BS