

el filtro se puede reducir tiempo hasta iniciar la búsqueda de embriones y tiempo de la búsqueda. Eso es muy importante para conservar la viabilidad de embriones. Ocasionalmente el filtro se obstruye con mucosidad de cambiarlo o bien utilizar el sistema del cilindro graduado.

El catéter Foley puede ser cambiado al cuerno opuesto, removiendo- lo completamente de el útero y reemplazandolo, o bien puede ser halado hacia el cuerno de el útero hasta que el balón expandido es sostenido por la cervix. El catéter puede ser introducido hasta el fondo del cuerno, empujando suavemente el estilete o mandril, éste puede ser palpando facilmente. Este segundo método tiene la ventaja sobre el primero de trabajar mejor en las cervices de difícil conformación anatómica. Con el estilete en posición, el aire del balón puede ser vaciado, y el catéter de Foley reemplazado mediante la palpación del otro cuerno.

El medio de los cuernos puede ser recolectado en un cilindro de 500 ml y puesto en ambiente por 30 minutos. La mayor parte se sifonea a un segundo cilindro a excepción de los 100 ml del fondo. Los 100 ml son agitados suavemente y vertidos en una caja de petri de 10 x 900 m/m la cual se usa para buscar los óvulos o embriones con la ayuda de un microscopio de disección utilizando lentes de aumento de 10 a 15 x . El medio del segundo cilindro es examinado de nuevo por espacio de 30 minutos. Ocasionalmente un óvulo es absorbido por el tubo que se usa para sifonear.

AISLAMIENTO DE EMBRIONES

Para localizar, identificar, aislar, manipular y clasificar óvulos

sin fertilizar y embriones, se requiere considerable experiencia. Los óvulos fácilmente pueden pasar desapercibidos, así es que cada platillo debe ser examinado dos veces por la misma persona y luego chequeado por una segunda persona. Las cajas de Petri de fondo plano y cuadrículadas son muy eficientes en la búsqueda de óvulos. Debemos tener cuidado para que no se evapore el medio.

MANIPULACION DE EMBRIONES

Desde el momento que ellos son recolectados, los embriones deben ser manipulados con técnicas estériles. Tan pronto sea posible, se deben colocar en el microscopio de disección, lavar tres veces en medio estéril (diez veces si son para exportación) y luego evaluados y almacenados hasta la transferencia. Si los embriones van a ser almacenados por más de 4 horas, antes de ser transferidos, se les debe cambiar el medio cada 2-3 horas. Los embriones deben ser aspirados en la pipeta con un pequeño volumen de medio (menos de 0.2 ml) para prevenir contaminación del medio fresco. Los embriones se deben manejar con mucho cuidado para evitar causarles el mínimo daño.

La localización, manipulación y evaluación deberán hacerse lo más rápido posible con el fin de regresarlos a un medio más propicio. Antes de manipular embriones valiosos, los técnicos inexpertos deben practicar con secreciones y óvulos sin fertilizar o embriones poco valiosos hasta que se adquiera suficiente experiencia. Muchas de las técnicas empleadas en TE se basan ampliamente en el resultado de investigación con animales de laboratorio. Algunas de éstas técnicas probablemente no son óptimas para aplicar a los embriones bovinos. Consecuencialmente, la investigación encaminada en mejorar todos los aspectos de TE en bovinos es necesaria. Nosotros utilizamos los embriones de coneja.

EVALUACION DE EMBRIONES

La mayoría de los embriones recobrados deberán estar en el mismo estado de desarrollo.

La morfología embrionaria está correlacionada con las ratas de preñez, pero muchos embriones con apariencia anormal se desarrollan en terneros normales. Embriones que están retardados en desarrollo por 2 o más días no deberán ser transferidos.

Los embriones deberán ser evaluados y así las recipientes apropiadas pueden ser seleccionadas. En general, los mejores embriones deben ser transferidos a las mejores recipientes. En adición, la edad del embrión puede hacerse coincidir hasta cierto punto con el ambiente uterino de la recipiente.

Algunas características que pueden ser evaluados incluyen:

- 1) compactación de las células;
- 2) regularidad de la forma del embrión;
- 3) variación en el tamaño de las células;
- 4) color de textura del citoplasma;
- 5) presencia de grandes vesículas;
- 6) presencia de células sobresalidas;
- 7) diámetro;
- 8) regularidad de la zona pelúcida;
- 9) presencia de detritos celulares.

Un embrión ideal es esférico y compacto. Los blastómeros son de tamaño similar con color y textura uniforme. El citoplasma no es granular ni distribuido desigualmente y contiene algunas vesículas de tamaño moderado. El espacio perivitelino está vacío y de diámetro regular, y la zona pelúcida es simétrica y sin arrugas o pliegues. No deben existir detritos celulares.

Recientemente, hemos adhesionado una tercera técnica para ensayar la supervivencia. Es la técnica de tinsión fluorescente. Muchas células tipos, incluyendo ovocitos y embriones son impermeables a la tinsión fluorescente (fluoreceína) pero son permeables a

los substitutos derivados no fluorescentes como el Diacetato de Fluoresceína (FDA). Las estereasas intracelulares de las células viables luego se pegan a los grupos acetatos liberando la fluoresceína intracelular. Por lo tanto una célula que exhibe fluoresceína debe tener una membrana suficientemente intacta para prevenir la pérdida de la fluorescencia intracelular y presumiblemente estereasas solubles.

SISTEMAS DE CULTIVO

Los embriones se deben guardar viables en una solución de nutrientes durante el período entre la recolección y la transferencia de los embriones. Los factores que pueden afectar la viabilidad durante el corto período de cultivo son la temperatura, pH, osmolaridad, esterilidad y toxicidad del medio.

Excepto durante la evaluación, los embriones se deberán guardar en recipientes cubiertos y en un medio de cultivo a temperatura ambiente o en un horno-incubador. La temperatura en el incubador se deberá mantener 37°C; temperaturas ligeramente superiores a ésta afectarán a los embriones.

Puede ser mejor mantener los embriones a la temperatura del laboratorio (15-25°C), que cambiarlos de esta temperatura a la del incubador.

El medio de cultivo deberá ser amortiguado (buffered) para mantener un pH fisiológico (7.2-7.6) y una osmolaridad de 270-310 mOsM/Kg. La mayoría de los medios de cultivo son bastantes complejos; contienen sales, vitaminas, aminoácidos, con un ion-bicarbonato utilizado como sistema amortiguador (buffer) que depende del equilibrio con una

atmósfera de 5% de CO₂. Esta atmósfera es necesaria para mantener la concentración del bicarbonato. La humedad se deberá mantener cerca de 100% para minimizar la evaporación y el subsiguiente aumento de osmolaridad en el medio.

Es importante que el medio de cultivo y todo el equipo utilizado en la manipulación de los embriones, esté debidamente esterilizado.

El procedimiento más indicado es el de esterilizar el medio por filtración (filtros de 0.22 μ m) y utilizar técnicas estrictamente asépticas. El medio deberá contener antibióticos, por ejemplo, 100 UI de penicilina G y 50 μ g de sulfato de streptomina por ml. Los organismos pueden ser controlados hasta cierto punto, si frecuentemente se colocan los embriones en un medio fresco, esteril, que diluya los microorganismos.

Los embriones se guardan en recipientes transparentes, sellables, inertes, convenientes y de pequeño volumen (5 ml). Tubos de ensayo pequeños trabajan bien aunque deben ser vaciados a otros recipientes para localizar el embrión bajo el microscopio. Cajas pequeñas de Petri también pueden ser utilizadas. El medio puede ser cubierto por una fina capa de aceite de parafina para prevenir la evaporación, reducir la contaminación bacteriana y regular la tasa de cambio de gas entre el medio y la atmósfera.

Existen varios medios de cultivo adecuados para los embriones. Es extremadamente importante adicionar macromoléculas al medio de cultivo para prevenir los embriones de flotar y adherirse al plástico o al vidrio. El aditivo más común es el suero de novillo o ternero, filtrado e inactivado por calor (30 min, 56°C), o albumina bovina. Estos contienen excelentes macromoléculas. El medio de Dulbecco-fosfato

salino bufferado es un buen medio para conservar los embriones por periodos cortos. Las fórmulas comunes para utilizar en la manipulación de embriones se presentan en la hoja adjunta.

TRANSFERENCIA EMBRIONARIA

Las recipientes deben ser de buen tamaño y sanas; novillas adultas o vacas jóvenes deben estar en buenas condiciones.

Al menos un ciclo estral deberá ser observado antes de ser usada, bien sea que vayan a ser sincronizadas o seleccionadas porque estuvieron en estro el mismo día de las donantes.

El método de TE es el método no-quirúrgico a través de la cervix. Inicialmente, los resultados fueron muy pobres. Las razones para conseguir bajos índices de preñez han sido la introducción de infecciones, expulsión del embrión por estímulos sobre el útero y deposición del embrión en una parte no óptima de el útero. Sin embargo, estas razones no parecen ser problemas para técnicos experimentados.

La base de la cola del animal es rasurada, lavada y restregada como para cirugía y se aplica una inyección epidural.

Pajuelas francesas (I.M.V.) de 0.25 ml con sus cubiertas son preparadas y esterilizadas en óxido de etileno; las pajuelas son recortadas aproximadamente 1 cm y así se ajustarán perfectamente al dispositivo Cassou para inseminación. El embrión es aspirado dentro de la pajuela mediante una jeringuilla de 1 ml que se conecta al extremo de la pajuela que contiene el tapón. El embrión y el medio son aspirados como sigue: 2-5 cm de la columna (medio) es aspirada,

seguido por una burbuja de aire de 0.5 cm, luego otra columna de 2-5 cm de medio que contiene al embrión, seguido por otra burbuja. Luego la pajuela es llenada con medio, asegurándose que la primera columna de medio humedezca el tapón.

La pajuela con el embrión es puesta en el dispositivo de inseminación; cubierta por la envoltura plástica y en posición para depositar el embrión, El técnico localiza el CL por palpación rectal. Los labios vulvares de la recipiente se apartan con la ayuda de un asistente y el dispositivo de inseminación se pone en la vagina sin tocar los labios vulvares o la parte posterior de la vagina. Como la mayoría de los embriones son transferidos 6, 7 o 8 días después del estro, la cervix de la recipiente está cerrado y apretado especialmente en novillas; en estos días es más difícil pasar el cervix que durante el estro. Una vez pasado la cervix, el dispositivo de inseminar se dirige al cuerno uterino ipsilateral del CL. Como la bifurcación está solamente 1-2cm de la cervix, el dispositivo Cassou debe estar inclinado hacia el cuerno seleccionado. El cuerno es levantado y enderezado en frente de la punta del dispositivo Cassou antes de ser empujado hacia el cuerno. Una vez que ha vencido la resistencia en el interior del cuerno, se expeló el embrión y el dispositivo Cassou se retira. Un técnico experimentado demora alrededor de un minuto en transferir un embrión. Los problemas encontrados con éste método son: 1) el paso del catéter en el cervix cerrado de las novillas; 2) la deposición relativamente alta del embrión en el cuerno sin causar daños al endometrio; 3) el cansancio del brazo cuando se transfieren muchos embriones en el mismo día, especialmente si no se tiene mucha experiencia; 4) experiencia y destresa manual son necesarias antes de conseguir altos índices de preñez.

TRANSPORTE DE EMBRIONES

Frecuentemente es necesario transportar los embriones del sitio de colección al sitio de transferencia o al laboratorio para ser congelados. Si los embriones van a estar en tránsito por unas horas es preferible ponerlos en pajuelas como se escribe en "Transferencia embrionaria". Sin embargo, esto requiere de una persona que asegure el máximo de protección en su manejo; movimientos bruscos hacen que los embriones queden suspendidos por burbujas de aire. Si los embriones van a ser enviados a largas distancias es aconsejable enviarlos en frasquitos (vials) con tapa de rosca y llenos de medio de cultivo. Una alternativa es ponerlos en pajuelas plásticas sin burbujas de aire; en este caso las pajuelas deben ser selladas.

MANEJO DE LAS RECIPIENTES PRENADAS

Los signos del estro se deben observar muy cuidadosamente en las recipientes después de la transferencia y la preñez se detectará por palpación rectal 50 o 70 días después del calor anterior a la transferencia. Estudios han reportado que el diagnóstico de preñez antes de los 50 días puede causar aborto.

PROCEDIMIENTOS PARA LA CONGELACION Y DESCONGELACION DE EMBRIONES

1. Las ventajas de congelar embriones
 - 1) Tiempo indefinido para almacenar embriones
 - 2) Permite el transporte de embriones por todo el mundo
 - 3) Es un medio para realizar el test de progenie en vacas
 - 4) Mejor y eficiente uso de los embriones producido
 - 5) Introducción de nuevas razas
 - 6) Reducción el costo del mantenimiento de recipientes
 - 7) Posibilidad de mercado internacional
 - 8) Dar inmunidad al ternero

2. Las desventajas
 - 1) Alto costo del equipo de congelación y el entrenamiento de los técnicos
 - 2) Solamente embriones de alta calidad son adecuados para congelación, así es que aproximadamente un 15% de los embriones recolectados deben ser descartados o transferidos en estado fresco.
 - 3) Cerca de una décima parte de los embriones congelados-descongelados son severamente afectados.

Existen muchos métodos para congelar embriones. Nosotros usamos HOXAN CRYOEMBRYO-PSP como la máquina de congelamiento.

- 1) Inicial con embriones de buena e exelente calidad, recolectados 6-8 días después del estro. Preferiblemente, la criopreservación deberá iniciarse después de pocas horas de la recolección.
- 2) Lave los embriones tres veces con el medio estéril de Dulbecco.

- 3) Equilibrio en la solución crioprotectora. Los embriones como toda célula de mamíferas requiere la presencia de un aditivo crioprotector para minimizar los efectos dañinos del congelado y descongelado. La más común solución crioprotectora es el PBS (Dulbecco's fosfato buffered salino) al cual se adiciona glicerol con una concentración final de 1.5 molar (alrededor del 12% del volumen). Los embriones son colocados dentro de esta solución dejando hasta que el glicerol permeabilize el embrión (usualmente 30 minutos a temperatura ambiente), y luego transferido con una pequeña cantidad de la solución crioprotectora dentro de pajuelas.
- 4) Congelamiento controlado: El proceso de congelamiento esta diseñado para controlar la formación y crecimiento de cristales de hielo en la suspensión embrionaria tanto que los embriones se deshidratarán en orden de evitar el potencial de formación letal de hielo dentro de las células. Finalmente las pajuelas son congeladas rápidamente desde la temperatura ambiente hasta cerca -6°C y luego el hielo es inducido a formarse en la solución alrededor del embrión. Después, la suspensión embrionaria es congelada lentamente con una velocidad de $0.25-0.4^{\circ}\text{C}$ por minutos hasta cerca de -35°C . Finalmente después de un corto tiempo de mantenimiento en esta temperatura, las pajuelas son congeladas rápidamente mediante el transaso rápido dentro del nitrógeno líquido.
- 5) Condiciones de almacenamiento; la larga viabilidad de embriones congelados puede ser asegurado solamente mediante el continuo mantenimiento de las pajuelas por debajo de la superficie del

nitrógeno líquido (-196°C). Cálculos formales basados sobre física y química y radiación biológica indica que los embriones apropiadamente almacenados retendrán su viabilidad casi permanentemente. Entonces, si la pajuela es descongelada aún por breves instantes, el embrión será irrevocablemente dañado si se recongela.

- 6) Descongelamiento controlado; Los embriones congelados por medio del procedimiento arriba mencionados requiere un rápido descongelado para una sobrevivencia óptima. El apropiado procedimiento de descongelado depende del tipo de recipiente empleado. Generalmente los embriones en pajuelas de 0.5 ml son entibiados mediante el transporte el transpaso en agua a 37°C - 39°C , la pequeña masa de 0.25 ml permite un descongelado suficientemente rápido.
- 7) Dilución del aditivo crioprotector: Antes del descongelamiento los embriones pueden ser transpasados a una madre de cría, el crioprotector con el embrión deben ser cuidadosamente removidos para prevenir un excesivo efecto osmótico y daños. Dos métodos pueden ser usados para diluir el crioprotector. Primeramente la concentración del crioprotector en la suspensión del embrión se reducido a 6 etapas iguales a intervalos de 10 minutos. En el segundo método, la solución crioprotectora es reemplazada con una solución conteniendo un aditivo que no puede penetrar el embrión, tal como la sacarosa, a la misma concentración efectiva. Bajo esa condición, la sacarosa previene los efectos osmóticos mientras el crioprotector sale fuera del embrión. Una vez que el crioprotector deja el embrión la sacarosa puede ser diluida rápidamente y el embrión está listo para ser transferido.

- 8) Evaluación de embriones; Los embriones pueden ser examinados microscópicamente y aquellos que están dañados pueden ser descartados. La aplicación de tal procedimiento de selección será discutido más adelante.
- 9) Transferencia de embriones; Los embriones ahora pueden ser transferidos por medio de los métodos quirúrgicos o no quirúrgicos.

Nota: Los embriones no pueden ser descongelados adecuadamente si no se conocen los detalles de la congelación de embriones.

La eficiencia de la criopreservación dependerá sobre si los embriones son desechados antes de ser transferidos. Un método patrón se preservar solamente embriones de grado A y A' y luego después del descongelado y dilución descartar los embriones dañados.

CONTROL DE DATOS

Los registros y datos de la historia reproductiva deben ser completos y precisos; fecha de calores y tratamientos; un programa de transferencia de embriones no puede tener éxito si no se tiene esta información segura y disponible a cualquier momento. Nosotros usamos estos tipos de resúmenes en las hojas adjuntas.

COEFICIENTES DE EXITO

Hay muchas formas para interpretar el éxito y muchos factores que influyen en el éxito. Los coeficientes de éxito son representados

estadísticamente; ellos resumen los resultados de muchas vacas que han sido tratadas y no pueden predecir la respuesta de un sólo individuo. Los numerosos procedimientos en TE y las posibilidades para controlarlos se resumen en la Tabla. Esto explica sin lugar a dudas la viabilidad de resultados de TE.

Tabla. Etapas en el proceso de TE y posibilidades para su control en el Paraguay.

Etapas en proceso	Posibilidades para control
1. Selección de donante fértil	moderadas
2. Compra de semen de alta calidad	moderadas
3. Iniciar tratamiento de superovulación entre 9-14 días del ciclo estral	altas
4. Inyección apropiada de drogas superovulatorias	altas
5.C Variabilidad en la respuesta de las donantes a la superovulación	bajas
6. Detección del estro en donantes y recipientes	moderadas
7. Tiempo optima para inseminar, manejo adecuado del semen, buena técnica de inseminación	altas
8.A Recolección de embriones	moderadas
9.B Aislamiento y clasificación de los embriones	altas
10.B Almacenaje de los embriones entre la colección y la transferencia	altas
11.A Transferencia del embrión a la recipiente	altas
12. Viabilidad intrínseca de los embriones	moderadas
13. Selección de recipientes fértiles	moderadas
14. Diagnóstico de preñez, preferible después de 50 días	altas
15. Prevención de abortos	altas
16. Manejo adecuado durante el parto	altas
17. Buen manejo de los terneros	altas
18. Nutrición (donantes, recipientes y terneros)	bajas
19. Vacunaciones y control de enfermedades	moderadas
20. Diferencia de los lotes de producción de drogas superovulatorias	altas
21. Clima	bajas
22.* Buen sistema de registro	altas

* Los estatutos de la Asociación de criadores que rigen los registros de las crías nacidas por medio de TE están aún inestables en el Paraguay.

La Asociación deberá ser contactada antes de seleccionar una donante para un régimen de superovulación, pues en algunos casos es necesario cumplir primero con ciertos requisitos antes de iniciar el tratamiento. El principal requisito es la identificación del tipo de sangre de la donante, del toro, de la recipiente y del ternero para eliminar las posibilidades de que la recipiente sea la madre genéticamente.

A. La falta de cuidado en la recuperación de aquellas vacas sometidas a la transferencia no quirúrgica puede aumentar las posibilidades para el desarrollo de una metritis, pues el equipo utilizado en esta técnica debe pasar a través de la vagina y por esta ruta, introducir gérmenes al útero. Durante la fase luteínica, este tipo de infecciones si no se tratan oportunamente, terminan afectando la capacidad reproductiva del animal, y si el caso es muy severo, pueden terminar en esterilidad. Sin embargo, esto nunca sucede cuando se trata de técnicos responsables y capacitados.

B. Nosotros tenemos una camioneta móvil del laboratorio que tiene la mesa, las sillas, la luz, la luz ultravioleta, el acondicionador de aire, la heladera, el autoclave, el generador, etc. Cuando trabajamos en el campo, esta camioneta es muy útil porque podemos hacer los trabajos de TE cerca del corral, y mantener el ambiente medio-aséptico.

C. En algunos casos, es posible y económicamente factible, recobrar embriones de vacas no superovuladas, luego de un estro normal. Así tan pronto como una donante entra en calor, después de su arribo a la finca o unidad de transferencia y antes de recolectar toda la información sobre su historia reproductiva para iniciar el tratamiento de superovulación, se debe intentar la recolección de por lo menos un embrión. Similarmente, embriones sencillos pueden ser recolectados durante el intervalo de superovulaciones después del parto, y antes de que la vaca se insemine o se sirva normalmente; también se puede utilizar aquellas novillas con ciclos irregulares que no permiten la superovulación. Teóricamente una donante sin someterse a la superovulación puede producir un total de 17 embriones, lo que pueden ser recobrados y transferidos en el último de un año, recolectando un embrión cada 3 semanas.

MISCELANEOS

Si el ganado de carne está pariendo cada 2 años en el paraguay, obviamente hay algunas dificultades y problemas. El conocimiento y entendimiento del problema deberá ayudar a prevenir el pobre potencial reproductivo en el hato de ganado de carne.

Algunas de las causas del bajo porcentaje de terneros nacidos en un hato de vacas manejado con la técnica de la monta natural, son los siguientes:

1. Pubertad retrasada o madures sexual.
2. Pérdidas por posparto largo y la aparición del primer celo posparto.
3. Bajo porcentaje de preñez con 1 o 2 servicios.
4. Demaciado corto tiempo para propagación.
5. Alto porcentaje de mortalidad embrionaria y abortos.
6. Mortalidad de terneros por distosias o partos retardados.
7. Pérdida de terneros por accidentes.
8. Enfermedades.
9. Toros que son muy jóvenes o inmaduros, usados en un número grande de vacas.
10. Poca cantidad de toros en un rebaño grande y potreros muy grandes.
11. Toros infértiles o enfermos.
12. Baja adoptabilidad de las razas o crusas o un ambiente particular.
13. Alto porcentaje de consanguineidad en vacas y toros.
14. Inadecuado nivel de nutrición.
15. Insidencia de enfermedades reproductivas.
16. Elección de inadecuado sistema de servicio.
17. Falta de conocimiento de técnica de cruzamientos.

Ahora no tenemos datos reales actualizados conectados con la causa de bajo potencial reproductivo del ganado de carne en el Paraguay.

Primero de todo debemos cercionarnos del problema que existen tomando en cuenta las causas mencionadas arriba para aplicar y generalizar la inseminación artificial y TE.

REFERENCIAS

1. Procedimientos para Recolección, División, Congelación y Transferencia de Embriones Bovinos. 1986. R.P.Elsden y G.E.Seidel, Jr. Laboratorio de Reproducción Animal, Colorado State University, Fort Collins, Colorado 80523.
2. Embryo Transfer in Cattle. L.E.Donaldson. 1982. Rio Vista Internacional, San Antonio, Texas.
3. Methods in Mammalian Reproduction. 1978. J.C.Daniel, Jr. New York.
4. Clitoral stimulation and the effect of age, breed, technician, and postpartum interval on pregnancy rate to artificial insemination in beef cattle. D.D.Lunsta et al. Theriogenology 19; 555-563(1983).
5. Cattle breed as a source of variation in embryo transfer. L.E.Donaldson. Theriogenology 21; 1013-1018(1984).
6. A comparison between cervical dimensions of pregnant and non-pregnant Santa Gertrudis and Bos taurus cows. D.D.Varner et al. Theriogenology 24; 109 (1985).
7. Beef Cattle. A.L.Neumann. 1977. Seventh edition. New York.
8. Embryo cryopreservation: Current application prospects for the future. W.F.Rall. 1986. Proceedings of the Annual Conference on "Artificial Insemination and Embryo Transfer in Beef Cattle".

PROGRAMA DE SUPEROVULACION Y SINCRONIZACION

F.C.V - U.H.A - LABORATORIO DE T.E.

Oficina de F.C.V - S. Lorenzo
 Telef: 500-930

Nombre del Dueño	Dirección	Telefono
------------------	-----------	----------

Id. Donante	Raza	Dia de celo
-------------	------	-------------

AM/PM

Id. Toro	Id. Recipientes:
----------	------------------

Obs: Mantenga las drogas refrigeradas todo el tiempo, use agujas No. 18 para su inyección intramuscular.

Dia	Donante				Recipiente
//	AM	FSH-P	HL		
	PM	FSH-P	HL		
//	AM	FSH-P	HL		
	PM	FSH-P	HL		
//	AM	FSH-P	HL		2:00 PM PGF 10 recipientes HL
	PM	FSH-P	HL		
//	AM	FSH-P	HL PGF	HL	
	MD		HL PGF	HL	
	PM	FSH-P	HL PGF	HL	
//	AM	FSH-P	HL		↑ Observe el celo parado y escriba.
	PM	FSH-P	HL		
//	AM	Debería estar en celo, si no es así llame al telef. No.			AM
	PM	I.A (2 dosis de semen)			
//	AM	I.A (1 dosis de semen)			AM
	PM				
//	AM	Colecta de embriones			↓
	PM	Transferencia de embriones y congelamiento de embriones.			

The method of preparing the stock solutions

	<u>MW</u>	<u>Mol.</u>	<u>Method</u>
NaCl	58.44	0.154	4.50g-500ml
KCl	74.56	0.154	1.148g-100ml
CaCl ₂ 2H ₂ O	147.02	0.110	1.619g-100ml
KH ₂ PO ₄	136.09	0.154	2.096g-100ml
MgCl ₂ 6H ₂ O	203.30	0.154	3.131g-100ml
MgSO ₄ 7H ₂ O	246.48	0.154	3.796g-100ml
Na ₂ HPO ₄ 12H ₂ O	358.14	0.154	5.515g-100ml
NaHCO ₃	84.01	0.154	1.294g-100ml
Na lactate	112.06	0.154	2.877g-100ml
			(60% solution)
Na pyruvate		0.00154	0.085g
			+
			10ml-0.154M NaCl
			2ml-100ml
Penicillin	200,000U/ml	10,000U/ml	1 bial
			20ml-0.154m NaCl
	100,000U/ml	10,000U/ml	1 bial
			10ml-0.154M NaCl
Streptomycin	1g/bial	5mg/ml	1 bial
			200ml-0.154M NaCl
Phenol red		0.010g/l	0.013g
			10ml-0.154M NaHCO ₃

modified Dulbecco's phosphate buffered saline solution (MD-PBS)

Component	g/l	mM	13 ml	104 ml
2nd.DW	up to 11		0.17	1.36
NaCl	8.00	136.87	8.62	68.96
KCl	0.20	2.68	0.23	1.84
Na ₂ HPO ₄	1.15	8.09	0.68	5.44
KH ₂ PO ₄	0.20	1.47	0.12	0.96
CaCl ₂	0.10	0.90	0.11	0.88
MgCl ₂	0.10	0.49	0.04	0.32
Na pyruvate	0.036	0.33	2.80	22.40
Glucose	1.00	5.56	13mg	104mg
BSA	3.00		(39mg)	(312mg)
Penicillin	100U/ml		0.13	1.04
Phenol red	0.010	0.10	0.10	0.80

The solution must be sterilized by filtration through 0.22 m filter stored at -4°C, and renewed every one week.

BMOC-3 (the culture medium of mammalian embryos)

Component	g/l	mM	13 ml	104 ml
2nd. DW			0.37	2.96
NaCl	5.546	94.88	3.53	28.24
KCl	0.356	4.78	0.40	3.20
KH ₂ PO ₄	0.162	1.19	0.10	0.80
CaCl ₂	0.189	1.71	0.20	1.60
MgSO ₄	0.294	1.19	0.10	0.80
NaHCO ₃	2.106	25.07	2.12	16.96
Na pyruvate	0.056	0.50	4.22	33.76
Na lactate	2.253	20.12	1.70	13.6
Glucose	1.00	5.56	13mg	104mg
BSA	5.00		(65mg)	(520mg)
Strepto.	50 μg/ml		0.13	1.04
Penicillin			0.13	1.04

The solution must be sterilized by filtration through 0.22 μm filter stored at -4°C, and renewed every one week.

Medium No. 16 (the culture medium for mammalian embryos)

Component	g/l	mM	13 ml	104 ml
2nd. DW			0.16	1.28
NaCl	5.534	94.59	4.93	39.44
KCl	0.356	4.78	0.40	3.20
KH ₂ PO ₄	0.162	1.19	0.10	0.80
CaCl ₂	0.189	1.71	0.20	1.60
MgSO ₄	0.294	1.19	0.10	0.80
NaHCO ₃	2.106	25.07	1.99	15.92
Na lactate	2.608	23.28	1.97	15.76
Na pyruvate	0.036	0.33	2.79	22.32
Glucose	1.00	5.56	13mg	104mg
BSA	4.00		(52mg)	(416mg)
Strepto.	50µg/ml		0.13	1.04
Penicillin	100U/ml		0.13	1.04
Phenol red	0.010		0.10	0.80

The solution must be sterilized by filtration through 0.22 µm filter, stored at -4°C, and renewed every one week.

ISOZINE

Isozine is water solution of which effective element is popydone-iodo (PVP-I), which is compound of polyvinylpyrrolidone and iodo. This drug has not only a strong pasteurizing function but also a weak stimulating action to endometrium. And this drug promotes regeneration and repair of endometrium which is contaminated by bacteria.

Composition

This drug contains popydone-iodo 20 mg (an available iodo 2 mg) per 1 ml isozine.

Characteristics

This drug promotes self-purificative function of endometrium and enhances ability of repair to latent and clinical endometritis. Also, this drug improves the function of ovary in the cow and pig.

The method of treatment of serum.

1. Serum is separated.
2. 56°C, 30 min heat-treatment (inactivation)
3. Cool rapidly.
4. Centrifugation.
5. Supplementation antibiotics.

Penicillin (10,000U/ml) 1ml/100ml serum

Streptomycin (5mg/ml) 1ml/100ml serum

6. Subdivision.
7. Stock (-20°C to -80°C).

In advance of using serum, serum should be sterilized by filtration.

FDA method for evaluation of embrionic viability

1. Dissolve FDA in acetone (1mg/ml).
2. Dilute FDA-acetone solution by PBS (1:400-800).
3. Check pH (7.0-7.4).
4. Incubate embryo in FDA for 3 min at room temperature.
5. Transfer the embryo to PBS uncountaining FDA.
6. Evaluate under a fluorescence microscope.

FOR FREEZING

Preparation of Cryoprotectant Solutions

Solution A1

Nº embryos	1 Step		3 Steps	
	PB1	BSA	PB1	BSA
1 - 5	20 ml	60 mg	40 ml	120 mg
6 - 10	30	90	60	180
10	40	120	80	240

Solution A2

Nº embryos	1 Step		3 Steps	
	PB1	serum	PB1	serum
1 - 5	16 ml	4 ml	32 ml	8 ml
6 - 10	24	6	48	12
10	32	8	64	16

Solution A3

Nº embryos	1 Step			3 Steps		
	PB1	BSA	serum	PB1	BSA	serum
1 - 5	16 ml	60 mg	4 ml	32 ml	120 mg	8 ml
6 - 10	24	90	6	48	180	12
10 <	32	120	8	64	240	16

PASS SOLUTIONS THROUGH A FILTER (0.22µm) TO STERILIZE

SOLUTION B1

N ^o embryos	1 Step		3 Steps	
	A1	glycerol	A1	glycerol
1 - 5	9	1	18	2
6 - 10	13.5	1.5	27	3
10	18	2	36	4

SOLUTION B2

N ^o embryos	1 Step		3 Steps	
	A2	glycerol	A2	glycerol
1 - 5	9	1	18	2
6 - 10	13.5	1.5	27	3
10 <	18	2	36	4

SOLUTION B3

N ^o embryos	1 Step		3 Steps	
	A3	glycerol	A3	glycerol
1 - 5	9	1	18	2
6 - 10	13.5	1.5	27	3
10	18	2	36	4

PASS SOLUTIONS THROUGH A FILTER (0.22 μ m) TO STERILIZE

3 Steps

	Nº embryos					
	1 - 5		6 - 10		10 <	
	A	B	A	B	A	B
% glycerol						
6.7	2	4	4	8	6	12
3.3	4	2	8	4	12	6

FOR THAWING

PREPARATION OF CRYOPROTECTANT SOLUTIONS

SOLUTION A

Nº embryos	PB1	Serum
1 - 5	48 ml	12 ml
6 - 10	64	16
10 <	80	20

SOLUTION B

Nº embryos	A	Glycerol
1 - 5	18 ml	2 ml
6 - 10	27	3
10 <	36	4

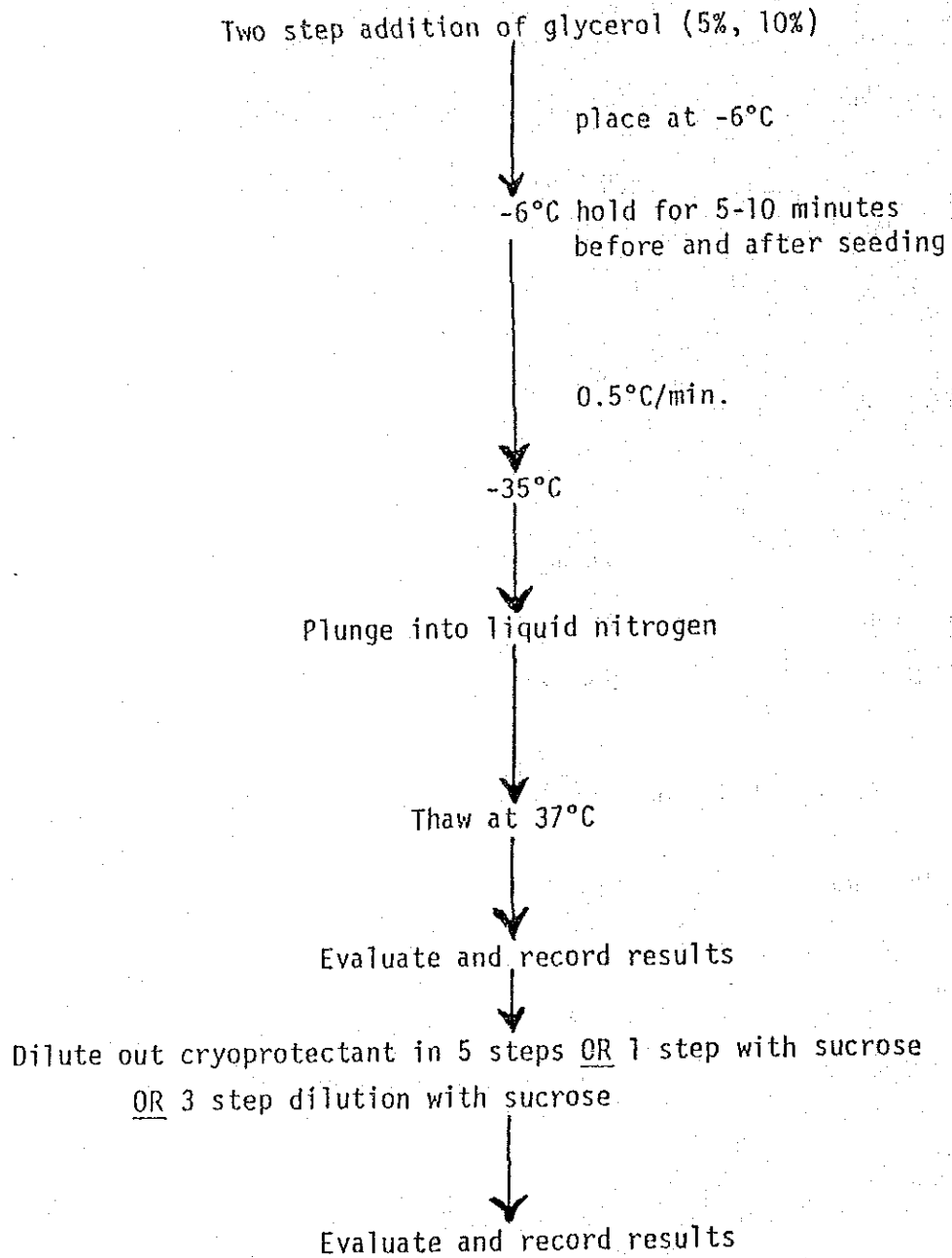
SOLUTION C (1.0 M sucrose)

Nº embryos	Sucrose		
1 - 5	6.8 g	→	20 ml
6 - 10	10.3	→	30
10 <	17.1	→	50

	1 - 5			6 - 10			10 <		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C
6.7% glycerol + 0.3M sucrose	0.33	6.67	3	0.67	13.33	6	1	20	9
3.3% glycerol + 0.3M sucrose	3.67	3.33	3	7.33	6.67	6	11	10	9
— + 0.3M sucrose	7	--	3	14	--	6	21	--	9

SUMMARY

COOLING, FREEZING, THAWING AND EVALUATING PROTOCOL



PROGRAMA DE TRANSFERENCIA DE EMBRIONES PARA EL CURSO DE FISIOPATOLOGIA DE LA REPRODUCCION ANIMAL E INSEMINACION ARTIFICIAL

Lunes 24 de Febrero

Mañana: Aspectos generales de la transferencia de embriones

Tarde: La transferencia de embriones en el Japón - película
Visita de observación al laboratorio de transferencia de embriones de la Facultad de Ciencias Veterinarias. Equipos. Esterilización. Condiciones de trabajo. Programa, etc.
Discusión de los temas tratados.

Martes 25 de Febrero

Mañana: Breve historia de la transferencia de embriones
Embriología de la transferencia de embriones

Tarde: Bases genéticas de la transferencia de embriones
Discusión de los temas tratados.

Miércoles 26 de Febrero

Mañana: Teoría sobre la preservación de embriones
Micromanipulación de embriones.

Tarde: Práctica= Lavado de útero y búsqueda de ovocitos con órganos.

Jueves 27 de Febrero

Mañana: Práctica= Trabajo de campo, colacción, búsqueda, transferencia y congelamiento de embriones.

Tarde: Programas de transferencia de embriones que pueden realizarse en Paraguay.

PRACTICA DE TRANSFERENCIA DE EMBRIONES EN QUYQUYHO-SENACSA

- 31/III Viaje desde la Facultad a la ESTACION DE AISLAMIENTO DE SENACSA EN QUYQUYHO.
Práctica de cateterismo cervical, y cornual (de balon y transferencia de embriones.)
- 1/IV Práctica de ubicación de balon cateter
Práctica de lavado uterino. Grupos 1,2,3.
- 2/IV Práctica de lavado uterino. Grupos 1,2,3.
Prácticas de lavado uterino. Grupos 1,2,3.
Caso real, Recolección, búsqueda y manejo de embriones.
Grupo 1: lavado
Grupo 3: búsqueda y ma
- 3/IV Práctica de lavado uterino grupos 1 y 2.
Caso real, Recolección, búsqueda y manejo de embriones.
Grupo 2: lavado de útero
Grupo 1: búsqueda y manejo de embriones
Práctica de lavado uterino, grupos 2 y 3.
Caso real de recolección, búsqueda y manejo de embriones.
Grupo 3: lavado uterino
Grupo 2: búsqueda y manejo de embriones
- 4/IV Práctica de lavado uterino. Grupos 3 y 1.
Prácticas de lavado uterino. Grupos 1,2,3.

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
UNIVERSIDAD NACIONAL DE ASUNCION

AGENCIA INTERNACIONAL DE COOPERACION
DEL JAPON (J.I.C.A)

DEPARTAMENTO DE REPRODUCCION ANIMAL
LABORATORIO DE TRANSFERENCIA DE EMBRIONES

PROYECTO DE MEJORAMIENTO DE LA REPRODUCCION
ANIMAL

SAN LORENZO * PARAGUAY

1986

LABORATORIO DE TRANSFERENCIA DE EMBRIONES
DEPARTAMENTO DE REPRODUCCION ANIMAL

DATOS DEL ESTABLECIMIENTOS PARA PROGRAMAS DE TRANSFERENCIA DE EMBRIONES

NOMBRE DEL ESTABLECIMIENTO

NOMBRE DEL PROPIETARIO

LUGAR DEL ESTABLECIMIENTO

DISTANCIA

OFICINA + DIRECCION Y TELEFONO

ASESOR VETERINARIO

RESPONSABLE DE LOS TRABAJOS EN EL ESTABLECIMIENTO

CAMINOS PARA LLEGAR AL ESTABLECIMIENTO - CONDICIONES EN DIAS LLUVIOSOS

NUMERO DE ANIMALES: Toros % usado para el servicio
Vacas
Vaquillas de # 1er. servicio
Hembras del rodeo de Inseminación Artificial

RAZAS UTILIZADAS EN SU REBAÑO

% DE PREÑEZ EN VACAS

% DE PREÑEZ EN VAQUILLAS

VACUNACIONES REALIZADAS DURANTE EL AÑO

COMO CLASIFICA SU HACIENDA DE CRIA

INSTALACIONES: Corral, brete, cepo, fuente de agua cercano al corral, calidad del agua, fuente de electricidad, pieza disponible para trabajo, mesa, sillas.
% pastura artificial. Personal para colaborar con los trabajos de corral.
% pastura natural. Personal para colaborar en trabajos de detección de celo.
Tórds Mercadores para detección de celo.

NUMERO DE ANIMALES QUE DESEA USAR COMO DONANTES DE EMBRIONES. RAZAS

Número de vacas que podría usarse como vacas RECEPTORAS

Tiene identificado sus animales. método usado.

Podría dar ciertos datos REPRODUCTIVOS de las vacas donantes y recipientes, como ser:

Nº. de partos,
Nº. de servicios por concepción,
Fecha del último servicio,
Fecha del último parto,
Fecha del último celo.

Tiene experiencia en trabajos de INSEMINACION ARTIFICIAL.

LABORATORIO DE TRANSFERENCIA DE EMBRIONES

DEPARTAMENTO DE REPRODUCCION ANIMAL

PROGRAMA DE TRABAJOS A SER REALIZADOS
=====

- * Establecer contacto con el productor que desea realizar un programa de TRANSFERENCIA DE EMBRIONES en su establecimiento.
- * Visita al establecimiento para observación de los animales candidatos al programa y sus instalaciones.
- * Vista al establecimiento para realizar la toma de datos de las candidatas, ESTADO REPRODUCTIVO DEL ANIMAL, toma de muestra para brucelosis, trichomoniasis, campylobacter fetus e identificación si fuere necesario.

RECOMENDACION :

- * Las vacas DONANTES y RECIPIENTES deben estar vacías al tacto rectal, ciclando estructuralmente con un post-parto mínimo de 70 días.
- * Una vez seleccionadas las DONANTES y RECIPIENTES destinar a un piquete de buena pastura.
- * Controlar los celos de las DONANTES y RECIPIENTES dos veces por día (mañana y tarde) y comunicar los datos de los mismos al laboratorio de Transferencia de Embriones de la Facultad de Ciencias Veterinarias Tel. 500-930 y/o 500-392 (Misión Técnica Japonesa para la Facultad de Ciencias Veterinarias).
- * Utilización de Tornos con desviación despene para detección de celo del plantel de vacas DONATES y RECIPIENTES.
- * Serán considerados celos útiles aquellos en que la hembra se deja montar solamente.
- * Una vez que las DONANTES y RECIPIENTES hayan mostrado 2 celos con intervalo 21 días estaría listo el rebaño para iniciar el programa. Lo ideal sería observar tres celos.
- * El PROGRAMA consiste en aplicar cuatro días consecutivos hormona foliculo estimulante, dos veces al día, Al tercer día de aplicación de hormona foliculo estimulante, se realiza también tres aplicaciones de prostaglandina. Todas la inyecciones se harán en forma intramuscular. Las dosis preparadas previamente recibirán fraccionadas en jeringas listas para su aplicación.
La DONANTE: presentará síntomas de celo el quinto día, se inseminará artificialmente, a las 12^a hora y 24 horas de la aparición del celo parado.
Las RECIPIENTES que se les indicará por el programa, recibirán al XXX segundo día de los trabajos una dosis de PROSTAGLANDINA, que recibirán también fraccionadas en jeringas listas para su aplicación intramuscular. En caso que la DONANTE no presente síntomas de celo, parado el quinto día, se suspende el trabajo, pues implica que el animal no respondió bien a la SUPEROVULACION. A los siete días de la inseminación artificial se realizará la recolección y transferencia por el método no quirúrgico.

LABORATORIO DE TRANSFERENCIA DE EMBRIONES

DEPARTAMENTO DE REPRODUCCION ANIMAL

REQUISITOS PARA PODER REALIZAR UN PROGRAMA DE TRANSFERENCIA DE EMBRIONES

- * Deseo del propietario de realizar un programa de transferencia de embriones a nivel experimental, dentro del Proyecto de Mejoramiento de la Reproducción Animal que se lleva a cabo en la FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS en colaboración con el gobierno del Japón.
- * Que tengan caminos de acceso fácil para llegar al establecimiento donde se realizarán los trabajos.
- * Que el propietario cuente con animales candidatos a DONANTE aptos para el trabajo de T.E y al mismo tiempo un lote de 10 hembras por cada donante que es seleccionada, en condiciones aptas para transferencia por el método no quirúrgico de Transferencia de embriones.
- * Tener un corral con brete y cepo donde se realizará los trabajos de selección, superovulación, inseminación artificial de las donantes y recolección y transferencia de los embriones obtenidos.
- * Disponer de un piquete para las donantes y recipientes con buena pastura, y no lejos del corral para los trabajos de detección de celo, aparte de animales para su tratamiento.
- * Si dispone de toros marcadores para la detección de celo en el rebaño de donantes y recipientes se les puede facilitar CHIN BALL* para los toros marcadores (que ayudarían para identificar las vacas en celo) por intermedio del Proyecto de Mejoramiento de la Reproducción Artificial.
- * Es importante que las vacas DONANTES y RECIPIENTES se encuentren en buenas condiciones de nutrición y manejo, de modo de no ser sometidos a STRESS.
- * Para la detección de celo de los animales, el propietario del establecimiento deberá contar con personal experimentado y responsable para el efecto.
La inseminación artificial se hará con semen congelado perteneciente al propietario, en la vaca DONANTE de embriones. El semen congelado utilizado para el efecto debe ser de fertilidad conocida.

TABLA 1. PROGRAMA DE MODELO DE TRANSFERENCIA DE EMBRIONES.

DIA																						
DONADORAS	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	FSH 0	FSH 24mg	FSH 12mg	FSH 12mg	FSH 12mg	FSH 12mg	AI	RECOLECCION DE LOS EMBRIONES Transferencia
	SELECCION DE DONADORAS																					
	PG*																					
	PG**																					
	PG Panacelan																					
	CELO																					
	-1 0 +1																					
	0.55 (PG FSH)																					
	PG**																					
	PG*																					
	PG**																					
	RECEPTORAS	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	PG**	PG*	PG**	PG**	PG**	
SELECCION DE RECEPTORAS																						
PG**																						
PG*																						
PG**																						
PG*																						
PG**																						
PG*																						
PG**																						
PG*																						
PG**																						
PG*																						

PG* Panacelan
PG** Estranate

DONOR SCHEDULING AND SUMMARY CARD

No. _____

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31

Owner: _____

Date of Registered: _____, ID: _____

Breed: _____

Coll.No.							
Date							
No. Ova							
No. Fert.							
NO. ET							
No. FROZE							
No. Preg.							
Bull							

JAN	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21

Pedigree

Comments:

No. _____

RECIPIENT SCHEDULING AND SUMMARY CARD

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31

Owner: _____

Date of Registered: _____, ID: _____

Breed: _____

Date	Donor Bull No.	Sta.	Grd.	Syn.	Preg.

JAN	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21

Date	Action

Comments:

DONOR RECORD

No. _____

Donor ID: _____, Owner: _____

Superovulation:

Gonadotrophin: _____, Route: _____
 Exam. of Ovary on the Day Before Superovul.: _____
 Date Started: _____, Day of Estrus Cycle: _____
 Date of Last Estrus: _____
 Date of Last but one Estrus: _____

Date	Time	Dose	Route	By

Prostaglandin:

1. Date _____, Time _____, Dose _____, Route _____, By _____
 2. Date _____, Time _____, Dose _____, Route _____, By _____
 3. Date _____, Time _____, Dose _____, Route _____, By _____

Estrus: Date _____, Time _____, Signs _____

Breeding: Bull: _____, Owner: _____

Service	Date	Time	Amount	Ease of Pass	Mucus	By
1						
2						
3						
4						

Semen Exam.: _____, Semen Units Used: _____

Collection:

Date of Collection: _____, Days after Estrus: _____
 Corpora Lutea: L _____, R _____, Total _____
 Follicles: L _____, R _____, Total _____
 Ease of Passing: _____, By: _____
 Method of Collection: _____
 Skill of Collection: _____
 Embryos Collected: _____

Stage	Rank	ID	Stage	Rank	ID	Stage	Rank	ID
1			7			13		
2			8			14		
3			9			15		
4			10			16		
5			11			17		
6			12			18		

Early Morula: EM, Compacted Morula: CM, Late Morula: LM,
 Very Early Blastocyst: VEB, Early Blastocyst: EB,
 Late Blastocyst: LB, Shrinked Blastocyst: SB,
 Hatched Blastocyst: HB.

RECIPIENT RECORD

No. _____

ID: _____, Owner: _____

Synchronization:

Natural

Prostaglandin

1	Date	Time	Dose	Route	By
2	Date	Time	Dose	Route	By
3	Date	Time	Dose	Route	By

Date of Last Estrus: _____

Date of Last but one Estrus: _____

Exam. of Ovarian: _____

Day of Estrus Cycle: _____

Donor ID: _____, Bull ID: _____

Asynchrony to Donor: _____

Date & Time of Transplantation: _____

ID of Embryo Transplanted: _____

How embryo: _____

Method of Transplantation: _____

Ease of Passing: _____

By: _____, Skill of Transplantation: _____

Corpora Lutea: _____, Side: _____

Anesthesia: _____

Pregnancy: _____

Date _____, Date _____

Comments: _____

No. _____

FREEZING RECORD

Date of Freezing: _____

No. Embryo	ID	Date of Coll.	Donor	Bull	Day after			STG	GRD	Zona	ID Straw	No. & ID Cane	No. Canister	Thawing	Comments
					Estrus	STG	GRD								

Medium: _____, Cryoprotectant: _____, RUC ↓ SEAL ↓
 Method of Addition: _____, Time & Temp. of Equilibrium: _____, | |
 Program of Cooling: _____
 Time from Collection to Cooling: _____, How Preserved: _____, | |
 Comments:

No. _____

THAWING RECORD

Date of Thawing: _____

No. Freezing	ID Embryo	Thawing Method	Method of Removal Cryoprotectant	Just after Thawing	During Dilution	After Washing	Before Loading	Transplantation or Incubation	

Comments:

No. _____

CULTURE TEST RECORD

Date of Culture: _____

No.	Embryo	ID	STG	GRD	Zona	How	Culture				Time Started	Time Finished	Observations				Result	Use
							Medium	Serum	BSA	Atoxos.			1st	2nd	3rd	4th		

Comments:

No.	Date of		GIT	Superovulation			Ovary		Day after Estrus	Total No.		non-Fert.	Comments	
	Coll.	Donor		PG	Estrus	Bull	CL	FO		Embryo	A			B

No.	Date of		Asynchrony	Corpora Lutes		Ease of Passing	Method ET	Day after Estrus	ID Embryo	STG	GRD	How By	Preg.
	ET	Recipient		Side	Other								

No. _____

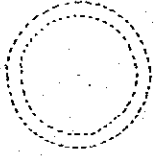
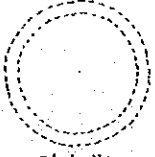

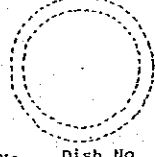
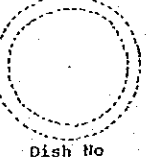
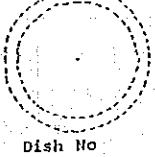
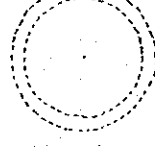
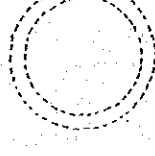
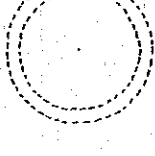
Embryo Transplantation Record

Date of Collection: _____ Day after Estrus: _____
 Donor ID: _____, Owner: _____, Bull ID: _____
 No. Collected: _____, No. Transferable: _____
 No. Frozen: _____, How Frozen: _____, Why Frozen: _____

Embryo					Recipient			Prog. check cycle			
No.	Stage	Grade	Zone	Slide	By	IU	Pread	Syn.	50-60 Days	Length	Comments

Comments:
 Method of Collection: _____ Gauze French, _____ Body Flush
 _____ cc Cuff, _____ Horn Flush

Morphological State

No		Dish No		Date	
Stage		Stage		No	
Class		Class		Dish No	
					
No		Dish No		No	
Stage		Stage		Stage	
Class		Class		Class	
					
No		Dish No		No	
Stage		Stage		Stage	
Class		Class		Class	
					

Comments: _____ Donor: _____
 No. of embryos collected: _____

PARA SUPEROVULACION DE CONEJA

1. FSH

Una botella de FSH contiene 50 mg FSH.

Para preparar la solución salina de 1 mg/ml FSH como la concentración final, hay que disolver con 50 ml 0.9 NaCl por cada botella.

Luego, puede repartir 1 mg/ml FSH 3.5 ml por cada tubo.

Conserve estos con tapa en el congelador (-20°C)

2. HCG

Una ampolla de HCG contiene 5000 IU HCG. Para preparar la solución salina de 300 IU/ml HCG como la concentración final, hay que disolver con 16.6 ml 0.9% NaCl por cada ampolla. Luego, puede repartir 300 IU/ml HCG 1.5 ml por cada tubo.

Consrve estos con tapa en el congelador (-20°C).

PARA ANESTESIA DE CONEJO

1. Trapanal

Una ampolla de Trapanal contiene 1.0 g Trapanal. Para preparar la solución agua destilada de 0.025 g/ml Trapanal como la concentración final, hay que disolver con 40 ml agua destilada por cada ampolla.

Luego, puede esterilizar 0.025 g/ml Trapanal con el filtro (0.22 μ m).

Conserve este con tapa en la heladera.

PLAN DE EXPERIMENTACION USANDO EMBRIONES DE CONEJOS

OBJETIVOS:

- 1º) Dominar los procedimientos del manejo de embriones de mamíferos in vitro.
- 2º) Llevar a cabo varios experimentos concernientes a la fisiología de los embriones de mamíferos durante el invierno.

METODOS:

- 1º) Como cuidar los conejos

Ambos, macho (2 cabezas) y hembra (10 cabezas) deben ser adultos. Ellos, especialmente las hembras deberán ser cuidadas individualmente en orden de su mejor aprovechamiento.

- 2º) Método de superovulación

Los conejos serán superovulados por medio de la aplicación de (FSH) hormona folículo estimulante y (HCG) gonadotropina coñonica humana. La FSH será aplicada por vía subcutánea, a la dosis de 0,5 mg/conejos, dos veces por día con intervalo de 12 hs. durante 3 días; y 300 ui de HCG por vía intravenosa aplicada 12 hs. después de la última aplicación de FSH. Inmediatamente después de la aplicación de HCG las conejas serán servidas por monta natural.

- 3º) Estados del desarrollo de embriones

Estados del desarrollo	Tiempo después del servicio (hs.)	Localización
Cigoto	14 - 22	oviducto
2 células	20 - 28	"
4 células	26 - 32	"
8-16 células	32 - 60	"
mórula	60 - 72	oviducto y útero
blastocito	70 - 144	útero

PROGRAMA DE SUPEROVULACION Y TRANSFERENCIA DE EMBRIONES EN CONEJOS

	Mar	Mier	Jue	Vier	Sab	Dom	Lun
7:00hs.		FSH	FSH	FSH			
18:00hs.	FSH	FSH	FSH	HCG+servicio			recolec- ción. 60 hs.
MAYO	20	21	22	23	24	25	26
JUNIO	3	4	5	6	7	8	9
	17	18	19	20	21	22	23
	24	25	26	27	28	29	30
JULIO	1	2	3	4	5	6	7
	8	9	10	11	12	13	14
	15	16	17	18	19	20	21
	22	23	24	25	26	27	28
	29	30	31	Agost 1	2	3	4
AGOSTO	5	6	7	8	9	10	11
	26	27	28	29	30	31	SEPT 1
SEPTIEM.	2	3	4	5	6	7	8
	9	10	11	12	13	14	15
	16	17	18	19	20	21	22

La extensión de este programa es de 14 semanas, a partir del 20 de mayo hasta el 22 de septiembre exceptuando las semanas que tienen feriados. El tratamiento con la hormona folículo estimulante (FSH) comenzará los días martes de cada semana. Los días viernes se hará la aplicación de la hormona gonadotropina corionica humana (HCG), e inmediato servicio por monta natural de las conejas tratadas. Los días lunes de cada semana, es decir 60 horas después del servicio, se hará recolección de los embriones por el método quirúrgico.

Se utilizarán 2 conejas cada semana a partir del 20 de mayo hasta el 28 de julio, un total de 16 cabezas. Desde el 29 de julio hasta el término del programa se reutilizarán los animales de las primeras semanas.

Durante los meses de agosto y septiembre se realizarán los trabajos de transferencia de embriones en las conejas receptoras que serán un total de 10 cabezas.

Los conejos machos y las hembras donantes deberán ser de la misma raza y las receptoras de una raza diferente.

CERTIFICACIÓN SANITARIA PARA TRANSFERENCIA DE EMBRIONES EN GANADO

Introducción

El movimiento internacional de carga genética del ganado ha tenido un significativo impacto sobre el desarrollo de la industria ganadera en varios países. Por lo tanto con mejorados procedimientos de T.E desarrollados en la última década, el movimiento de cargas genéticas por T.E. está llegando a ser crecidamente aceptable.

En orden de mover la carga genética de esta forma, la certificación sanitaria de genética sanitaria de toros, genética de hembras, procedimientos de transferencia y medio de transporte, como también la certificación sanitaria de los recipientes seguido al implante es esencial. Los problemas técnicos encarando el cuidado en el intercambio de embriones es esencialmente común para todos los países, por lo tanto el rápido desarrollo tecnológico está creando una amplia disparidad en la reglamentación sanitaria usado por varios países para controlar la T.E en la ganadería.

Ciertas reglamentaciones han servido para el intercambio internacional de embriones. Estas reglamentaciones son presentadas para servir como base para el desarrollo reglamentación Standar internacional reconocida para el movimiento de la carga genética por medio de la Transferencia de embriones.

PRINCIPALES PROBLEMAS SANITARIOS

Un limitado número de enfermedades son conocidas como transmsible atravez del semen.

Luedke, demostró la presencia del virus de la enfermedad lengua azul en el semen bovino, entonces, conclusivamente los trabajos no han demostrado que el virus de la enfermedad de la lengua azul es transmitido a los embriones. Bowen y Howard han hallado que el citado virus no cruza la zona pelucida. Cuando la zona pelucida es removida el virus de la lengua azul rápidamente se implanta en las células del blastomero ya sea morula o blastocito joven.

Reglamentaciones Federales y Estatales en relación con un rebaño positivo con pseudo rabia, en el Est. de Iowa, decidieron utilizar la transferencia de embriones como único método para preservar el material genético en un ato de porcinos. En las estaciones de quarentena fueron puesto facilidades para la recolección de embriones.

Los embriones fueron recolectados de 30 narranas donantes 4 ó 5 días después del servicio.

Todos los donantes narranas y verracos habían demostrado síntomas clínicos de pseudo rabia y portando un título positivo por nueve días o más.

Los embriones fueron aislado y movido bajo estricta condiciones sanitarias en una granja 4 millas de distancia utilizando un rebaño SPF.

Resultaron 25 preñeces. En septiembre 1° 1980 ; 17 camadas habían parido con 7.9 lechones nacidos vivos por camada.

La más vieja camada fue 90 días de edad. Todos los recipientes y lechones han sido testados por muestra de sangre con intervalos de 30 días.

Las madres recipientes fueron testadas aproximadamente 10 días antes de la implantación y los lechones fueron testados a las 2 semanas de edad.

Gwatkin demostró que ciertos virus que pueden pasar a través de la zona pelúcica y Brackett y colaboradores mostraron que el virus puede ser introducido en el huevo por medio del espermatozoide fertilizante.

El examen por la técnica de fluorescencia direct de anticuerpos al final del cultivo mastró que el antigóno viral se había adherido a la superficie externa de la zona pelúcica pero no se ha visto que el virus haya penetrado dentro del blastocito por sí mismo.

Otras investigaciones claramente han demostrado que ciertas infecciones virales pueden ser transmitidas verticalmente por medio de la transferencia de embriones de ratones.

Estudios sobre animales de laboratorio han mostrado que las virosis varían de ser o no trasmisibles atraves de los gametos o capaces de atravesar la zona pelúcica e infectando al embrión . Por lo tanto, el standar sanitario no puede ser limitada exclusivamente a estos agentes que son recientemente conocidos como transmisibles por medio de los embriones. (semen y/o huevo). El embrión bajo condiciones controladas es muchas veces menos probable capaz de transmitir enfermedades que sin la donante misma haya sido transportada.

La determinación de que los embriones juvenes de bovinos no llegan a ser infectados por ciertos agentes, debe permitir facilitar la restricción en las reglamentaciones.

Con este grado adicional de seguridad un crecido número de países estan incurriendo en el intercambio genético por medio de la transferencia de embriones. Tales países necesitan desarrollar requisitos sanitarios para importación que esten dentro de la competencia de la ciencia de la transferencia de embriones y el diagnostico de las enfermedades de animales , y son ideadas para proporcionar máxima protección en contra de la introducción de enfermedades en el ganado doméstico de sus países. La lista de enfermedades son diferentes para cada país pero la mayoría de esas enfermedades enfeciosas serán encontradas en la siguiente sección.

ENFERMEDADES SUJETAS A LA CERTIFICACION TERRITORIAL (División política)

Ciertas enfermedades del ganado están confinadas a una área geográfica específica en el mundo. Aquellos territorios que son conocidos libres de enfermedades deben ser escogidos para proveer certificación territorial por medio de estudios epidemiológicos y examinar las enfermedades comunes de rutina.

Las enfermedades sometidas a la certificación territorial están identificadas en la tabla I como clasificación I. Las especies susceptibles a tales enfermedades estan listadas en la tabla II.

Cuando el país importador esta confiado que el lugar de exportación esta manteniendo un adecuado programa sanitario gubernamental para asegurar la cerificación territorial de estar libre de una enfermedad específica, no necesita ningun tipo de examen para dicha enfermedad a realizarse en las donantes.

ENFERMEDADES SUJETAS A LA CERTIFICACION DE REBAÑO

Algunas enfermedades existen en limitadas áreas de un país. La libertad de tales enfermedades en otras áreas de esos países puede ser científicamente apoyada mediante la vigilancia de las enfermedades y por epidemiología.

Ciertas otras enfermedades se prestan por si mismas a programas de control que involucren exámenes regulares de todos los animales susceptibles dentro del rebaño y otros introducidos al rebaño. Las enfermedades sujetas a la certificación de rebaño estan identificadas en la tabla I como clasificación II.

ENFERMEDADES QUE REQUIEREN LA CERTIFICACION DE LOS ANIMALES DONANTES

Cada una de las enfermedades citadas pueden ser aplicables a esta categoría si el alto nivel de certificación no pudiera ser mantenido. Además, ciertas enfermedades son tan difundidas o difíciles de controlar y diagnosticar que la certificación de rebaño no es practicable ni posible.

De modo que la certificación de cada donante es requerida. Las enfermedades que requieren la certificación de los animales donantes estan identificados en la Tabla I como clasificación III. Reconocidos test que pueden ser usados para la certificación de los animales donantes previamente han sido descritos.

Ciertos países requieren certificación sanitaria del toro donante para calificar el semen para la importación.

Los requisitos para la importación de semen pueden también servir como requisitos para los toros donantes, excepto una adhsional protección sanitaria de las transferencias de embriones (descarta) tales severos requisitos sanitarios del toro donante.

LOS MICRO ORGANISMOS QUE REQUIEREN CONTROL POR MEDIO DE LA SANITACION, HIGIENE Y TERAPIA.

Los micro organismos presentes en el medio embrionico podría ser derivado de una infección en el oviducto, utero o liquido seminal. Un cierto número de microorganismos son comunes en el semen animal. Muchos de esos son de bajo patogenisidad y no causan enfermedad al ganado. El más efectivo medio para controlar esos microorganismos son una apropiada sanitación e higiene del animal en el local de la recolección de embriones.

Adhesión de preparados de antibioticos al semen o a los embriones puede ser util para proveer un grado de control pero no se debería dejar todo sobre ello.

Los microorganismos primarios que caen en esta categoría son:

- 1) Escherichia coli
- 2) Proteus sp
- 3) Corynebacterium sp
- 4) Pseudomonas sp
- 5) Staphylococcus sp
- 6) Mycoplasma sp

En la transferencia de embriones del ganado la certificación de las donantes 30 días antes y por el periodo de 30-60 días siguientes al servicio, es esencial para verificar su estatus sanitarios y libre de enfermedades infecto contagiosas y comunes. Además, el país importador debería requerir 30 a 60 días con apropiados exámenes para asegurar que no hayan tenido ninguna enfermedad transmisible por la T-E. Todas estas condiciones debería encontrarse bajo vigilancia sanitaria oficial entonces esa certificación sanitaria extendida con los embriones puede cumplir el requerimiento oficial del país importador.

PROCESAMIENTO DE EMBRIONES

La metodología de la colección de embriones varía ampliamente, dependiendo de la especie y el estado de desarrollo de los embriones.

Para algunas especie se requiere la cirugía y en algunos casos esto puede ser hecho específicamente. Para el ganado bovino y equino los embriones son colectados por método no quirurgico. El metodo quirurgico no se usa en vacas y yeguas de valor. El metodo no quirurgico no es aceptico; es similar a la colección de semen en ese respecto.

Se puede reducir grandemente la contaminación por medio de las siguiente precauciones.

- 1) Colectar y aislar los embriones en un ambiente limpio

- 2) Lavar la parte posterior del animal donante cuidadosamente y luego tratarlo con solución antiséptica.
- 3) Tener todos los equipos esterilizados antes de empezar.
- 4) Usar medium esteril para el lavado de las donantes y el almacenamiento de los embriones; mantener el recipiente tapado.
- 5) Después de aislar los embriones, lavar por lo menos tres veces en otro medium esteril con nuevas pipetas también esteriles cada vez.
Tener un factor de dilución 1:50 en cada lavado (ejemplo sujeta de 10 microlitro y 0,5 de medium)
- 6) Poner antibiotico en el medium. La cantidad Standar es de 100 IU penicilina y 50 microgramas de sulfato de streptomycina. Otros antibioticos también se pueden usar; algunas veces se adhesiona agentes antifungulcus.
- 7) Los embriones deben ser manipulados en forma esteril. También la ubicación y baño de los embriones puede ser hecha adecuadamente en una habitación limpia con un minimo de corriente de aire.
- 8) El medium usado para coleccionar, almacenar y transportar embriones puede contener patógenos provenientes del suero sanguíneo o suero albúmina. La esterilización standar por filtración eliminará microorganismos grandes tales como bacterias. Entonces, varios casos alguna virosos podría causar problema. Suero sanguíneo de animales sanos y apropiadamente testados ocasionario menos riesgos que el suero fetal bovino, ambos en una comparación estadística, porque existe la posibilidad que la neutralización de anticuerpos neutralizaría virosis
Otra opción es usar suero de otras especies tal como caballo, para embrión bovino.

IDENTIFICACION DE EMBRIONES CONGELADOS

Los siguientes minimo requerimientos deben ser considerados.

- 1) Nombre y número de registro de las donantes.
- 2) Nombre y número de registro del toro /ó el código de las Asociaciones nacionales decriadores.
- 3) Fecha en que los embriones fueron coleccionados y/o congelados.
- 4) Estado de gestación (ejemplo 7 días del estro)
- 5) Nombre de la organización que coleccionó o congeló los embriones (o el código)

CONCLUSION

El interés en el movimiento de las cargas genéticas por medio de la transferencia de embriones continua creciendo.

Como la criopreservación de embriones llegó a ser crecidamente practico, está siendo el método de intercambios de cargas genéticas entre países con la capacidad científica para realizar esto con éxito y seguridad.

Bilton et al ha demostrado que el ganado bovino puede ser transportado barata y rápidamente como embrión congelado de un país a otro.

Productos vivos estan siendo producidos de embriones de vacas y ovejas congelado y descongelado mediante el uso continuo simple y razonablemente eficiente de la técnica de congelamiento de fondo para morula compacta y blastocito joven de esas dos especies.

Usando glicerol y un rápido procedimiento de congelado y descongelado, Bilton demostró una tasa de 44% de embriones que sobrevivieron en bovino. Limitado éxito se ha obtenido con la técnica de congelación profunda experimentado en embriones de caballos, por el contrario embriones de cerdos no sobrevivieron a un estado viable con la presente técnica.

Cada país importador está interesado en la protección de la salud de su rebaño nacional y también beneficiarse con la introducción de deseables razas de ganado. En orden de realizar esto a través de la transferencia de embriones debería de haber una certificación sanitaria Standart desarrollado para uso internacional como para que esté disponible a todo posible país importador como base de su reglamentación específica. La información contenida en este papel tiene la intención de servir como estímulo a tales prácticas.

No.	Date of ET	Recipient	Asynchrony	Side	Corpora Lutea	Comments	Ease of Passing	Method	Day after Estrus	Embryo	STG	GRD	How	By	Preg.
1	29-I-86	1782	0 (PG)	R	A'		- 2.5 mm	through cervix	7	MP0161 (Pro)	B (str) A'	A'	zp	Caj	4/III
2	"	NEVADA W	0 (PG)	L	A'		- 3.0	"	7	PS 027 (Pro)	B (str) A	A		Jim	-
3	"	NEVADA V	-1 (PG)	R	A		- 3.0	"	6	PS 027 (Pro)	debris B	B		Fra	-
4	"	1722	0 (N)	L	A	expander no use	- 2.5	"	7	MP0161 (Pro)	B (str) A'	A'		Cac	?
5	"	2332	0 (N)	R	B		- 3.0	"	7	MP0161 (Pro)	B (str) B	B	zp	Ko	1/III
6	31-I-86	2272	+1 (PG)	R	B		- 2.5	"	8	PS 18	EB	B		Fra	?
7	"	1611	0 (N)	R	A		- 2.5	"	7	PS 18	"	A'		Caj	?
8	"	1603	0 (N)	R	A		blood 3.0	"	7	PS 18	B	A'		Caj	-
9	"	2354	0 (N)	R	A			"	7	PS 18	B EB	B B		Fra	2/III
10	"	2360	0 (N)	R	?			"	7	PS 18	B	A		Cac	+(25/IV)
11	21-II-86	№ 3	0 (PG)	L	A		- 2.5	"	7	PS54	VER	A		Fra	+(19/VI)
12	"	11	-1 (PG)	R	B		- 2.5	"	6	PS54	"	A		Jim	+(19/VI)
13	"	8	0 (PG)	L	A'		- 2.5	"	7	PS54	"	A		Caj	+(19/VI)
14	"	4	0 (PG)	R	A'		- 2.5	"	7	PS54	"	A		Caj	10/III
15	"	23	0 (PG)	R	?		- 2.5	"	7	PS54	"	B		Cac	7/III

Asynchro

Sta. Annen

No.	Date of Coll.	Donor	GTH	Superovulation			Ovary			Day after Estrus	Total No. Embryo	A	B	C	D	non-Fert.	Comments
				PG	Estrus	Bull	CL	PO	CL								
1	3-XII-85	PS 21	FSH 5-4-3-2	Parasetat 20-10-10	26-XI-85	Douglas	1-5	1-0	6.5	0	-	-	-	-	-	REPEAT BREEDER	
2	"	PS 22	"	"	25-XI-85	Ebus	5-7	0-0	7.5	8	-	-	-	8	-		
3	20-XII-85	PS 8206	"	24-12-12	12-XII-85	"	3-4	1-0	7.5	1	-	-	-	1	-		
4	17-I-86	PS 8206	Single	-	10-I-86	"	1-0	0-0	7.0	0	-	-	-	-	-		
5	21-I-86	PS 22	"	-	14-I-86	"	0-1	0-0	7.0	1	1	-	-	-	-	frozen	
6	23-I-86	PS 19	"	-	16-I-86	Douglas	0-1	0-1	7.0	0	-	-	-	-	-		
7	31-I-86	PS 6	FSH 5-4-3-2	24-12-12	24-I-86	Ebus	5-2	0-0	7.0	3	2	-	1	-	-	frozen	
8	31-I-86	PS 18	"	"	23-I-86	M.N.	3-7-8	1-0	7.5	11	8	2	1	-	-	ET & frozen	
9	6-II-86	PS 8206	Single	-	30-I-86	Bermi	0-1	0-0	7	0	-	-	-	-	-		
10	7-II-86	S. Carmen 8526 (NP)	FSH 5-4-3-2	24-12-12	31-I-86	frozen semen	3-4 4-5	0-0	7	10	-	-	-	10	-		
11	19-II-86	P. Azul 8222 (SP)	"	"	13-II-86	?	5-7 3	0-0	6	0	-	-	-	-	-		
12	21-II-86	S. Carmen 8554 (NP)	"	"	14-II-86	Calcutta	5-2	0-0	7	8	4	1	1	2	-	ET	
13	28-II-86	PS 19	"	"	20, 21-II-86	M.N.	5-4	0-0	7-8	2	-	1	1	-	-	culture	
14	-----	P. Azul 8131 (SP)	"	"	no estrus	---	---	---	---	---	-	-	-	-	-		
									total	44	15	4	4	21			

RESULTADO DE EMBRIONES CULTIVADOS

	F.C.V.	POZO AZUL	STA. CARMEN
EMBRIONES CULTIVADOS	3	0	1
EMBRIONES DESARROLLADOS	3	0	0
DESARROLLADOS	100	0	0
TRANSFERIDOS	0	0	0
CONGELADOS	0	0	0
NO CONGELADOS	3	0	1

RESUMEN DE TRANSPLANTE

	F.C.V	POZO AZUL	STA. CARMEN
FRESCO	5	0	5
PREÑEZ OBTENIDA	3 *	-	3
CONGEL.	5	0	0
PREÑEZ OBTENIDA	1	-	-

Para recipientes de estancia Quyquyhó

*

CALIDAD DE EMBRIONES RECOLECTADOS

	F.C.V.	POZO AZUL	STA. CARMEN	TOTAL
TRANSFERIBLE	17	0	6	23
A	4	-	4	8
A'	7	-	0	7
B	3	-	1	4
C	3	-	1	4
INTRASFERIBLE	9	-	12	21
D	9	-	12	21
DEGENERABLE	9	-	12	21
INFERTIL	0	-	0	0
TOTAL	26	0	18	44

LAVADO SIMPLE

DONANTE N°	TOTAL DE C.L.	EMBRION COLECTADO	DESARROLLO	GRADO
8206	1	0	-	-
22	1	1	ER	A
19	1	0	-	-
8206	1	0	-	-
TOTAL	4	1		

RESULTADO DE SINCRONIZACION DE CELO

	F.C.V.		POZO AZUL		Sta. CARMEN		TOTAL
	IRILÉN	ESTRAMATE	ESTRAMATE	ESTRAMATE	ESTRAMATE	ESTRAMATE	
VACAS INYECTADAS PG (A)	10	11	24	16			61
VACAS QUE APARECIERON CELO (B)	9	8	20	16			53
CELO (B/A)(%)	90	73	83	100			87
VACAS SINCRONIZADAS (C)	8	8	18	16			50
c/A (%)	80	73	75	100			82

RESUMEN DE EMBRIONES USADOS

	F.C.V.	POZO AZUL	STA. CARMEN	TOTAL
EMBRIONES TRANSF. RECOLEC.	17	0	6	23
EMBRIONES FRESCOS	6	0	5	11
EMBRIONES CONGEL.	6	0	0	6
EMBRIONES CULTIVADOS	5	0	1	4

RESUMEN DE LA RECOLECCION DE EMBRIONES POR SUPEROVULACION

	FCV	POZO AZUL	Sta. CARMEN
Donante (A)	6	2	2
Donante con celo (B)	6	1	2
B/A (%)	100	50	100
Donante con embriones (C)	5	0	2
C/A (%)	83	0	100
Total embriones (D)	25	0	18
D/A	4.2	0	9
D/C	5	0	9
Embrión transferible (E)	16	0	6
E/D (%)	64	0	33
E/A	2.7	0	3
E/C	3.2	0	3
Raza	Pardo Suizo	Brah man	Nelore

RESULTADO DE SUPEROVULACION EN CONEJA

	CANTIDAD	PROMEDIO (minimo-maximo)
OVULACION	424 (16 cabezas)	26.5 (9 - 48)
RECOLECCION	339 (78 %)*	21.2 (0 - 68)
EMBRIONES NORMALES	273 (81 %)**	17.1 (0 - 61)

* Cantidad de ovulación / cantidad de recolección

** Cantidad de recolección / cantidad de embriones normales

RESULTADO DE TRANSFERENCIA DE EMBRIONES EN CONEJA

	CANTIDAD DE OVULACION	CANTIDAD DE FOLICULO	CANTIDAD DE EMBRIONES TRANSFERIDOS	CANTIDAD DE CRIAS
1	D 1 I 4	4 1 - 2	5 (fresco) 5	0
2	D 3 I 3	0 0	7 (fresco) 7	11
3	D 6 I 4	0 0	7 (congelado) 7	0
4	D 2 I 2	0 0	8 8 (fresco)	0

LA TRANSFERENCIA DE EMBRIONES EN EL PARAGUAY

La transferencia de embriones en Bovinos es una nueva técnica de reproducción para el mejoramiento del ganado.

El principio de esta técnica consiste en recoger embriones de vacas de excelente calidad y transferirlos al útero de otras vacas de inferior calidad.

Generalmente la vaca entra en celo cada 21 días y ovula un solo óvulo en cada celo; Este óvulo es el que va a unirse con el espermatozoide del macho, y es cuando se produce la fecundación. La vaca así fecundada parirá un ternero después de 9 meses. Por este medio conseguimos un ternero por cada vaca cada año. Pero en caso de producir una superovulación gracias al uso de una hormona folicular estimulante, podemos conseguir más óvulos de la misma vaca en un solo celo, de tal manera a conseguir más de un ternero por año de cada vaca que es usada como donante.

Con el aprovechamiento de esta nueva técnica se podrá realizar una selección más intensa entre aquellas vacas del rodeo y mejorarlas más rápidamente.

En nuestro país se ha iniciado el desarrollo de esta nueva técnica gracias a la cooperación del gobierno del Japón a través de su Agencia de Cooperación Técnica Internacional en nuestro país, conjuntamente con la Facultad de Ciencias Veterinarias, han implementado un proyecto de desarrollo ganadero que cubren las siguientes áreas: Reproducción animal, Sanidad animal, Nutrición animal. El desarrollo de las técnicas de la transferencia de embriones está incluido dentro del programa de mejoramiento de la Reproducción Animal.

El plan de ejecución de los primeros 3 años del proyecto se ha determinado según el acuerdo de la reunión del Comité Paraguayo-Japonés el día 29 de Noviembre de 1983.

Los objetivos de la implementación de esta nueva técnica de la reproducción animal son:

- 1o. Investigar un método apropiado de la transferencia de embriones en el ganado de carne sobre todo en las razas cebuinas que es el tipo de ganado que más abunda en nuestro medio, y que se adapte a las condiciones de nuestra ganadería.
- 2o. Transmitir los conocimientos y los resultados obtenidos al sector ganadero a fin de demostrar que esta técnica se puede aplicar en nuestro país.

Para la realización de este proyecto contamos con estancias experimentales y estancias demostrativas. En las estancias experimentales se llevan a cabo trabajos de investigación sobre las técnicas de transferencia de embriones, y en las estancias demostrativas, la aplicación de los resultados obtenidos en las investigaciones.

Dentro de las estancias experimentales está el Tambo Moderno de la Facultad de Ciencias Veterinarias, donde se han llevado a cabo los primeros trabajos de investigación sobre la técnica de T.E. a fines del año 1983 sobre razas europeas de ganado de carne y leche (Pardo Sui) obteniéndose como resultado el primer ternero por transferencias de embriones que nació el día 13 de Agosto de 1984. También como estancia experimental contamos con la Estación de Aislamiento de SENACSA ubicada en la localidad de Isla Vallé - Quiryho, donde también realizamos trabajos de experimentación, como por ejemplo: Colectar embriones de las vacas donantes preparadas en el Tambo Moderno de la FCV y transferirlos en las receptoras preparadas en la Estación de Aislamiento de SENACSA.

También los trabajos de investigación se llevaron a cabo en la Estancia Barrerito perteneciente al Ministerio de Agricultura y Ganadería, incluida en el proyecto como estancia experimental. Las investigaciones realizadas en este establecimiento se basaron en la utilización de las razas cebuinas: Nelore, Brahman y Sta. Gertrudis, como fuente de embriones. Como resultado de los trabajos de investigación en el 1984 se obtuvieron 8 terneros nacidos por transferencia de embriones.

Los trabajos de investigación consisten básicamente en la aplicación de las técnicas de T.E., fijadas ya en el extranjero, a nuestro sistema de ganadería. También la búsqueda del mejor método de tratamiento de superovulación y sincronización del celo en las vacas donantes y recipientes. La búsqueda del mejor método de recolección y transferencia de los embriones y el congelamiento de los mismos para su posterior transferencia.

Dentro de las estancias demostrativas se encuentran los siguientes establecimientos:

Estancia Piripucu S.A., Estancia Sta. Carmen, Estancia Pozo Azul.

En estas estancias demostrativas se han aplicado todos los resultados que se han obtenidos de los trabajos de investigación.

En las Estancias Piripucu se obtuvieron 8 terneros nacidos de las razas Nelore y Angus colorado por la técnica de transferencia de embriones, en el año 1985.

En el año siguiente 1986 siguieron los trabajos en las estancias demostrativas - obteniéndose hasta ahora resultados muy alentadores como por ejemplo de 5 embriones frescos que se han transferidos en 5 recipientes se han obtenido 3 preñeces.

Actualmente siguen los trabajos de investigación en el Laboratorio de Transferencia de Embriones de la Facultad de Ciencias Veterinarias. Dichas investigaciones se realizan con la cooperación de expertos japoneses, trabajando estrechamente con sus contrapartes paraguayos

Los trabajos que se realizan ahora consisten en la aplicación de las técnicas de T.E. en las conejas, obteniéndose ya resultados muy alentadores

