

## Respuesta superovulatoria de vacas criollas colombianas Blanco Oreginegro (BON) al tratamiento con FSH o PMSG: informe de tres casos<sup>1</sup>.

L. Rodríguez. MV\*; L. Valencia. MV\*\*; ZT Ruíz, MV † ; JC Andrade\*\*. MV, Esp.  
J. Ochoa, Zoot\*\* ; M Giraldo, MV\* ; MP Vélez, JG Maldonado. MVZ, MS\*\*

\* Sembrio Ltda, Medellín, Colombia.

\*\* Grupo de Teriogenología, Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia y

† Grupo de Biotecnología, Programa de Biogénesis, Facultad de Medicina,  
Universidad de Antioquia, AA 1226, Medellín, Colombia.

§ Estudiante Joven Investigadora, Universidad de Antioquia.

### Resumen

Con el objeto de dar inicio a un programa de transferencia de embriones como parte de las estrategias para la propagación y preservación del ganado criollo colombiano, tres vacas del hato BON de la Universidad de Antioquia han sido sometidas a tratamiento para inducción de superovulación (SOV). Dos vacas recibieron el esquema de tratamiento con FSH-sintética y PGF2 $\alpha$ ; mientras que la tercera vaca recibió el esquema de SOV usando PMSG. Durante el estro inducido por inyección de PGF2 $\alpha$  las vacas recibieron dos inseminaciones, con intervalo de 12 horas, con semen de toros BON. A los 8 días después del estro las vacas fueron sometidas al procedimiento de lavado y recuperación de embriones por método no quirúrgico (Sonda de Rush); los embriones se recolectaron en medio PBS-albúmina bovina al 10%, se clasificaron en estereoscopio y se sometieron a congelación por el método de glicerol al 10%. De las dos vacas tratadas con FSH sintética, la vaca 12-4 produjo 40 embriones fértiles de los cuales 28 se clasificaron como clase I y de éstos se congelaron 17; la concentración de P<sub>4</sub> fue de 28.53 ng/ml y la de E<sub>2</sub> de 6.33 pg/ml, medidas por RIA y MEIA, respectivamente. La vaca 26-1 produjo 8 embriones viables, tres de los cuales fueron de clase I y se sometieron al proceso de congelación; la concentración de P<sub>4</sub> fue de 9.21ng/ml y la de E<sub>2</sub> de 34.96 pg/ml. Por su parte, la vaca 24-8, tratada con PMSG, produjo 7 embriones de regular calidad que no se sometieron a congelación; las concentraciones de P<sub>4</sub> fueron de 6.86 ng/ml y las de E<sub>2</sub> de 47.05pg/ml. Los resultados de estos tres casos y en particular la sorprendente respuesta superovulatoria de la vaca 12-4, sugieren una alta variabilidad en la respuesta SOV de vacas BON bajo los protocolos de inducción utilizados; además, representan el primer intento para obtener embriones viables en el hato BON de la Universidad de Antioquia y para establecer el programa de transferencia de embriones en esta raza criolla en peligro de extinción.

### Palabras clave:

Ecografía ovárica, Estradiol, Progesterona, Transferencia de embriones.

### Introducción

El ganado Blanco Oreginegro (BON) es una de las ocho razas de ganado criollo colombiano que se encuentra en peligro de extinción (5). Esta raza representa un experimento de natura de más 300 años de evolución (15) que se ha adaptado a las condiciones del trópico manifestando una alta rusticidad, interpretada como resistencia a enfermedades características del trópico como ectoparásitos, endoparásitos y patógenos intracelulares y una alta capacidad para soste-

nerse en pasturas de baja calidad nutricional (2, 21). Esta raza representó una importante fuente de ingresos para los campesinos de la zona cafetera del país desde finales del siglo XVIII hasta mediados del siglo XX, cuando la importación masiva de ganados *Bos indicus* conllevó un cruzamiento que absorbió la raza hacia el genotipo cebú (5). Como consecuencia de ello, quedan tan solo unos pocos núcleos de ganados puros y de cruces con razas de leche y razas cárnicas, que no garantizan la preservación de la raza para un futuro lejano (17).

<sup>1</sup> Agradecimientos a Colciencias y al Comité para el Desarrollo de la Investigación, CODI, en la Universidad de Antioquia por la financiación del grupo de Teriogenología (Proyecto 1115-04-036-95).

La Universidad de Antioquia ha puesto en marcha un proyecto multicéntrico (5, 15, 17), encaminado a caracterizar la rusticidad del ganado BON y a preparar un banco de embriones para garantizar su propagación y preservación. El Hato BON de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia está conformado por 35 vacas adultas, 11 novillas de vientre, 16 novillas de levante y 5 toros (67 animales en condiciones de reproducción). Con el fin de contribuir con los esfuerzos para propagar y preservar la raza, se organizó un curso internacional sobre transferencia de embriones, en el cual se dio inicio a un programa de transferencia de embriones de las vacas BON de la Universidad de Antioquia. Los resultados del presente informe representan el primer intento de superovulación en el ganado BON de la Hacienda El Progreso, perteneciente a la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia de la Universidad de Antioquia.

### Materiales y métodos

El estudio se llevó a cabo en las instalaciones de la Hacienda El Progreso, corregimiento de El Hatillo, Municipio de Barbosa (Antioquia) en el marco del "Primer curso internacional sobre transferencia de embriones y técnicas complementarias en bovinos", organizado por la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia de la Universidad de Antioquia y por Sembrio Ltda, en el mes de mayo de 1997.

*Selección de las donadoras.* Mediante palpación rectal y evaluación de registros reproductivos se seleccionaron 12 vacas adultas ciclando normalmente, como candidatas potenciales para el protocolo de superovulación; se determinó el estado del ciclo estral y se procedió a aplicar PGF2 $\alpha$  a cinco vacas con cuerpo lúteo (Estrumate, gentil donación de Schering Plough; Cali, Colombia). Luego se observó la ocurrencia del estro inducido por la PGF2 $\alpha$ , por inspección visual durante los 4 días siguientes a la aplicación del medicamento, o en ocasiones por palpación rectal para aquellas vacas que no presentaron manifestaciones evidentes del estro. Finalmente, las vacas identificadas con los números 12/4 (36 meses de edad y primer parto), 26/1 (68 meses de edad y dos partos, con intervalo entre partos de 807 días), y 24/8 (9 años de edad y seis partos, con intervalo entre partos de 391 días) fueron seleccionadas por las manifestaciones evidentes de calor, como las donadoras para el curso de transferencia de embriones. Se anotó la fecha de apa-

rición del estro, el cual se consideró como inicio del ciclo de referencia para la inducción de superovulación.

### *Tratamiento de inducción de SOV.*

*Esquema con FSH.* Se utilizó el esquema de dosis constante (32 mg dosis total) iniciando el día 9 del ciclo de referencia (Día 0=estro inducido con PGF2 $\alpha$ ), cuando se administraron dos dosis de 2ml (2 mg/ml) de pFSH (Folltropin, Vetrepharm, Canadá) cada una con intervalo de 12 horas; este esquema se repitió los días 10, 11 y 12 del ciclo; el día 11 del ciclo se administraron dos dosis de PGF2 $\alpha$  (526 mg) con un intervalo de 12 horas y el día 13 del ciclo, día en que amanecieron en calor, se inseminaron en las horas de la tarde aplicándoles al mismo tiempo 2,5 ml (10 mg) de Buserelina por vía intravenosa; a las 12 horas siguientes se les practicó la segunda inseminación artificial. La vaca 12-4 se inseminó con semen del toro BON «Lucas» empacado en pajilla francesa de 0.5 ml; la vaca 26-1 se inseminó con semen de los toros BON «El King» empacado en pajilla de 0.5 ml y «El Frosti» empacado ampolla de 0.5 ml, pertenecientes a la Universidad de Antioquia.

*Esquema con PMSG.* El día +10 del calor de referencia de la vaca 14-8 se aplicó una dosis de 3000 UI de PMSG (Folligon, Intervet, Santafé de Bogotá) por vía intramuscular a las 9:00 AM; el día +12 se aplicó una dosis de 25 mg de PGF2 $\alpha$  sintética (Dinoprost, Upjohn, Kalamazoo MI) por vía intramuscular, dividida en 15 mg en las horas de la mañana y 10 mg en las horas de la tarde (Con ocho horas de diferencia). A las 48 horas de la última aplicación se observó el calor, el cual no fue muy manifiesto, y en las horas de la tarde se hizo la primera inseminación con semen conservado en pajilla francesa de 0.5 cc; la inseminación se complementó con la aplicación de 5 cc de neutra-PMSG (Intervet, Santafé de Bogotá) por vía venosa. La segunda inseminación se practicó al día siguiente en las horas de la mañana con semen conservado en ampolla de 0.5 ml. El semen utilizado pertenecía a un toro de la raza BON llamado «Chieking», de propiedad de la Universidad de Antioquia.

*Evaluación de los ovarios por ultrasonografía.* A los ocho días después de la inseminación de las vacas y previo al procedimiento de lavado para la recuperación de los embriones, las vacas fueron sometidas a un chequeo de los ovarios por

ultrasonografía, utilizando un equipo Aloka equipado con una sonda transrectal de 7.5 MHz de rayo lineal ventral. Las vacas se sujetaron en el brete y previa desinfección de la región perineal y aplicación de anestesia epidural baja, se procedió ubicar cada uno de los ovarios para evaluar las estructuras ováricas presentes, haciendo barridos multidireccionales con la sonda ; además, se intentó hacer un conteo del número de cuerpos lúteos presentes en cada ovario (8).

*Lavado, recolección y clasificación de embriones.* La recolección de los embriones se hizo de acuerdo con el protocolo descrito por West y Donaldson (1982) de la siguiente manera: ocho días después de la presentación del celo, las vacas fueron sometidas al procedimiento de lavado y recuperación de embriones por el método de catéter uterino utilizando Sonda de Rush (7). Primero se lavó y desinfectó la región del periné con solución yodada, se introdujo el catéter de Rush hasta el cuerpo del útero y se fijó inflando el balón de la sonda con 2.5-3 cc de PBS; luego se procedió a instilar 100ml de medio de lavado (Vigro Complete Flush Solution, Albúmina 1% ; A.B. Technology, Pullman, WA, USA), se hizo masaje continuo durante 5 min. sobre cada cuerno uterino y se procedió a la recolección. Los embriones se recolectaron por sifonaje en un recipiente con filtro para embriones (EMCON, Embryo Concentrator, Immuno System, Spring Valley, USA); luego se recuperaron del filtro, se pusieron en caja de Petry de 5cm<sup>2</sup> (con cuadrícula en el fondo). De allí se recolectaron y se pasaron a cajas de Petry mas pequeñas (*Suspensión Culture Dish*) para embeberlos en el medio Holding (*Vigro Holding ; A.B. Technology, Pullman, WA, USA*) de la siguiente manera :

Holding No. 1 = recolección de todos los embriones,  
 Holding No. 2 = se pasaron los embriones viables,  
 Holding No. 3 = se pasaron los embriones calidad I y II (aptos para transferir o congelar).

La clasificación de los embriones recolectados se hizo en una escala desde I hasta V, de acuerdo con el procedimiento descrito por INRA (Francia, 1982), donde : Clase I, equivale a blastocisto joven o tardío ; Clase II, equivale a Mórula tardía ; Clase III, equivale a Mórula temprana ; Cla-

se IV, equivale a blastocisto degenerado o Mórula con menos de 16 células ; y Clase V, embriones muertos, oocitos no fertilizados o embriones eclosionados (7).

*Congelación de los embriones.* Una vez clasificados los embriones y separados en Holding limpio, se introdujeron en medio de congelación (Vigro Freeze, PBS/Glicerol al 10% ; A.B. Technology), durante 10 minutos ; luego se procedió a introducir las pajillas de 0.25cc en el Freeze control (Cryologic Inc, Australia), previamente estabilizado a -7°C ; allí permanecieron durante 7-10 minutos, se realizó la siembra de los embriones y se dejó que el congelador procediera a congelar automáticamente a -0.3°C /min hasta -35°C, cuando se introdujeron en nitrógeno líquido.

*Cuantificación de estrógenos y progesterona.* El día del lavado de los embriones se tomó una muestra de sangre a cada una de las vacas con el fin de obtener el suero para la cuantificación de 17β-estradiol y progesterona. Las cuantificaciones se hicieron en el Laboratorio Clínico de las Américas (Medellín) usando un estuche comercial para cada hormona (Abbot, USA). La sensibilidad de la prueba fue de 0,2 ng/ml para progesterona y de 25 pg/ml para 17β-estradiol, mediadas por las técnicas de RIA y MEIA, respectivamente.

## Resultados

La vaca 26/1, una hembra BON de dos partos con 68 meses de edad y un intervalo entre partos de 807 días, dio 7 embriones en el lavado de los cuales 3 eran de clase I y se destinaron para la congelación. Por su parte, la vaca 12/4 una hembra de primer parto de 36 meses de edad, tuvo una sorprendente alta respuesta al esquema utilizado, gracias a lo cual se le recuperaron 40 embriones de los cuales 28 se consideraron de clase I ; de éstos se decidió congelar 17 embriones para posterior transferencia, en tanto que los restantes embriones se utilizaron para efectos didácticos y académicos. No obstante, la vaca 24/8 con 9 años de edad, seis partos y con un intervalo entre partos de 391 días, produjo 7 embriones, ninguno de los cuales fue apto para congelar (tabla 1).

**Tabla 1. Datos generales del esquema de superovulación y la respuesta superovulatoria de tres vacas BON al tratamiento con FSH porcina o con PMSG.**

Vaca	calor referenc	FSH <sup>a</sup>	PGF2 $\alpha$	Calor	GnRH	IA	Lavado	Emb	Clase I	Clase II	Cong	Toro
26/1	17/4/97	Desde 27/4/97 hasta 30/5/97 AM: PM:	AM:PM 29/4/97	AM: 1/5/97	PM: 1/5/97	PM: 1/5/97 AM: 2/5/97	9/5/97	7	3	0	3	El.Frosti /Rn
12/4	17/4/97 26/4/97 hasta 29/5/97	Desde 28/4/97	AM:PM 30/4/97	AM: 30/4/97	PM 30/4/97 AM: 1/5/97	PM:	8/5/97	40	28	12	17	Lucas
24/8*	17/4/97 27/4/97 (i.m.)	AM: 29/4/97	AM: 1/5/97	PM: 1/5/97 (i.v.)**	PM: 1/5/97 AM: 2/5/97	PM:	9/5/97	7	0	0	0	Chief king

a : Se administró pFSH (Folltropin)

\* Se utilizaron 3000 UI de PMSG (i.m.) en dosis única (Folligon)

\*\* Se administraron 5cc de Neutra-PMSG (i.v.).

En la ecografía ovárica se encontraron ovarios con un diámetro aproximado de 8 cm que no alcanzaron a ser abarcados en su totalidad por un solo barrido con la sonda. El estroma ovárico se caracterizó porque se percibió en la imagen de una manera muy tenue, ya que era eclipsado por una gran cantidad de estructuras lúteas que se veían como estructuras ovoides de 1.5-2cm de diámetro. Estas estructuras, de aspecto ecogénico en la imagen, ocuparon todo el campo de la pantalla e imposibilitaron la detección de otras estructuras por debajo de ellas. Para obviar este inconveniente se realizaron varios barridos del ovario en sentido cráneo-caudal y medio-lateral, no obstante al hacer el conteo de cuerpos lúteos la máxima cantidad fue de 8 CL en un mismo ovario, situación que no reflejó los resultados con la recuperación de embriones (40 embriones en la vaca 12/4), que correspondería al número mínimo de ovulaciones y por ende de cuerpos lúteos.

De otro lado, la apariencia ecográfica no fue tan definida como la de los cuerpos lúteos en plena actividad de la mitad del diestro, quizá por haber sido evaluados a los 8 días de edad, cuando todavía se podría considerar como un cuerpo lúteo joven. Aunque la apariencia ecográfica de

los cuerpos lúteos y su tamaño no difieren de aquellos de vacas ovuladas en condiciones normales y se detecta de manera muy clara por la ecografía, hay que recalcar que la cantidad de cuerpos lúteos detectados en estas vacas sometidas a superovulación, no permitieron que la ecografía fuera una herramienta fidedigna para el conteo de estructuras luteinizadas.

En los ovarios también se pudo observar abundante cantidad de folículos con un diámetro aproximado de 10 mm, los cuales no se pudieron contar por su ubicación y la cantidad de cuerpos lúteos presentes. Estos folículos quizá representen folículos de una nueva onda folicular desarrollada después del tratamiento para SOV, o bien, folículos que respondieron al tratamiento, pero que por alguna razón no ovularon ni se luteinizaron.

Los resultados del análisis serológico indicaron que la vaca 12/4 presentó los mayores niveles de progesterona y los menores niveles de estradiol séricos, lo que resultó en la mayor relación progesterona :estrógenos (P:E). Por el contrario, las vacas 26/1 y 24/8 presentaron los

mayores niveles de estradiol y los menores de progesterona, lo cual resultó en una relación P:E de 0.26 y 0.15, respectivamente (tabla 2).

Finalmente, a las vacas 26-1 y 24/8 se les administró una dosis de 25 mg de PGF2 $\alpha$  el día 15 del ciclo, en tanto que la vaca 12/4 no recibió PGF2 $\alpha$ . Ninguna de las vacas estaba en gestación a la palpación rectal efectuada a los 2 meses del lavado de los embriones.

**Tabla 2. Niveles séricos de 17-b-estradiol y progesterona en tres vacas BON sometidas al protocolo de inducción de superovulación.**

Vaca	Día del ciclo (a)	Progesterona (ng/ml)	Estradiol (pg/ml)	Relación P <sub>4</sub> :E <sub>2</sub>
12/4	8	28.53	6.33	4.5
26/1	8	9.21	34.96	0.26
24/8	8	6.86	47.05	0.15
Promedio		14.86	29.44	1.6

a: Hace referencia al día del lavado de los embriones.

### Discusión

Los resultados de las tres vacas estudiadas quizá representan la primera evidencia sobre la respuesta del ganado BON al protocolo de inducción de superovulación. La respuesta al esquema de inducción utilizando FSH porcina resultó ser sorprendentemente alta en la vaca 12/4, lo cual se constituye en un récord para nuestro grupo porque representa no solo el primer informe de respuesta superovulatoria en esta raza, sino también el número más alto de embriones recuperado en un solo lavado durante 10 años de experiencia de Sembrio Ltda. Sin embargo, en la literatura internacional se ha informado de rangos de respuesta entre 0 y 40 ovulaciones (20).

Las diferencias en el número y calidad de los embriones observado en las tres vacas estudiadas sugieren que, al igual que en las demás razas de ganado usadas para la transferencia de embriones (1), el ganado BON presenta una alta variabilidad en la respuesta al tratamiento de inducción de superovulación. No obstante, los resultados del presente informe tan solo representan la respuesta de un escaso número de vacas, durante un solo lavado, por lo cual se debe tener mucha precaución en la interpretación de estos resultados y se recomienda evitar su citación como datos de referencia para el ganado BON; además, no se ha encontrado en la literatura estudios sobre la dinámica folicular en esta raza ni sobre respuesta a esquemas de inducción

de superovulación para transferencia de embriones, a pesar de que existen al parecer, esfuerzos de ganaderos particulares que no se han publicado aún. De ahí que estos resultados implican un reto para dar inicio a un programa de transferencia de embriones en el que se incluya la mayor cantidad posible de vacas de la raza BON, en donde se puedan estudiar varios protocolos de inducción de superovulación, tomando como referencia las dosis de hormonas informadas en la literatura para ganados *Bos indicus* y *B. taurus* (1, 4).

Por tratarse de una sola observación, es necesario resaltar que la baja respuesta de la vaca 24/8 no se puede atribuir a la PMSG (6); esta vaca recibió una de las inseminaciones con semen conservado en ampolleta que se encontraba congelado durante más de 10 años; la dosis se descongeló rápidamente a una temperatura de 37°C. Por este motivo es posible que el semen haya tenido algún efecto en el bajo número de embriones recolectados. González et al (1994) informan que este tratamiento a la dosis de 3000 UI de PMSG y una dosis neutralizante de anti-PMSG mejoró las tasas de ovulación, el número de oocitos fecundados y de embriones transferibles, pero los resultados de la vaca sometida al tratamiento con PMSG en nuestro estudio, no se pueden comparar con estos resultados obtenidos en 21 animales (9). Por consiguiente, las conclusiones sobre la respuesta del ganado BON a la PMSG sólo se podrán hacer en la medida en que el protocolo

se evalúe en una muestra de animales más representativa.

A diferencia de lo observado en la vaca 12/4 y comparada con ésta, la vaca 16/1 presentó una respuesta superovulatoria baja; sin embargo, 7 embriones de clase I pueden ser una respuesta excelente si se compara con los resultados obtenidos en vacas de otras razas más comerciales de ganado bovino (1).

Otro aspecto que se debe tener en cuenta para evaluar los resultados obtenidos en la respuesta al esquema de inducción de superovulación, es el estado reproductivo previo de las hembras sometidas al tratamiento (11, 12). Las vacas 12/4 y 16/1 tenían 3 y 5.7 años de edad, respectivamente, en tanto que la vaca 24/8 tenía 9 años de edad al momento de ser sometidas al tratamiento de SOV; lo anterior podría sugerir que la baja respuesta de la vaca 24/8 tiene alguna relación con la edad avanzada de la vaca, pero esta conclusión no se puede sacar con base en una sola observación, no obstante se puede tener en cuenta como criterio importante para evaluar la respuesta SOV de vacas BON en estudios posteriores.

Otros resultados interesantes para resaltar son los hallazgos ecográficos y los niveles séricos de estrógenos y progesterona. En primer lugar, sería de gran interés caracterizar de manera más detallada las estructuras ováricas de las vacas sometidas al tratamiento de SOV, porque esta alternativa nos podría orientar hacia posibles causas de las fallas de los esquemas utilizados, porque permitirían relacionar la tasa de ovulación reflejada en el número de cuerpos lúteos, con los porcentajes de embriones recuperados; esto podría indicar si las fallas ocurrieron en la fertilización, o la recuperación de los embriones. En segundo lugar, sería conveniente establecer los niveles hormonales durante las fases del ciclo estral, así como también el estudio de la dinámica folicular en respuesta al tratamiento de inducción de superovulación. No obstante, es posible que los altos niveles hormonales encontrados sean un reflejo cuantitativo del número de folículos que maduraron y de cuerpos lúteos

que se formaron en respuesta al protocolo de superovulación.

También cabe destacar que la relación progesterona :estrógenos fue mayor en la vaca 12/4, lo cual podría estar relacionado con la alta respuesta en la producción de embriones de esta vaca. Las altas concentraciones de estradiol halladas en las dos vacas 16/1 y 24/8, tomadas al día 8 del ciclo, concuerdan con la observación de un número abundante de folículos en la ecografía ovárica realizada el mismo día. Una de las preguntas que queda por resolver es si estos folículos obedecen a una cohorte estimulada por el tratamiento de SOV que no alcanzó a ovular y no se luteinizó, o bien, si representan una cohorte diferente que respondió de manera más tardía a la fuente exógena de FHS. De otro lado, se podría descartar que hicieran parte de la cohorte de folículos de la primera o segunda oleada del ciclo: en el primer caso, podrían representar folículos en proceso de atresia, mientras que en el segundo caso, representarían folículos en fase activa de crecimiento, a pesar de que esta última posibilidad no concuerda con los informes de la literatura que indican que la cohorte de folículos de la segunda onda del ciclo se hace evidente por ecografía entre los días 9 y 10 del ciclo (11, 12).

Lo anterior abre otra gran posibilidad de investigación para caracterizar la dinámica folicular (13) en el ganado BON, lo cual sería un aporte invaluable para los grupos que están trabajando por la preservación y propagación del Ganado BON. El conocimiento de la dinámica folicular podría ser de gran ayuda para los proyectos relacionados con el programa de transferencia de embriones (18), el desarrollo de las técnicas de maduración de oocitos (10) y desarrollo *in vitro* de embriones (14, 19) y el desarrollo de las técnicas de aspiración folicular guiada por ultrasonido (3, 16, 22), todos los que se podrían utilizar para la preservación del ganado BON. Del mismo modo, serviría para caracterizar el comportamiento de las novillas BON durante la pubertad, así como también la dinámica folicular de las vacas durante el posparto.

### Agradecimientos

Los autores quieren expresar sus agradecimientos a la Subdirección de Fomento del ICFES y la Dirección de Relaciones Internacionales de la Universidad de Antioquia por la financiación parcial del curso de transferencia de embriones (Medellín, 1997); a la señora Pilar Vanegas de la Hacienda El Progreso, por su continuo apoyo durante la ejecución práctica del curso; a la Universidad de Antioquia por la financiación de la estudiante María Paulina Vélez R. (Programa Jóvenes Investigadores, Contrato 004-97) al Dr. Daniel Monsalve del Departamento de Haciendas de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia por el apoyo logístico; y al Dr. Esteban Echavarría del Laboratorio Clínico de las Américas, Medellín.

### Summary

*With the purpose of contributing to establish an Embryo Transfer Program for the propagation and preservation of Blanco Oreginegro (BON) Colombian Criollo Cattle, three adult cows from the Universidad de Antioquia BON Herd were selected and tested by using two different superovulation protocols (SOV). Two cows were injected with a synthetic FSH source (Porcine-FSH) whereas the third cow was injected with PMSG. At PGF $2\alpha$ -induced estrus the cows received two Artificial Inseminations (AI) with 12 hours interval, using semen from BON Sires. Eight days after AI Embryos were recovered in PBS-albumin by a non-surgical procedure using Rush catheter, then classified by quality standards and finally frozen using 10%-Glycerol. Estradiol and progesterone were measured at day 8 post IA by RIA and MELA. From the pFSH- treated animals, the 12-4 Cow yield 40 viable Class I and II embryos from which 17 out Class I embryos were frozen ; its P $_4$  and E $_2$  levels were 28.53 ng/ml and 6.33 pg/ml, respectively. The 26-1 Cow yield 7 viable with 3 Class I embryos being frozen; its P $_4$  and E $_2$  levels were 9.21ng/ml and 34.96 pg/ml, respectively. However, the PMSG-treated 24-8 Cow only yield 7 non viable embryos; its P $_4$  and E $_2$  levels were 6.86 ng/ml and 47.05pg/ml, respectively. These three-case report and the surprisingly high SOV response from 14-8 Cow suggest a high variability to SOV-treatment in BON Cattle and represents our pioneer study designed to obtain viable embryos from the BON Colombian Criollo Cattle, in the aim of the Universidad de Antioquia to preserve this endangered Breed.*

**Key words:** Embryo Transfer, Estradiol, Ovarian ultrasound, Progesterone.

## Referencias

1. Ake JR, Alfaro ME, Holy L. Respuesta superovulatoria en ganado *Bos indicus* y *B. taurus* bajo condiciones tropicales y efecto del desarrollo y calidad del embrión sobre el porcentaje de gestación. *Vet Mex* 1995; 26:189-193.
2. Arboleda O, Gutiérrez ID. El ganado Blanco Orejinegro - BON -. *Rev Col Ciencias Pec* 1996 (Suppl); 9 :80-83.
3. Broadbent PJ, Dolman DF, Watt RG, Smith AK, Franklin MF. Effect of frequency of follicle aspiration on oocyte yield and subsequent superovulatory response in cattle. *Theriogenol* 1997; 47:1027-1040.
4. Carpenter BB, Forbes TDA, Carpena M, et al. Follicular dynamics, embryo production and hormonal responses in Brahman heifers following sympathetic stimulation. *J Anim Sci* 1994; 72:441.447.
5. Deer JN, Davis SK, Estrada JL, et al. Genetic characterization and conservation of Colombian Criollo Cattle. En : Crawford RD, Lister EE, Buckley JT. Proceedings of the Third Global Conference on Conservation of Domestic Animal Global Resources. Rare Breeds International; Queens University, Kingston, Ontario, Canada; 1995. pp307-313.
6. Donaldson LE. Use of FSH-P as a source of variation in embryo production from superovulated cows. *Theriogenol* 1984 ; 22 :205-211.
7. Embryo transfer in cattle. Rio Vista International Inc. San Antonio, Texas. 1982. Capítulo 7 pág. 66-90.
8. Ginther OJ. Ultrasonographic imaging and animal reproduction: fundamentals. Book 1. 1995.
9. González A, Wang H, Carruthers TD, Murphy BD, Mapletoft RJ. Increased ovulation rates in PMSG-stimulated beef heifers treated with a monoclonal PMSG antibody. *Theriogenol* 1994; 41:1631-1642.
10. Hinrichs K. Manipulations of oocyte maturation in vitro. *Arch Tierz Dummerstorf* 1996; 3: 43-50 (Special Issue).
11. Kastelic JP. Understanding ovarian follicular development in cattle. *Vet Med* 1994 : January. 60-70.
12. Lucy MC, Savio JD, Badinga L, De La Sota RL, Thatcher WW. Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. *J Anim Sci* 1992; 70 :3615-3626.
13. Maldonado JG, Agudelo B, Vásquez NA. Dinámica folicular en novillas y en vacas *Bos taurus* y *Bos indicus*. *Rev Col Ciencias Pec* 1997; 10: 67-75.
14. Massip A, Mermillod P, Dinnyes A. Morphology and biochemistry of *in-vitro* produced bovine embryos: implications for their preservation. *Hum Reprod* 1995; 10:3004-3011.
15. Moreno F, Ruíz A. El concepto de genética de poblaciones y proyecto de genoma bovino. *Rev Col Ciencias Pec* 1996 (Suppl); 9 :77-80.
16. Ooe M, Rahamahendran R, Boediono A, Suzuki T. Ultrasound-guided follicle aspiration and IVF in Dairy-cows treated with FSH after removal of the estrous-cycle. *J Vet Med Sci* 1997; 59:371-376.
17. Ossa JE. Caracterización genética y conservación del ganado criollo colombiano. *Rev Col Ciencias Pec* 1996 (Suppl); 9 :85.
18. Risinger T, West J. Practical applications and business aspects of embryo transfer. En: Embryo transfer in Cattle. Rio Vista International Inc. San Antonio, Texas. 1982; Capítulo 3.
19. Romero-Arredondo A; Seidel Jr. GE. Effects of follicular fluid during in vitro maturation of bovine oocytes on in vitro fertilization and early embryonic development. *Biol Reprod* 1996; 55:1012-1016.
20. Rouillier P, Guibault LA, Lussier JG, Matton P. Changes in morphological appearance and functional capacity of recruited follicles in Cows treated with FHS in the presence or absence of a dominant follicle. *Theriogenol* 1996; 46:1053-1061.
21. Tobón CJ, Franco CE, Mejía A. Evaluación de caracteres de crecimiento y reproductivos de la raza blanco Orejinegro (BON), cebú y sus cruces en zona de ladera. *Rev Col Ciencias Pec* 1996 (Suppl); 9 :84-85.
22. Wenigerkind H, Modl J, Palma GA, Zakhartchenko V, Brem G. Ultrasound-guided follicle aspiration and embryo production in nonlactating elite cows. *Reprod Domestic Anim* 1997; 32:107-117.
23. West GM, Donaldson LE. Non-surgical Embryo Transfer. En: Embryo transfer in Cattle. Rio Vista International Inc. San Antonio, Texas. 1982; Capítulo 8.