

# RESULTADOS PRELIMINARES OBTENIDOS EN LA APLICACION DE UN PROGRAMA DE TRANSFERENCIA DE EMBRIONES FRESCOS Y CONGELADOS DE CABRAS CACHEMIRA

Cocero, M.J.<sup>1</sup>; López Sebastián, A.<sup>1</sup>; García López, M.<sup>1</sup>; Ormazabal, J.J.<sup>2</sup>; González de Bulnes, A.<sup>1</sup>; Santiago Moreno, J.<sup>1</sup>; Reus, E.<sup>3</sup>

1. Area Reproducción Animal . CIT/INIA. Avda. Puerta de Hierro km. 5,900. 28040-Madrid

2. IEPA. Apdo. 13. 33300 Villaviciosa - Asturias

3. Excma. Diputación Provincial de Guadalajara

## INTRODUCCION

En todas las especies de mamíferos utilizadas en Producción animal, el impacto de la biotecnología en reproducción es todavía escaso; incluso la inseminación artificial con semen congelado, sólo ha jugado un papel importante en el incremento de progreso genético del ganado vacuno lechero (Wilmot y col., 1992). La tecnología de transferencia de embriones se ha aplicado de forma limitada en pequeños rumiantes, pero ya existen ejemplos de su uso dentro de programas concretos de producción, como es el caso de las transferencias realizadas en cabras de raza Angora en unión con la industria lanera de Cachemira, programa en el que han circulado miles de embriones entre Zimbabwe, Nueva Zelanda y Europa (Thibier, 1988). Sin embargo, no se han publicado resultados relativos al rendimiento que se puede esperar, y existen variaciones entre autores respecto a la eficacia de los aspectos metodológicos que limitan el incremento de la población que se persigue: respuesta superovulatoria y supervivencia a la congelación. Este trabajo expone los rendimientos superovulatorios obtenidos en cabras Cachemira y la eficacia lograda con la transferencia de embriones frescos y congelados de esta raza a cabras autóctonas, en el desarrollo de un programa cuyo objetivo es incrementar la población inicialmente impórtada de Escocia.

## MATERIAL Y METODOS

Se han superovulado 28 cabras Cachemira entre marzo y diciembre de 1994, ubicadas en Asturias y Guadalajara, con edades comprendidas entre 1-4 años.

### Sincronización y superovulación

Las donantes se han sincronizado con esponjas intravaginales de 45 mg de FGA (Intervet) mantenidas durante 16 días, administrándose 0.5 ml de PGF<sub>2α</sub> (Estrumate<sup>®</sup>, Pittman-Moore) en el día 14. En las receptoras la esponja fue retirada 12 horas antes que en las donantes, a la vez que se aplicó una inyección intramuscular de 400 U.I. de PMSG.

La superovulación se ha inducido con FSH, (FSH ovina, Ovagen<sup>®</sup>, ICP), administrada en 8 dosis de 1 ml cada 12 horas.

Las hembras fueron cubiertas por monta controlada con un primer salto en el momento de la aparición del celo y un segundo salto 12 horas después, o por inseminación artificial intrauterina a las 50 horas desde la retirada de la esponja.

Antes de las intervenciones quirúrgicas realizadas para la obtención o transferencia, se determinó la tasa de ovulación de cada ovario mediante laparoscopia tanto en las hembras donantes como en las receptoras.

#### **Obtención y transferencia**

Se realizaron laparotomías medianas, previa anestesia general en las donantes, tanto para la obtención como para la transferencia, los días 6-7 después de la cubrición.

Los embriones se extrajeron por perfusión de ambos cuernos uterinos con PBS-Dulbeccos suplementado con 0.2% BSA. Entre la obtención y la transferencia los embriones se mantuvieron, durante un tiempo que osciló entre 1-4 horas, en PBS suplementado con 5% de suero caprino inactivado, y a 32 °C. Sólo se deshecharon los no fertilizados, introduciéndose 2 embriones por receptora, siempre que fue posible.

#### **Descongelación**

Los embriones congelados importados de Escocia, fueron descongelados durante 7 segundos en aire y 25 segundos en agua a 30°C. La retirada del crioprotector se realizó en tres etapas de 10 minutos cada una: a) 0.75 M ETG (etilén-glicol) + 0.5 M sucrosa/PBS + 5% suero caprino; b) 0.5 M sucrosa/PBS + 5% suero caprino; c) PBS + 5% suero caprino. Posteriormente se realizaron dos lavados en medio limpio. El intervalo de tiempo máximo entre la descongelación y la transferencia fue de tres horas.

#### **Diagnóstico de gestación**

Se realizó por ecografía transabdominal a partir de la 5ª semana después de la transferencia de embriones.

#### **Métodos estadísticos**

Los resultados de superovulación fueron analizados comparando las medias por contraste bilateral, utilizando el estadístico T. Student (Mandel, 1984).

### **RESULTADOS Y DISCUSION**

Como se ve en la tabla 1, si bien las medias en el número de cuerpos lúteos (CL) varían de unas experiencias a otras, las diferencias no llegan a ser significativas. Sólo la tasa de ovulación (T.O.) media más alta de las obtenidas en estación reproductiva ( $19.4 \pm 9.36$ ) tiende a ser significativamente mayor ( $p < 0.1$ ) que la registrada en estación desfavorable ( $6.8 \pm 2.75$ ). Posiblemente la no significación se debe al escaso número de hembras que se ha estimulado en cada experiencia, y a las altas desviaciones típicas que se producen. La tasa de ovulación media por oveja en el conjunto de superovulaciones realizadas en período de actividad sexual, ha sido  $11.38 \pm 6.8$ , cifra muy semejante a la observada por otros autores (Pampoukidou y col., 1992; Baril y col., 1993), que son de  $12.5 \pm 7.65$  y  $12.3 \pm 2.1$ , utilizando otros preparados comerciales de FSH.

Considerando que los porcentajes de recuperación de embriones se encuentran entre 70-90%, que son las cifras esperadas (Baril y col., 1993), el rendimiento final del tratamiento es muy variable de unas experiencias a otras, independientemente de la estación, y de unos animales a otros, como lo demuestran las altas desviaciones típicas obtenidas en las medias de embriones viables.

**Tabla I. Respuesta superovulatoria a lo largo de las distintas experiencias**

| Experiencia                | Nº hembras superovuladas (respuesta) | Cuerpos lúteos (media) | Embriones (media) %recuperación | Embriones viables (media) % viabilidad |
|----------------------------|--------------------------------------|------------------------|---------------------------------|----------------------------------------|
| Marzo-94 (Asturias)        | 10 (9/10 = 90%)                      | 6.8 ± 2.75 (a)         | 6.8 ± 4.46<br>100%              | 4.9 ± 3.6 (c)<br>72.05%                |
| Septiembre-94 (Asturias)   | 7 (6/7 = 85.7%)                      | 10.4 ± 5.9             | 8.71 ± 7.75<br>83.56%           | 3.5 ± 3.8 (c)<br>14/22 fec = 63.6%     |
| Noviembre-94 (Guadalajara) | 6 (5/6 = 83.3%)                      | 8.33 ± 4.63            | 6.16 ± 6.25<br>74%              | 5 ± 6.08<br>81.08%                     |
| Diciembre-94 (Asturias)    | 5 (5/5 = 100%)                       | 19.4 ± 9.36 (b)        | 19.4 ± 14.69<br>100%            | 12.2 ± 7.5 (d)<br>62.8%                |

a ≠ b; p < 0.1; c ≠ b; p < 0.1 (Las medias se refieren al total de animales tratados)

Los rendimientos obtenidos con la transferencia de embriones frescos, son algo más bajas que las publicadas por otros autores (Armstrong y Evans, 1983; Vallet y col., 1989) que ascienden al 65.2% y 70.5% respectivamente; posiblemente ésto se debe a que se han transferido todos los embriones obtenidos excepto los no fertilizados, de modo que la baja calidad en algunos casos ha hecho descender las cifras de gestación. Sin embargo, la transferencia de embriones congelados con ETG, proporcionan rendimientos más altos que los logrados utilizando glicerol, pero semejantes a los obtenidos con DMSO (Li y col., 1990), o a los aportados por otros autores que también utilizaron ETG (Le Gal y col., 1993).

**Tabla II. Tasas de gestación tras la transferencia de embriones frescos y congelados**

| Experiencia                | Nº embriones frescos | Tasa gestación | Nº embriones congelados | Tasa gestación |
|----------------------------|----------------------|----------------|-------------------------|----------------|
| Septiembre-94 (Asturias)   | 14                   | 43% (3/7)      | 18                      | 44% (4/9)      |
| Noviembre-94 (Guadalajara) | 30                   | 60% (9/15)     | 20                      | 90% (9/10)     |
| Diciembre-94 (Asturias)    | 42                   | 44.6% (10/21)  | -----                   | -----          |
| Total                      | 86                   | 51.1% (22/43)  | 38                      | 68.4% (13/19)  |

## BIBLIOGRAFIA

- Armstrong, D.T.; Evans, G. (1983) *Theriogenology* 19 (1): 31-42.
- Baril, G.; Brebion, P.; Chesmé, P. (1993). *Manuel de formation pratique pour la trasplantation embryonnaire chez la brebis etr la chèvre*. FAO.
- Le Gal; Baril; Vallet (1993) *Theriogenology* 40:771-777.
- Li, R.; Cameron, A.W.N.; Batt, P.A.; Trounson (1990). *Reprod. Fertil. Dev.* 2:345-350.
- Mandel J. (1984) *Statistical analysis of experimental data*. Ed. Dover Public Inc. , New York. 410 pp.
- Pampoukidou A.; Alifakiotis, T.; Avdi, M.; Magras I. (1992) A.E.T.E. 8° Colloque Scientifique. Lyon. 198.
- Thibier, H. In: 13 Conference Regionale de l'OIE pour l'Europe, 3-36. OIE (Paris).
- Vallet, J.C.; Baril, G.; Loysel, C.; (1989) 5th Scientific Meeting of EETA, Lyon 1:186 (abstract).
- Wilmur, I.; Haley, C.S.; Williams, J.A. (1992). *Anim. Reprod. Sci.* 28:149-162.