

173

2ej



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA, VETERINARIA Y ZOOTECNIA

"COMPARACION ENTRE DOS HORMONAS
FSH COMERCIALES USADAS EN LA
SUPEROVULACION DE BOVINOS
PRODUCTORES DE LECHE"

T E S I S

QUE, PARA OBTENER EL TITULO DE:
VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A :
SERAPIO MARTINEZ BORJAS

ASESORES:

MVZ: Arturo Sánchez Aldana Pérez

MVZ. Javier Valencia Méndez

MVZ. Everardo Anta Jaén

México, D. F.



1991



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

C O N T E N I D O

	PAGINA
1) RESUMEN-----	11
2) INTRODUCCION-----	13
3) OBJETIVO-----	17
4) MATERIAL Y METODOS-----	18
5) RESULTADOS -----	22
6) CUADROS-----	24
7) DISCUSION-----	26
8) CONCLUSION-----	29
9) LITERATURA CITADA-----	30

"COMPARACION ENTRE DOS HORMONAS FSH COMERCIALES USADAS EN LA SUPEROVULACION DE BOVINOS PRODUCTORES DE LECHE" (BAJO LA DIRECCION DEL M.V.Z ARTURO SANCHEZ ALDANA PEREZ, M.V.Z JAVIER VALENCIA MENDEZ Y M.V.Z EVERARDO ANTA JAEN).

R E S U M E N

Con el fin de evaluar la respuesta a la superovulación en bovinos productores de leche, se compararon dos hormonas foliculo estimulantes (FSH), una que contiene cantidades conocidas de LH (Follitropin) y otra con cantidades desconocidas de LH (FSH-P). Se utilizaron 100 donadoras de las razas Holstein Friesian y Pardo Suizo (60 vacas posparto y 40 vaquillas). Las vacas se dividieron en dos grupos, de 30 animales cada uno; las vacas del grupo A fueron superovuladas con 36 mg de FSH-P y las del grupo B con 18 mg de Follitropin. Las vaquillas tambien se dividieron en dos grupos de 20 animales cada uno; las vaquillas del grupo C fueron superovuladas con 24 mg de FSH-P y las del grupo D con 12 mg de Follitropin. Los resultados obtenidos de las variables evaluadas en vacas para los grupos A Y B respectivamente fueron: promedio de estructuras totales recuperadas por animal 4.16 y 6.63 (P < 0.05); embriones transferibles 5.29 y 3.26 (P < 0.05); embriones no

transferibles 2.36 y 1.86 ($P > 0.05$); y óvulos no fertilizados 0.60 y 1.4 ($P < 0.05$), correspondiendo los primeros valores a la FSH-P.

Los resultados en vaquillas fueron: en promedio estructuras totales recuperadas por animal 6.5 y 7.5 ($P > 0.05$); embriones transferibles 6.25 y 3.25 ($P < 0.05$); embriones no transferibles 1.75 y 2.30 ($P < 0.05$) y óvulos no fertilizados 0.55 y 1.95 ($P < 0.05$), para los grupos C y D respectivamente, también los valores iniciales corresponden a la FSH-P.

En este trabajo resultó ser más efectiva superovular con FSH-P, obteniendo mayor número de embriones transferibles y menor número de óvulos no fertilizados tanto en vacas como en vaquillas.

INTRODUCCION

La finalidad de la transferencia de embriones es la de incrementar la capacidad reproductiva, no solo de los sementales como ocurre con la inseminación, sino también la de las hembras. Una parte esencial de la técnica es la superovulación de las hembras donadoras, práctica que se emplea para que una vaca donadora produzca varios óvulos en vez de uno o dos, como sucede en forma natural (17,28,45).

Sin embargo y aún cuando se tienen grandes avances en la superovulación, no se ha logrado obtener un método óptimo con el cual se logre de manera constante una buena producción de embriones viables en todos y cada uno de los animales superovulados (14,54).

Se han utilizado diversas hormonas gonadotrópicas para estimular la ovulación; como la gonadotropina sérica de yegua preñada (PMSG), cuyas dosis únicas varían de 1,500 a 3,000 U.I. se aplica por vía intramuscular en cualquiera de los días del noveno al doceavo del ciclo estral, posteriormente a las 48 horas se aplica una dosis de 25 mg. de prostaglandina F2 α (PGF2 α), con lo cual el animal manifiesta celo dos días después. Esta gonadotropina es un agente estimulante muy efectivo, siendo su principal desventaja su prolongada vida media en el torrente sanguíneo, causando sobreestimulación del ovario, patrones asincrónicos de ovulación y como consecuencia, porcentajes variables de fertilidad así como

menor número de embriones transferibles por recolección (16,24,29).

Ultimamente se han empleado anticuerpos policlonales y monoclonales contra la PMSG durante el estro o al momento de inseminar a las donadoras tratando de reducir su actividad biológica, con lo que aparentemente se ha incrementado el número de embriones transferibles, pero no se ha modificado la tasa de recuperación de embriones ni la de ovulación (9,26,27,41).

Actualmente el agente gonadotrópico más utilizado para estimular el crecimiento folicular suplementario es la Hormona Foliculo Estimulante (FSH), ya que parece ser que con su empleo se obtiene un mayor número de embriones transferibles.

Al contrario de la PMSG, la FSH tiene una vida media demasiado corta en el torrente sanguíneo, de solo 5 horas, por lo que tiene que aplicarse cada 12 horas, durante 4 ó 5 días (33,43,48,50). La dosis total varía entre 20 a 60 mg. y puede administrarse en dosis parciales en forma constante o decreciente (5,17,19,40,53).

Aunque la respuesta a los tratamientos superovulatorios con FSH parece ser mejor a la de otras hormonas, esta sigue siendo variable y puede ser influenciada por varios factores como son: raza (7), edad (36,39), estado lactacional (3,24), estado nutricional (54), superovulaciones anteriores (36), sensibilización por anticuerpos circulantes

(23,47), efectos individuales genéticos y medio ambiente (13,21,54). Ultimamente se ha señalado que esta variabilidad en la respuesta también se debe a la proporción diferente de FSH/LH que contienen los preparados comerciales de FSH (1,4,34,49), ya que existen preparados que contienen cantidades desconocidas de LH (30,31), o bien que la proporción FSH-LH varía entre lotes (35,52). Otras presentaciones que contienen cantidades conocidas de LH (2,4,12,42,46,51) y productos que no la contienen (6,25,32,44). El producto comercial de FSH que más se ha empleado es la FSH-P*, que presenta diversos grados de contaminación no específica de LH entre lotes, con la cual se ha obtenido en el Centro de Mejoramiento Genético, un promedio de 4 embriones viables por animal recolectado, similar a lo reportado por Elsdén y col. (17).

Otra preparación comercial de FSH es el Folitropin**, de origen Canadiense, la cual como señala el fabricante es un producto purificado que contiene cantidades conocidas de LH, en el que garantizan proporciones de 1:5 (LH-FSH).

Investigaciones realizadas por Schmidt y col. (46), observaron que con esta proporción se obtiene mejores respuestas superovulatorias.

*FSH-P Sheramex, S.A. de C.V. MEXICO.

** Folitropin Vetrepharm, Inc. CANADA.

Una mayor o menor proporción de LH afecta negativamente la producción de embriones transferibles (1,7,8,34).

Mapletoft y col. (38), han diseñado varios trabajos para determinar el efecto del Follitropin sobre una respuesta superovulatoria, comparando los resultados a los obtenidos con FSH-P, encontrando mejores respuestas superovulatorias y mayor producción de embriones transferibles con el Follitropin.

OBJETIVO

El objetivo del presente estudio, fue el de comparar el efecto del Follitropin sobre la respuesta ovulatoria, frente a la respuesta obtenida al utilizar la FSH-P en vacas y vaquillas donadoras de razas productoras de leche.

MATERIAL Y METODOS

El presente trabajo se realizó en el Centro de Mejoramiento Genético y Transplante de Embriones LICONSA, localizado en el Municipio de Tepotzotlán, Estado de Mexico, ubicado en las coordenadas 19 grados 43 minutos Latitud Norte y 94 grados 14 minutos Longitud Oeste, con una Altitud de 2450 m.s.n.m ; con clima (C (wO) b (1)) templado subhúmedo con lluvias en verano, con una variación media de temperatura de 5 a 24 grados centigrados y con una precipitación pluvial anual de 610.6 mm (18).

Para este trabajo se utilizaron 100 donadoras de las razas Holstein Friesian / Pardo Suizo Americano, de las cuales 60 fueron vacas de primera recolección posparto y 40 vaquillas de primera recolección. Todos los animales se encontraban en buen estado clínico, sanitario y ciclando regularmente (con intervalos promedio entre calores de 17 a 24 días).

Las vacas seleccionadas fueron agrupadas al azar en dos grupos (A y B) cada uno integrado por 30 donadoras. El grupo A fue superovulado con FSH-P, aplicándose intramuscularmente (IM) una dosis total de 36 mg. dividida en 4 días a intervalos de 12 horas entre aplicaciones como se describe a continuación (34,40):

Dia 1	6 mg A.M y 6 mg P.M
Dia 2	5 mg A.M y 5 mg P.M
Dia 3	4 mg A.M y 4 mg P.M
Dia 4	3 mg A.M y 3 mg P.M

El grupo B fue superovulado con una dosis total de 18 mg. de Follitropin por donadora, equivalente a 36 mg. de FSH-P, administrándose (IM) durante 4 días en dosis diarias constantes de 2.25 mg. equivalente a 9 mg de FSH-P por día, con intervalos de 12 horas entre cada aplicación (2,42,51).

Las vaquillas se dividieron al azar en dos grupos (C y D) de 20 animales cada uno. Las donadoras del grupo C se superovularon con FSH-P aplicándose una dosis total de 24 mg. durante cuatro días en forma decreciente como a continuación se describe (30):

Día 1 4 mg A.M y 4 mg P.M

Día 2 3 mg A.M y 3 mg P.M

Día 3 3 mg A.M y 3 mg P.M

Día 4 2 mg A.M y 2 mg P.M

Las donadoras del grupo D se superovularon con 12 mg. de Follitropin que equivalen a 24 mg de FSH-P, la cual se aplicó también durante 4 días en dosis diarias constantes, administrándose 1.5 mg cada 12 horas que equivalen a 6 mg de FSH-P por día (4,37,38).

A los animales de los cuatro grupos se les aplicó al tercer día de iniciado el tratamiento superovulatorio, 50 mg de PGF₂α (Dinoprost Tromethamine)* 25 mg en la mañana y

* Dinoprost Tromethamine - Lutalyse, Tuco-Upjohn USA.

25 mg en la tarde con intervalos de 12 horas entre cada aplicación, ocurriendo el celo aproximadamente a las 48 horas de haber sido aplicada la primera dosis del luteolítico (9,16,53).

La inseminación artificial se realizó con semen congelado a las 12 y 24 horas de detectado el celo.

La recolección de embriones en las donadoras (vacas y vaquillas) se realizó entre los 6.5 y 7.5 días después de detectado el celo, utilizando para ello el método transcervical no quirúrgico (3,11,15,22).

Una vez concluida la recolección, se procedió a la búsqueda y evaluación de los embriones en el laboratorio utilizando la técnica de evaluación morfológica descrita por Elsden (17).

Los embriones considerados como transferibles en este estudio fueron únicamente los de calidad excelente y buena, en estadios de mórula compacta, blastocisto temprano, blastocisto maduro y blastocisto expandido.

Los embriones considerados no transferibles fueron los de calidades regular y pobre en los mismos estadios descritos para embriones transferibles, así como los óvulos (17,20).

Las variables analizadas en este estudio fueron: número y promedio de estructuras totales recolectadas por donadora, embriones transferibles, embriones no transferibles y óvulos. Los resultados fueron evaluados mediante análisis de

RESULTADOS

En el cuadro No. 1 se presentan los resultados obtenidos de las estructuras recuperadas en vacas superovuladas grupos A y B, además de los cuerpos luteos palpados antes de la recolección.

Como puede apreciarse, en el grupo A se palpó un total de 255 cuerpos luteos con un promedio de 8.5 por animal superovulado y en el grupo B se palparon 199 cuerpos luteos con un promedio de 6.63; en el grupo A se recuperaron 245 estructuras entre embriones viables, embriones degenerados o no transferibles y óvulos, que significa el 96% del total de cuerpos luteos palpados, con un promedio de 8.16 estructuras por animal recolectado; en el grupo B se recuperaron 199 estructuras que representan el 100% del total de cuerpos luteos palpados o estructuras posibles de recuperar. Se obtuvo un promedio de 6.63 estructuras, no habiéndose encontrado diferencias estadísticas ($P > 0.05$). En el grupo A, se obtuvo un promedio de 5.2 embriones transferibles por animal recolectado y en el grupo B se obtuvo un promedio de 3.36 embriones transferibles por animal, siendo significativamente menor que lo obtenido en el grupo A ($P < 0.05$).

En lo que respecta al promedio de embriones no transferibles por animal recolectado no se observaron diferencias estadísticas ($P > 0.05$), pero si entre la producción de óvulos sin fertilizar, en donde el grupo B tuvo

un promedio de 1.4 óvulos y el grupo A, solo 0.6 óvulos ($P < 0.05$).

En el cuadro No. 2 se muestran los resultados obtenidos en las vaquillas, grupos C y D.

Como puede observarse en ambos grupos, se palpó el mismo número de cuerpos luteos, con un promedio de 9.3 cuerpos luteos por animal superovulado. Por otro lado, en las vaquillas del grupo C, aunque se obtuvieron más estructuras por animal recolectado no se encontraron diferencias estadísticas con las estructuras recuperadas del grupo D ($P > 0.05$); en cuanto a los promedios de embriones viables y óvulos sin fertilizar, los resultados registrados en estos grupos son semejantes a los obtenidos en vacas, observándose una diferencia significativa favoreciendo también al grupo tratado con FSH-P ($P < 0.05$).

En lo que respecta al aspecto económico, el superovular vacas utilizando FSH-P tuvo un costo de \$ 193,366.00 y con Follitropin de \$ 106,120.00; en vaquillas el costo fue de \$ 136,966.00 al utilizar FSH-P y de \$ 78,819.00 con Follitropin. Por lo tanto el precio por embrión producido en vacas con FSH-P fue de \$ 37,190.00 y de \$ 31,583.37 al utilizar Follitropin. En vaquillas, el embrión tuvo un costo de \$ 21,914.56 con FSH-P y de \$ 24,250.00 al utilizar Follitropin.

CUADRO No. 1 CUERPOS LUTEOS PALPADOS Y ESTRUCTURAS
RECUPERADAS DE LAS VACAS GRUPOS A Y B

	A (FSH-P)	B (FOLLTEOPIN)
No. DE DONADORAS	30	30
No. DE CUERPOS LUTEOS PALPADOS TOTALES	255	199
PROMEDIO DE CUERPOS LUTEOS	8.5	6.5
PROMEDIO DE ESTRUCTURAS RECUPERADAS	8.16±6.3 a	6.63±4.9 a
PORCENTAJES DE ESTRUCTURAS RECUPERADAS POR DONADORA	96 %	100 %
PROMEDIO DE EMBRIONES TRANSFERIBLES	5.20±4.6 a	3.36±3.5 b
PORCENTAJE DE EMBRIONES TRANSFERIBLES POR DONADORA	63.72 %	50.67 %
PROMEDIO DE EMBRIONES NO TRANSFERIBLES	2.36±2.5 a	1.86±1.9 a
PORCENTAJE DE EMBRIONES NO TRANSFERIBLES POR DONADORA	28.92 %	28.05 %
PROMEDIO DE OVULOS NO FERTILIZADOS	0.6±0.9 a	1.4±2.1 b
POCENTAJE DE OVULOS NO FERTILIZADOS POR DONADORA	7.35 %	21.12 %

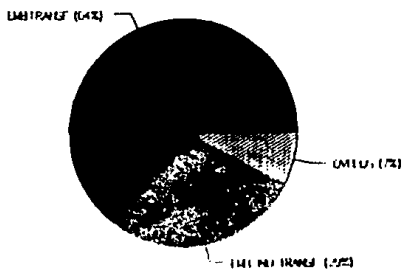
Valores con diferente literal indican diferencia estadística significativa (P < 0.05).

CUADRO No. 2 CUERPOS LUTEOS PALPADOS Y ESTRUCTURAS
RECUPERADAS DE LAS VAQUILLAS GRUPOS C Y D

	C (FSH-P)	D (FOLLTROPIN)
No. DE DONADORAS	20	20
No. DE CUERPOS LUTEOS PALPADOS TOTALES	186	186
PROMEDIO DE CUERPOS LUTEOS	9.3	9.3
PROMEDIO DE ESTRUCTURAS RECUPERADAS	8.5±6.5 a	7.5±5.4 a
PORCENTAJE DE ESTRUCTURAS RECUPERADAS POR DONADORA	91.39 %	80.64 %
PROMEDIO DE EMBRIONES TRANSFERIBLES	6.25±4.4 a	3.25±2.8 b
PORCENTAJE DE EMBRIONES TRANSFERIBLES POR DONADORA	73.52 %	43.33 %
PROMEDIO DE EMBRIONES NO TRANSFERIBLES	1.75±1.9 a	2.30±3.5 a
PORCENTAJE DE EMBRIONES NO TRANSFERIBLES POR DONADORA	20.58 %	30.67 %
PROMEDIO DE OVULOS NO FERTILIZADOS	0.55±1.1 a	1.95±2.2 b
PORCENTAJE DE OVULOS NO FERTILIZADOS POR DONADORA	6.47 %	26 %

Valores con diferente literal indican diferencia estadística
significativa (P < 0.05).

PORCENTAJE DE ESTRUCTURAS RECOLECTADAS EN VACAS SUPEROVULADAS CON FSH-P



PORCENTAJE DE ESTRUCTURAS RECOLECTADAS EN VACAS SUPEROVULADAS CON FOLLTROPIN

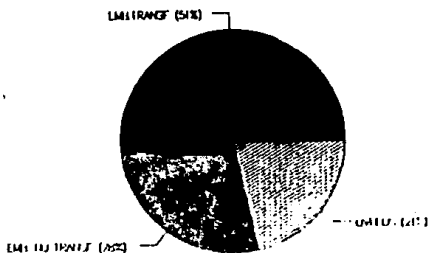
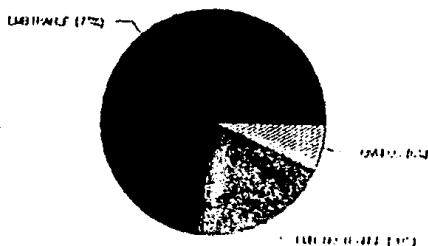
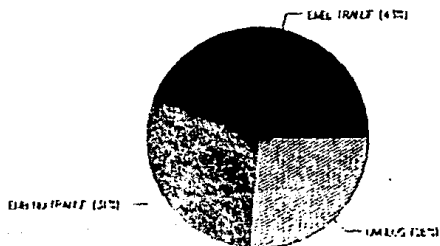


FIGURA No. 2

PORCENTAJE DE ESTRUCTURAS RECOLECTADAS
EN VAQUILLAS SUPEROVULADAS CON EMI-P



PORCENTAJE DE ESTRUCTURAS RECOLECTADAS
EN VAQUILLAS SUPEROVULADAS CON FOLLITROPIN



DISCUSION

Los resultados registrados en el presente trabajo al superovular vacas con 18 mg. de Follitropin, fue de 3.36 (50.6 %) embriones transferibles de los 5.22 embriones totales recuperados, que difiere a lo encontrado por Saunders y col. (42), que al utilizar la misma cantidad de hormona en vacas productoras de carne obtuvieron 6.8 (68 %) embriones transferibles de los 8.2 embriones totales. Al comparar con lo observado por Wu y col. (51), quienes superovularon ganado productor de carne con 20 mg. de Follitropin, obtuvieron 4.1 (45 %) embriones transferibles de los 5.8 embriones totales lo que resulta semejante a lo observado en el presente trabajo. Por otro lado, los promedios de embriones transferibles y embriones totales obtenidos en este trabajo al superovular vacas con 36 mg. de FSH-P coinciden con los observados por Pawlyshym y col. (40), quienes al utilizar en un estudio 30 mg. del mismo producto en vacas de razas productoras de carne obtuvieron 6.4 (34.22 %) embriones transferibles y 15.4 embriones totales recuperados, mientras que en otro trabajo, utilizando 45 mg. de FSH-P obtuvieron 5.1 (20.31 %) embriones transferibles y 8.6 embriones totales.

En lo que respecta a los resultados observados en vaquillas superovuladas con 12 mg. de Follitropin en este trabajo, difiere a los encontrados por Mapletoft y col.

(36), ya que al utilizar 10 mg. de este producto en vaquillas de razas productoras de carne obtuvieron 7.4 (86 %) embriones transferibles y 8.6 embriones totales.

En un experimento posterior, utilizando la misma dosis de Follitropin solo obtuvieron 1.1 (23 %) embriones transferibles y 3.6 embriones totales lo que indica tambien variabilidad en la respuesta al emplear este producto.

Por otro lado dichos autores tambien obtuvieron 2.5 (44 %) embriones transferibles y 3.2 embriones totales al superovular vaquillas productoras de carne con FSH-P resultando estos promedios inferiores a los citados en este trabajo para vaquillas productoras de leche. Tambien Xu y col. (52), al comparar varios lotes de hormona FSH-P, utilizando 26 mg. en vaquillas productoras de carne obtuvieron 2.2 embriones transferibles y 4.1 embriones totales.

Los diferentes investigadores consultados obtuvieron resultados muy variables, aún utilizando la misma dosis de hormona ya sea Follitropin o FSH-P. Con respecto al Follitropin posiblemente la proporción de LH-FSH de 1:5 no sea la más apropiada para superovular bovinos de raza lechera o bien la dosis recomendada por el productor sea baja o requiera ser administrada en forma decreciente.

Otros investigadores (7,8,14,49), han registrado diferencias en el comportamiento superovulatorio entre razas de tipo lechero y productoras de carne al utilizar FSH con

diferentes cantidades de LH. Por otro lado hay que recordar la variación que existe entre los diferentes lotes producidos de FSH-P en relación a la cantidad de LH por lo que en cierta forma se explica la variación en los resultados.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

CONCLUSION

Aunque en este estudio se observó que la FSH-P produce un mejor efecto superovulatorio que el FOLLTROPIN, existen otros estudios contradictorios en los que el FOLLTROPIN fue mejor agente estimulador. Al parecer se debe continuar estudiando el efecto superovulatorio con diferentes productos y en diferentes condiciones, así como tratar de controlar los muchos factores extrínsecos que contribuyen a la variabilidad en las respuestas de los animales donadores. Y obtener mayor información sobre la actividad y mecanismos de desarrollo folicular.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Armstrong, D. T., and Opavsky, .: Biological characterization of a pituitary FSH preparation with reduced LH activity. Theriogenology 25:135 (1986).
- 2.- Bielanski, A., A.D.R.I.: Estudio de titulación de dosis en vacas adultas con Folltropin. Vetrepharm Inc. Data on file (1986-1987).
- 3.- Brand, A., Trouson, A. O., Aarts, M. H. Drost, M. and Zoayer, D.: Superovulation and Non-surgical embryo recovery in the lactating dairy cow. Anim. Prod. 26:55-60 (1978).
- 4.- Carruthers, T. D., A. Gonzalez, J. G. Lussier, B. D. Murphy and R. J. Mapletoft.: Superovulation (SPO) with Folltropin in beef heifers. Theriogenology 33:519 (1990).
- 5.- Cognie, Y. D. and Chupin, J. S.: Comparison of two FSH treatment schedules to induce superovulation in ewes. France. Theriogenology 24:184 (1985).
- 6.- Chappel, S., Looney, C. and Bondioli, K.: Bovine FSH produced by recombinant DNA technology. Theriogenology 29:237 (1988).
- 7.- Chupin, D. Y. and Combornous, R. P.: Different effect of LH on FSH induced superovulation in two breeds of cattle. Theriogenology 23:184 (1985).

- 8.- Chupin, D. Y. and Combornous, R. P.: Antagonistic effect of LH on FSH induced superovulation in cattle. Theriogenology 21:229 (1984).
- 9.- Dieleman, S. J., Revers, M. M. and Gielen, J. Th.: Increase of the number of ovulations in PMSG/PG treated cows by administration of monoclonal anti-PMSG shortly after the endogenous LH peak. Theriogenology 27:222 (1987).
- 10.- Donaldson, L. E.: Embryo transfer in cattle. Rio Vista International, Inc., San Antonio, Texas U.S.A. (1982).
- 11.- Drost, M., Brand, A., and Aart, M. H.: A device for nonsurgical recovery of bovine embryos. Theriogenology 6:503-507 (1976).
- 12.- Edwin, G., Robertson D. V. M.: Harrogate Hospital For Animals, P.C., Datos de un experimento superovulación en vaca usando Follitropin y FSH-P (folleto publicidad) Vetrepharm Inc. 29 Bessemer Road Unit 27 London Ontario.
- 13.- Echterkamp, S. E. and Schanbacher, B. D.: Relationships among circulating concentrations of inhibin, FSH and LH in cattle at estrus. Theriogenology 33:222 (1990).
- 14.- Elsdon, R. P.: Bovine superovulation: which FSH Should We Use ? Embryo Transfer 4:2 (1989).

- 15.- Elsdén, R. P., Hasler, J. F. and Seidel, G. E., Jr.:
Non-surgical recovery of bovine eggs. Theriogenology
6:523-532. (1976).
- 16.- Elsdén, R. P., Nelson, L. D. and Seidel G. E., Jr.:
Superovulating cows with follicle stimulating hormone and
pregnant mare serum gonadotrophin. Theriogenology 6:17
(1978).
- 17.- Elsdén, R. P. y Seidel, G. P., Jr: Procedimientos para
la recolección, división, congelación y transferencia
de embriones de bovino, Laboratorio de reproducción
animal, Colorado State University Fort Collins, Colorado
U.S.A. (1986).
- 18.- García, E.: Modificaciones al sistema de clasificación
climática de Köppen. Instituto de Geografía. Universidad
Nacional Autónoma de México, D. F., (1972).
- 19.- García, G. J. K., G. E. Seidel, J. and R. P. Elsdén.:
Efficacy of shortened FSH treatment for superovulating
cattle. Theriogenology 17:90 (1982).
- 20.- Gary, M., Lindner and Raymond, W., Wright, Jr.: Bovine
embryo morphology and evaluation. Theriogenology 20:4
(1983).
- 21.- Gordon, I., Boland, M. O., Mc Govern, H. and Lynn, G.:
Effect of season on superovulatory responses and embryo
quality in Holstein cattle in Saudi Arabia.
Theriogenology 27:231 (1987).

- 22.- Greven, T., Lehn-Jensen, H. and Fastech, H. O.: Non-Surgical recovery of bovine embryos Theriogenology 7:239-250 (1977).
- 23.- Hansen, P. O.: Book review, Immunological aspects of reproduction in mammals. Theriogenology 24:149 (1985).
- 24.- Hasler, J. F., McCauley, A. D., Schermerhorn, E. C., and Foot, R. H.: Superovulatory responses of Holstein cows. Theriogenology 19:83-99 (1983).
- 25.- Herrier, A., Bechers, J. F., Viviers Donnay, J. Neiman, H.: Purified FSH supplemented with defined amounts of LH for superovulation in dairy cattle. Theriogenology 29:260, (1988).
- 26.- Jainudee, M. R., Hafez, E. S. E., Collnich, P. D. and Moustafa, L. A.: Antigonadotrophins in the serum of cows following repeated therapeutic pregnant mare serum injections. Anim. J. Vet. Res. 27:669-675 (1966).
- 27.- Kim, H. N., Rousell, J. D., Poll, S. H. and Godke, P. A.: The effect of a commercially-available purified FSH and bovine anti-PMSG antiserum on the superovulation of dairy heifers. Theriogenology 29:267 (1987).
- 28.- Lars, G. Ch.: Use of embryo transfer in future cattle breeding schemes. Theriogenology 35:141-149 (1991).
- 29.- Lester, D. B.: Ovulation, fertility, and prenatal mortality in heifers treated with PMSG or porcine FSH. J. Reprod. Fert. 35:275-282 (1973).

- 30.- Lindsell, C. E. Pawlyshym, V., Bielanski, A. and Mapletoft, P. J.: Superovulation of heifers with FSH-P beginning on four different days of the cycle. Theriogenology 23:203 (1985).
- 31.- Lindsell, C. E. Rajkumar, Manning, A. W. and Emery, S. F.: Variability in FSH:LH ratios among batches of commercially available gonadotropins. Theriogenology 25:167 (1987).
- 32.- Looney, C. R., Bondioli, I. R., Hill, J. G. and Massey, J. M.: Superovulation of donor cows with bovine follicle-stimulating hormone (bFSH) produced by recombinant DNA technology. Theriogenology 29:271 (1988).
- 33.- Looney, C. R., Boute, B. W., Archbald, L. F. and R. A. Godke.: Comparison of once daily and twice daily FSH injections for superovulating beef cattle. Theriogenology 15:13-22 (1981).
- 34.- Lloyd, E. and Donalson.: LH and FSH profiles at superovulation and embryo production in the cow. Theriogenology 23:441 (1985).
- 35.- Lloyd, E. and Donalson.: FSH-P Batch variation. Theriogenology 33:215 (1990).
- 36.- Lloyd, E. and Donalson.: Effect of age of donor cows on embryo production. Theriogenology 21:763 (1984).

- 37.- Mapletoft, R. J. and Murphy, B. D.: Superovulation of beef cattle with Folltropin. 11th. Int. Congr. Anim. Reprod. A.I. Edimburgh, Scotland. 2:173 (1988).
- 38.- Mapletoft, R. J. Gonzalez. A., Lussier, J. G., Murphy, B. D. and Carrutters. T. D.: Superovulation of bbeif heifers with Folltropin or FSH-P. Theriogenology 29:274 (1988).
- 39.- Ozil, J. B., Heyman, Y. and Cassou, R.: Embryo recovery in young heifers and large old donor cows. 3th. Int. Congr. Anim. Reprod. and A.I., Madrid. p. 581-584 (1980).
- 40.- Pawlyshym, V., Lindsell, C. E., Braithwaite, M. and Mapletof, R. J.: Superovulation of beef cows with FSH-P: a dose reponse trial. Theriogenology 25:179 (1986).
- 41.- Saumande, J. and chupin, D.: Production of PM5G antiserum in cattle: assay of inhibitory activity and use in superovulated heifers. Theriogenology 15:108 (1981).
- 42.- Saunders, J. Willmott, N., Palasz, A. and Mapletoft., R. J.: Dose titration of Folltropin in the cow. Theriogenology 33:319 (1990).
- 43.- Santos, S., Sanchez, A. P. y Monterrubio, S. G.: Superovulación en ganado bovino empleando hormona foliculo estimulante a diferentes dosis INIP-SARH. VII Congreso Nacional de Bujiatria. 256-259 (1982).
- 44.- Scott, Charles, L., and Kenneth B.: Bovine FSH produced by recoamabinent DNA. Theriogenology 29:235 (1988).

- 45.- Shneider, H. J., Jr., Castleberry, R. S., and Griffin J.L.:
Comercial aspects of bovine transfer. Theriogenology
13:73-85 (1980).
- 46.- Schmidt, M. Greeve, T. and Callesen, H.: Superovulation of
cattle with FSH containing standardized LH amounts. 11th
Int. Cong. Anim. Reprod. A. I. Edimburgh, Scotland. Vol 2
abstr. 191 (1988).
- 47.- Stephen, P., Ford.: Maternal recognition of pregnancy in
the Ewe, cow and sow: vascular and immunological aspects.
Theriogenology 23:145-159 (1985).
- 48.- Takahashi, Y., and Kanagawa, H.: Inductions of
superovulation using several FSH regimens in Holstein-
Friesian heifers. JPN. J. Vet. Res., 33:45-50 (1985).
- 49.- Willmott, N., Saunders, J., Bo, G. A., Palasz, A.,
Pierson, R. A. and Mapletoft., R. J.: The effect of
FSH/LH ratio in pituitary extracts on superovulatory
response in the cow. Theriogenology 33:347 (1990).
- 50.- Wilson, J. M.: Superovulation FSH update. in proceedings
of the 7th Annual Convention of the American Embryo
Transfer Association. Reno, Nevada pp 39-43 (1988).
- 51.- Wu, M., Wang, H. B. D., Murphy and Mapletoft, R.
J.: Superovulation of beef cows with Follitropin: A
dose trial. Theriogenology 29:332 (1988).
- 52.- Xu, K., Wu, H., Wang and Mapletoft, R. J.: FSH-P
lot-number and superovulation response in beef
heifers. Theriogenology 29:335 (1988).

- 53.- Yoshiyuki, T. and Hiroasshi, K.: Inductions of superovulation using several FSH regimens in Holstein Friesian heifers. Jpn. J. Vet. Res., 33:45-50 (1985).
- 54.- Zarco, L.: Algunos factores que afectan los resultados de la superovulación en el bovino. Memorias del curso Internacional de Reproduccion Bovina. Academia de Investigación en Biología de la Reproducción A.C. México, D.F., F.M.V.Z., U.N.A.M. p.p. 107-118 (1990).