

RESPUESTAS DE VACAS CEBU A SUPEROVULACIONES SUCESIVAS CON FSH^{a,b}

JOSE FERNANDO DE LA TORRE SANCHEZ^c

MARCO AURELIO CASTRO LUQUE^d

EVERARDO GONZALEZ PADILLA^e

OTHON REYNOSO CAMPOS^f

RESUMEN

Con objeto de determinar el efecto de dosis total de FSH, edad de la vaca y época del año en que se aplicó el tratamiento superovulatorio, así como calcular el índice de constancia de la respuesta ovárica a la superovulación repetida con FSH en vacas cebú, se realizó el presente trabajo. Fueron utilizadas 30 vacas, de las cuales 6, 7 y 17 se superovularon en tres, dos y una ocasiones, respectivamente, haciendo un total de 49 observaciones. Se utilizó un diseño factorial 2x2x2 para evaluar los efectos dosis (18 ó 24 mg); época (estiaje o lluvias) edad (4-9 ó 10-14 años). Las variables de respuesta a medir fueron volumen ovárico postratamiento y cantidad de: cuerpos lúteos, folículos, embriones más ovulos, embriones y embriones transferibles. Se obtuvo el índice de constancia para las variables de respuesta, utilizando la información de las vacas superovuladas en más de una ocasión. Aunque existen diferencias en algunas variables de respuesta con respecto a dosis y edad, la información no permite inferir que exista mejor respuesta superovulatoria a una dosis o que vacas de determinado rango de edad se comporten mejor, tampoco se observó efecto de época. En lo referente a índices de constancia, no obstante haberse obtenido valores altos en la variable volumen ovárico postratamiento, en las demás variables este valor fue bajo, por lo cual no se puede afirmar que la respuesta inicial de una vaca cebú a la superovulación, sea un buen predictor de sus respuestas subsecuentes.

Téc. Pec. Méx. Vol. 30 No. 3 (1992)

INTRODUCCION.

La transferencia embrionaria ha sido practicada con éxito en animales desde finales del siglo pasado, y ha constituido a partir de la década de los 50s, una valiosa herramienta de investigación en la producción bovina²⁷. A partir de la década de los 70s, adquirió interés comercial sobre todo en Canadá y Estados Unidos de Norteamérica, en razón de la importación masiva de razas europeas de doble propósito. Al paso de los años, la

transferencia embrionaria ha tenido muchos usos, especialmente en investigación, y no ha sido sino hasta años recientes, que se ha difundido ampliamente dentro de los esquemas de producción animal²⁵.

Un punto clave de la técnica, es obtener una tasa alta y controlada de superovulación²⁸; sin embargo, esto no ha sido posible, ya que la respuesta a un tratamiento superovulatorio determinando, presenta gran variabilidad^{8, 21, 26}, la cual es atribuida a una serie de factores tanto externos como del propio animal³². Se menciona que una fuente importante de variación en la respuesta, es debida a diferencias individuales en la población folicular ovárica al momento del tratamiento^{2, 22}. Esto indica que no toda la variación encontrada es de origen ambiental y, al menos en parte, la constitución genética del animal determina una respuesta específica a cierto tratamiento. Lo antes

a Recibido para su publicación el 7 de mayo de 1992

b Parte de la información de este trabajo fue la tesis de Maestría del primer autor.

c Campo Experimental "El Macho" INIFAP-SARH, Apdo. Postal 16 Acaponeta, Nay.

d CONALEP, Los Mochis, Sin.

e Vocalía de Investigación Pecuaria, Insurgentes Sur No. 694, 6o. Piso, México, D.F.

f Becario Universidad de Cornell, Itaca, N.Y., U.S.A.

mencionado, nos lleva a cuestionar sobre cómo sería la respuesta superovulatoria, cuando el tratamiento es aplicado repetidamente a un animal. Al respecto, algunos autores mencionan que la respuesta es consistente, en tanto que otros informan respuestas independientes entre uno y otro tratamiento^{16,19}. Se dispone de poca información en ganado cebú, sobre la respuesta individual de una vaca a superovulaciones repetidas. El índice de constancia es la correlación entre las respuestas sucesivas y provee una medida de la confiabilidad en la predicción de un comportamiento futuro a partir del registro inicial¹⁸; por lo tanto, calcular el índice de constancia de la respuesta ovárica a la superovulación en vacas cebú, sería de utilidad al momento de seleccionar vacas donadoras de embriones.

MATERIALES Y METODOS.

El presente trabajo se desarrolló en el campo Experimental "El Macho" INIFAP-SARH, en el Municipio de Tecuala, Nay., bajo condiciones de clima tropical seco (Awo)²⁹. Fueron utilizados 30 bovinos hembras sin cría, de raza cebú, con edades entre 4 y 14 años, mantenidos en praderas de zacate Estrella de África (*Cynodon plectostachyus*), recibiendo alimentación de complemento, consistente en una ración a base de sorgo molido, soca de sorgo, melaza, harinolina, sal, roca fosfórica y minerales traza, con un contenido de un 10% de PC y 1.9 Mcal de EM por Kg, a razón de 1.5 a 2 Kg por animal por día, durante el estiaje. Los animales al examen físico y tocológico mostraron ser aptos.

Se realizó superovulación y recolección embrionaria a seis vacas en tres ocasiones; a siete en dos ocasiones y a 17 una sola vez. El intervalo entre tratamiento en los animales que se superovularon más de una vez, fue de 35 a 70 días. Se aplicaron un total de 49 tratamientos, los cuales fueron distribuidos en un arreglo factorial 2x2x2 donde los factores fueron: Dosis total de FSH-P^a: 18 y 24 mg. Edad de la vaca: 4 a 9 y 10 a 14 años y época del año en que se dió tratamiento:

secas (enero a junio) y lluvias (julio a octubre). El tratamiento fue iniciado el día 11 del ciclo estral, previa observación de uno o dos ciclos estrales de duración normal y confirmación a la palpación rectal de un cuerpo lúteo funcional en cualquiera de los ovarios; asimismo, se estimaron las dimensiones de los ovarios antes de los tratamientos, para obtener un volumen estimado al multiplicar largo, ancho y grosor. Este dato fue utilizado como covariable al analizar la variable de respuesta volumen ovárico postratamiento. Las dosis de FSH-P se administraron en forma fraccionada durante cuatro días, a razón de dos aplicaciones por día y en forma decreciente, como a continuación se indica: 18 mg: 3, 3, 3, 3, 2, 2, 1 y 1; 24 mg: 4, 4, 3, 3, 3, 3, 2 y 2. Se aplicaron dos dosis de prostaglandina F2 alfa^b de 25 mg cada una, cada 12 horas, en el tercer día del tratamiento. Se sometió al animal a detección de celos por la mañana y por la tarde, durante dos horas en cada ocasión. Las hembras que 48 horas después de la aplicación de prostaglandinas no presentaron celo, fueron sometidas a tacto rectal y aquellas en las que se confirmó la presencia de un folículo desarrollado y turgencia uterina, así como salida de moco por la vulva, fueron consideradas en celo silente. La fertilización de óvulos se llevó a cabo mediante inseminación artificial, con semen congelado de un mismo toro, usando dos dosis a las 0, 12 y 24 horas después del inicio del estro. La recolección embrionaria se llevó a cabo entre el día 6.5 y 7.5 después del inicio del celo, por el método no quirúrgico cerrado¹⁵. El medio de colección utilizado fue solución de Hartman adicionada con 1% de suero de novillo castrado y antibióticos^c.

Se utilizó un total de 1 l de solución por colección, irrigando cada cuerno uterino en forma individual y haciendo pasar el líquido

a) FSH-P, Burns-Biotec Lab. inc. Omaha, Nebraska, U.S.A.

b) Lutalyse, Tucdco Lab Inc. Kalamazoo, Michigan, U.S.A.

c) Penicilina, G. sódica, 100 UI/ML + Estreptomina 0.1/ml.

colectado por un filtro concentrador de embriones, de poros de 80μ de diámetro. Al momento de la colección, se palparon los ovarios para estimar su volumen y hacer el conteo de estructuras lúteas y foliculares.

La identificación y evaluación embrionaria se llevó a cabo con ayuda del microscopio estereoscópico y el compuesto, clasificándose éstos en: embriones transferibles, embriones no transferibles y óvulos no fertilizados, siguiendo las descripciones hechas por Lindner y Wright¹⁵.

Se registró la información de las siguientes variables dependientes:

- Volumen ovárico postratamiento (Se incluyó como covariable el volumen ovárico al momento de iniciar el tratamiento).
- Número de cuerpos lúteos.
- Número de folículos (< 10 mm).
- Número de embriones + óvulos no fertilizados colectados.
- Número de embriones colectados.
- Número de embriones transferibles colectados.

El modelo para analizar la variación de cada parámetro fue:

$$Y_{ijkl} = M + D_i + E_j + DE_{ij} + A_k + DA_{ik} + EA_{jk} + DEA_{ijk} + B(e-xe) + E(ijk)_l$$

Donde:

Y_{ijkl} es la l -ésima observación de cada parámetro, dentro de la k -ésima edad de la vaca, de la j -ésima época del año, de la i -ésima dosis de FSH; m es la media poblacional; D_i es el efecto de la i -ésima dosis de FSH(1,2); E_j es el efecto de la j -ésima época del año (1, 2); A_k es el efecto de la k -ésima edad de la vaca (1, 2); DE_{ij} , DA_{ik} , EA_{jk} , DEA_{ijk} , son los efectos de las interacciones dobles y de la triple interacción entre los efectos antes descritos; $B(e-xe)$ es el efecto

de volumen ovárico pretratamiento como covariable, al analizar el volumen ovárico postratamiento (al hacer el análisis de las variables de respuesta restantes, no se incluyó la covariable en el modelo), $E(ijk)_l$ es el error aleatorio DNI ($0, \sigma^2$). La información fue analizada mediante el procedimiento GLM para datos desbalanceados, del paquete estadístico SAS¹³. El índice de constancia, se obtuvo a partir de los componentes de varianza estimados entre vacas y entre superovulaciones, dentro de una misma vaca, aplicando la fórmula descrita por Becker⁴:

$$IC = \sigma^2 E / \sigma^2 E + \sigma^2 D$$

Donde:

IC = Índice de Constancia

$$\sigma^2 E = \frac{CME - CMD}{KI}$$

$$\sigma^2 D = CMD$$

CME = Cuadrado medio entre vacas.

CMD = Cuadrado medio dentro de vacas.

KI = Número de superovulaciones.

Para obtener los cuadrados medios entre y dentro de vacas, se utilizó el siguiente modelo:

$$Y_{ij} = M + A_i + E(i)_j$$

Donde:

Y_{ij} es la j -ésima superovulación de la i -ésima vaca; M es la media poblacional; A_i es el efecto de la i -ésima vaca; $E(i)_j$ es el error aleatorio

a) En todos los casos, las mediciones se hicieron a los siete días después del celo.

DNI (0, t^2), el cual en este caso es el efecto de la j-ésima superovulación.

RESULTADOS Y DISCUSION.

Los análisis de varianza efectuados sobre las variables de respuesta, para determinar los efectos de dosis, edad de la vaca y época, arrojaron un efecto significativo ($P < 0.01$) de dosis y edad para volumen ovárico postratamiento y de la interacción dosis-edad, así como la de la covariable, para esta misma variable de respuesta ($P < 0.05$) (Cuadro 1). Se encontró también efecto de dosis y edad para la variable de número de folículos mayores de 10 mm ($P < 0.05$) (Cuadro 2). En el Cuadro 3, se presentan las medias mínimo cuadráticas y errores estándar, obtenidas para las variables de respuesta en estudio, en las dos dosis aplicadas; se aprecia una mayor respuesta de la dosis de 24 mg, contra la de 18 mg, para volumen ovárico postratamiento y folículos > 10 mm, no siendo diferentes

ambas dosis en las variables restantes. En cuanto a volumen ovárico postratamiento y folículos > 10 mm, la información obtenida, concuerda con los resultados de Elsdén y Kessler¹¹, quienes lograron mayor respuesta con 24 mg que con otras dosis, en ganado cebuino; sin embargo, es contraria a la obtenida por Córdova⁷, quien informa mejores resultados al utilizar dosis de 18 mg, comparada con 24 ó 32 mg, también trabajando en vacas cebú. Aunque no existe una definición clara en cuanto a la dosis óptima de FSH para ganado *Bos indicus*, existe consenso en la literatura, en el sentido de que la dosis óptima de FSH para este género, debe situarse por debajo de las cantidades que se manejan para ganado europeo; así, para este último se habla de rangos de dosis que van de 32 a 50 mg^{6, 9, 17, 24}, en tanto que para vacas cebú, se maneja como rango óptimo, de 18 a 30 mg^{5, 11, 30}. Esta diferencia parece estar relacionada con una aparente mayor sensibilidad del ganado

CUADRO 1. ANALISIS DE COVARIANZA PARA VOLUMEN OVARICO POSTRATAMIENTO (n = 46).

O.V.	G.L.	C.M.	Pr F
DOSIS	1	497662.52	0.0007**
EPOCA	1	12591.94	0.56
EDAD	1	234897.12	0.01**
COVARIABLE ^a	1	172820.91	0.03*
DOSIS-EPOCA	1	56384.94	0.22
DOSIS-EDAD	1	158102.71	0.04**
EPOCA-EDAD	1	26778.73	0.39
DOSIS-EPOCA-EDAD	1	48.01	0.97
ERROR	1	36619.62	
TOTAL	37		
$r^2 = 0.46$	45		

** ($P < .01$)

* ($P < .05$)

^a Volumen ovárico pretratamiento.

CUADRO 2. ANALISIS DE VARIANZA PARA NUMERO DE FOLICULOS (n = 49) MAYORES DE 10 mm.

O.V.	G.L.	C.M.	Pr F
DOSIS	1	20.57	0.03*
EPOCA	1	6.31	0.22
EDAD	1	15.83	0.05*
DOSIS-EPOCA	1	8.81	0.15
EPOCA-EDAD	1	9.99	0.13
EPOCA-EDAD	1	0.96	0.63
DOSIS-EPOCA-EDAD	1	7.33	0.19
ERROR	1	4.20	
TOTAL	41		
$r^2 = 0.28$	48		

* (P < .05)

CUADRO 3. EFECTO DE DOSIS, SOBRE VOLUMEN OVARICO, CUERPOS LUTEOS, FOLICULOS, EMBRIONES + OVULOS, EMBRIONES Y EMBRIONES TRANSFERIBLES.

	DOSIS	
	18 mg	24 mg
NUMERO DE OBS.	28	21
VOLUMEN OVARIO, cm ³	149.26 ± 41.41 ^a	342.16 ± 46.40 ^b
CUERPOS LUTEOS, n	5.70 ± 0.89	7.34 ± 0.94
FOLICULOS > 10 mm, n	1.00 ± 0.43 ^c	2.31 ± 0.46 ^d
EMBRIONES + OVULOS, n	2.51 ± 0.75	3.75 ± 0.77
EMBRIONES, n	2.30 ± 0.64	2.49 ± 0.65
EMBRIONES TRANSFERIBLES, n	1.67 ± 0.47	1.32 ± 0.48

($\bar{X} \pm E.E$)

a, b: Literales distintas por renglón indican diferencias (P < .01)

c, d: Literales distintas por renglón indican diferencias (P < .05)

Bos indicus a las gonadotropinas exógenas (Massey y Oden, 1984) ².

El Cuadro 4, presenta la información concerniente al efecto de época sobre las variables dependientes en estudio, no se observan diferencias entre las dos épocas que se definieron. Al respecto, la literatura indica que aunque el ganado europeo, principalmente el lechero sí es afectado estacionalmente en cuanto a su respuesta a la superovulación, por condiciones extremas de calor o frío ^{1, 24, 23, 31}, el ganado cebú, explotado bajo condiciones tropicales, no muestra efecto estacional de la respuesta ovárica a la superovulación ^{3, 15} ignorándose qué tanto podría verse afectada ésta, si este ganado es sometido a condiciones climáticas muy extremas.

El Cuadro 5, muestra los resultados obtenidos, al comparar vacas jóvenes contra vacas viejas. Se observan diferencias en favor de los animales jóvenes en lo referente a volumen ovárico postratamiento ($P < .01$) y número de folículos mayores de 10 mm ($P < .05$), no observándose diferencias en las demás variables. Diferentes autores han

estudiado el efecto de la edad de la donadora sobre la respuesta a la superovulación, encontrando resultados diversos, pero en general observando que la vaca al llegar a una cierta edad, va perdiendo su capacidad de respuesta, tanto en el número como en la calidad de los embriones ^{14, 17, 12}. En el presente trabajo, la edad no tuvo efecto sobre la respuesta a la superovulación en las variables de colección; posiblemente si lo hubiera habido, si se reducen los rangos de edad comparados; sin embargo esto no se pudo hacer por el reducido número de observaciones.

Se obtuvo el índice de constancia para las variables de respuesta volumen ovárico postratamiento, número de cuerpos lúteos, número de embriones óvulos y número de embriones totales, en aquellas vacas que recibieron más de un tratamiento superovulatorio; los resultados se muestran en el cuadro 6. Se observa que solo para la variable volumen ovárico postratamiento se obtuvieron valores altos de índice de constancia; en cambio, para las variables de colección, dicho índice fue bajo, los datos

CUADRO 4. EFECTO DE EPOCAS SOBRE VOLUMEN OVARICO, CUERPOS LUTEOS, FOLICULOS, EMBRIONES + OVULOS, EMBRIONES Y EMBRIONES TRANSFERIBLES.

	E P O C A	
	SECAS	LLUVIAS
n	32	17
VOLUMEN OVARICO, cm ³	230.67 ± 40.99	260.75 ± 46.39
CUERPOS LUTEOS, n	6.88 ± 0.86	6.16 ± 0.96
FOLICULOS > 10 mm, n	1.36 ± 0.42	1.95 ± 0.47
EMBRIONES + OVULOS, n	3.01 ± 0.73	3.25 ± 0.79
EMBRIONES, n	2.56 ± 0.62	2.23 ± 0.67
EMBRIONES TRANSFERIBLES, n	1.40 ± 0.45	1.60 ± 0.49

($\bar{X} \pm E.E$)

($P > .05$)

CUADRO 5. EFECTO DE EDAD DE LA VACA SOBRE VOLUMEN OVARICO, CUERPOS LUTEOS, FOLICULOS, EMBRIONES + OVULOS, EMBRIONES Y EMBRIONES TRANSFERIBLES.

	E D A D	
	4-9 AÑOS	10-14 AÑOS
n	18	31
VOLUMEN OVARICO, cm ³	334.23 ± 46.97 ^a	157.19 ± 40.31 ^b
CUERPOS LUTEOS, n	6.51 ± 1.00	6.53 ± 0.83
FOLICULOS > 10 mm, n	2.31 ± 0.49 ^c	1.00 ± 0.40 ^d
EMBRIONES + OVULOS, n	3.24 ± 0.85	3.01 ± 0.66
EMBRIONES, n	2.02 ± 0.72	2.76 ± 0.56
EMBRIONES TRANSFERIBLES, n	1.11 ± 0.53	1.89 ± 0.41

($\bar{X} \pm E.E$)

a, b: Literales distintas por renglón indican diferencias (P < .01)

c, d: Literales distintas por renglón indican diferencias (P < .05)

CUADRO 6. INDICES DE CONSTANCIA PARA LAS VARIABLES DEPENDIENTES VOLUMEN OVARICO POSTRATAMIENTO, CUERPOS LUTEOS, EMBRIONES + OVULOS Y EMBRIONES.

	VOP	CL	E + O	E
n	32	32	31	31
IC	0.32 ± 0.21	0.17 ± 0.22	0	0

aquí obtenidos, son similares a los informados por otros autores; Lamberson y Lambeth¹⁶, trabajando con ganado brangus, encontraron valores de Índice de Constancia, de 0.22 ± 0.08 para embriones más óvulos y de 0.19 ± 0.08 para embriones transferibles; Bastidas y Randel², trabajando con vacas *Bos indicus*, señalan valores de índice de constancia de 0.17 ± 0.03 , 0.11 ± 0.03 , 0.10 ± 0.03 , 0.10 ± 0.03 , 0.03 ± 0.03 , 0.11 ± 0.04 y 0.18 ± 0.03 , para las variables, embriones más óvulos, embriones blastoci-

tos, mórulas, embriones transferibles y óvulos no fertilizados, respectivamente. En ambos trabajos se concluyó, que con los valores encontrados, no es posible predecir a partir de la respuesta inicial al tratamiento de superovulación el comportamiento subsecuente de un animal a posteriores tratamientos. En cuanto a la información obtenida en el presente trabajo, aunque el valor del índice de constancia para la variable volumen ovárico postratamiento fue alto, en las restantes variables fue bajo lo que corro-

bora las observaciones de los autores anteriormente citados.

CONCLUSIONES.

- 1) Bajo el diseño que se utilizó en las condiciones en que se hizo este trabajo, no se observó diferencia en usar 18 ó 24 mg de FSH-P para superovular vacas cebú.
- 2) No se observó efecto al comparar la época de secas (enero-junio) con la de lluvias (julio-octubre) en cuanto a la respuesta a la superovulación en vacas cebú.
- 3) Las edades comparadas (4 a 9 años) contra (10-14 años) no tuvieron efecto sobre la respuesta a la superovulación en vacas cebú.
- 4) Aún cuando se obtuvieron valores elevados de índice de constancia para la variable volúmen ovárico, en las demás variables de respuesta, éste fue bajo o nulo, por tanto, bajo las condiciones en que se realizó el presente estudio no se puede afirmar que la respuesta ovárica en una primera superovulación en vacas cebú, sea un buen predictor de la capacidad individual para responder a tratamiento sucesivos.

SUMMARY.

To determine the effects of FSH total dosis, age of cows, superovulatory treatment application in different season, and to calculate the repeatability of ovary response to FSH treatment, an experiment was conducted with 30 zebu cows. To evaluate the effect of doses (18, 24 mg), of application of treatment the dry or wet season, and cows-age (4 to 9 or 10 to 14 years) a factorial 2x2x2 design was used. The following variables were measured: ovarian volume after treatment, number of corpora lutea, follicles, embryos plus ovules, total embryos and transferable embryos. The repeatability of ovarian response was determined using information from cows that were superovulated more than once. It was found a statistically significant effect of doses of FSH and age of cow on ovarian volume after treatment ($P < 0.01$) and on number of follicles ($P < 0.05$). The response to 24 mg dosis was better than 18 mg, and young cows had better response than old ones; moreover, was also observed significant effect ($P < .05$) in the interaction dosis x age for ovarian volume after treatment. The repeatability for

ovarian response estimated for cows that superovulated two or three time were: ovarian volume after treatment: 0.32 ± 0.21 , number of CL: 0.17 ± 0.22 , number of embryos plus ovules: 0. and number of embryos: 0. Those values indicate that it is not possible to assert that a zebu cow initial response to a superovulatory treatment is a good predictor for the responses in subsequent treatments.

LITERATURA CITADA.

1. ALMEIDA, A.P. 1987. Seasonal variations in the superovulatory responses to PMSG in dairy cows. *Theriogenology* 27:204 (Abstr.).
2. BASTIDAS, P. and RANDEL R.D. 1987. Effects of repeated superovulation and flushing on reproductive performance of *Bos indicus* cows. *Theriogenology* 28:287.
3. BASTIDAS, P. and RANDEL R.D. 1987. Seasonal effects on embryo transfer results in brahman cows. *Theriogenology* 28:531
4. BECKER, W.A. 1975. Manual of quantitative genetics 3ed. Ed. *Washington State University*. Pullman, Washington. pp. 23.
5. BECKER, W.A.P. and PINHEIRO, L.E.L. 1986. Ovarian responses to superovulation in nelore cows. *Theriogenology* 27:785.
6. CHUPIN, D. and PROCUREUR R., 1983. Efficiency of pituitary extracts (FSH) for induction of superovulation in cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 6:11.
7. CORDOBA S, L.A. 1986. Respuesta ovárica a la superovulación con Hormona Foliculo estimulante (FSH) en ganado cebú. Tesis de maestría. *FESC-UNAM*, Cuautitlán, Méx.
8. DINAR, M.A., DISKIN, G., DONAGHT, Mc and SREENAN, M. 1987. Oestrous and ovarian responses in repeatedly superovulated cows. *Theriogenology* 27:201 (Abstr.).
9. DONALDSON, L.E., 1984. Dose of FSH-P as a source of variation in embryo production from superovulated cows. *Theriogenology* 22:205.
10. ELSDEN, R.P., HASLER J.F. and SEIDEL G.E. 1976. Non surgical recovery of bovine eggs. *Theriogenology* 6:523.
11. ELSDEN, R.O. and KESSLER M. 1983. Superovulation of nelore cows and heifer. *Theriogenology* 19:127 (Abstr.).
12. GARCIA-WINDER, M., LEWIS, P.E., BRYNER, R.W., BAKER, R.D., INSKEEP, E.K. and BUTCHER R.L. 1988. Effect of age and norgestomet on endocrine

parameters and production of embryos in superovulated beef cows. *J. Anim. Sci.* 66:1974.

13. HELWING, J.T. and COUNCIL K.A., 1979. SAS User's guide SAS Institute Inc. Raleigh, N.C.

14. HASLER, J.F., CAULEY, A.D. Mc., SCHERE MERHORN C. and FOOTE R.M. 1983. Superovulatory responses of holstein cows. *Theriogenology* 19:83.

15. JORDT, T. and LORENZINI E. 1988. Superovulation, collection and transfer of embryos and demi-embryos from boran (*Bos indicus*) cows and heifers. *Theriogenology* 30:355.

16. LAMBERSON, N.R. and LAMBETH, V.A. 1986. Repeatability of response to superovulation in brangus cows. *Theriogenology* 23:643.

17. LERNER, S.O., THAYNE, V., BAKER, D., HENSCHEN, T., MEREDITH, S., INSKEEP, K., DAILEYM, A., LEWIS, E., and BUTCHER 1986. Age, dose of FSH and other factors affecting superovulation in holstein cows. *J. Anim. Sci.* 63:176.

18. LINDNER, G.M. and WRIGHT, W. 1983. Bovine embryo morphology and evaluation. *Theriogenology* 20:4.

19. LUBBADEH, W.F., GRAVES, C.N. and SPAHR, S.L. 1980. Effect of repeated superovulation on ovulatory response of dairy cows. *J. Anim. Sci.* 50:124.

20. MAPLETOFT, R.J. 1985. Embryo transfer in the cows. General procedures. *Rev. Sci. Tech. off. int. epiz.* 4:843.

21- MURPHY, D.B., MAPLETOFT, R.J. MANNS J. and HUMPHREY W.D., 1984. Variability in gonadotrophin preparations as a factor in the superovulatory response. *Theriogenology* 21:117.

22. MONNIAUX, D., CHUPIN D. and SAUMANDE J. 1983. Superovulatory responses of cattle. *Theriogenology* 19:55.

23. PAGE, R.D., JORDAN J.E. and JOHNSON S.K.

1989. Superovulation of holstein heifers under heat stress with FSH-P of follitropin. *Theriogenology* 31:236 (Abstr.)

24. PAULYSHYN, V., LINDSELL E., BRAITHWAITE M. and MAPLETOFT R.J. 1986. Superovulation of beef cows with FSH-P: A dose-response trial. *Theriogenology* 25:179 (Abstr.)

25. PUTNEY, D.J., THATCHER, W.W., DROST, M., WRIGHT, J.M. and LORENZO, M.L.de, 1988. Influence of environmental temperature on reproductive performance on bovine embryo donors and recipients in the south est region of the United States. *Theriogenology* 30:905.

26. RAJAMAHENDAN, R. CANSECO, S. DENBOW, J. GWAZDAVSKAS, C. and VISON, E., 1987. Effect of low dose of FSH given at the beginning of the estrous cycle and subsequent superovulatory response in holstein cow. *Theriogenology* 28:59.

27. ROMERO, A.A. 1985. Introducción a la transferencia de embriones. en: transferencia de embriones en el ganado bovino, Mem. FMVZ-UNAM. México, D.F.

28. STAIGMILLER, R.B. 1982. Folliculogenesis in the bovine. *Theriogenology* 17:43.

29. TAMAYO, J.L. 1962. Geografía general de México, 2a. Ed. Inst. Nal. de Invest. Eco. 148.

30. TELLEZ-GIRON, P. ASPRON, M.A. y ARRIOLA J.B., 1984. Superovulación y transferencia de embriones en ganado cebú-brahman: resultados preliminares. *Mem. Rev. Inv. Pec. México*, D.F. pp. 311

31. TOUATI, K., VAN DER ZWALEM, P., ECTOR, F.J., BECKERS, J.F. and ECTORS F. 1989 Low dose of FSH early in estrous cycle enhances superovulatory response in heifers. *Theriogenology* 31:269.

32. WUBISHET, A., GRAVES, C.N., SPAHR, S.L., KESLER, P.J. and FAVERO, H.J. 1987. Effect of Gn Rh treatment on superovulatory responses of dairy cows. *Theriogenology* 25:423.