



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE
SAN NICOLÁS DE HIDALGO**

**FACULTAD DE MEDICINA
VETERINARIA Y ZOOTECNIA**



SUPEROVULACIÓN Y TRANSFERENCIA DE EMBRIONES EN BOVINOS

SERVICIO PROFESIONAL QUE PRESENTA:

PRISILIANO REYES ARGUELLO

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

ASESORES:

DR. JOSÉ HERRERA CAMACHO

DR. FEDERICO ESCOBEDO AMEZCUA

Tarímbaro, Michoacán; Julio, 2010



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE
SAN NICOLÁS DE HIDALGO**

**FACULTAD DE MEDICINA
VETERINARIA Y ZOOTECNIA**



SUPEROVULACIÓN Y TRANSFERENCIA DE EMBRIONES EN BOVINOS

SERVICIO PROFESIONAL QUE PRESENTA:

PRISILIANO REYES ARGUELLO

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Tarímbaro, Michoacán; Julio, 2010

DEDICATORIA

A DIOS

Por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado salud para lograr mis objetivos, además de su infinita bondad y amor.

A MIS PADRES

Por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien y por los ejemplos de perseverancia y constancia que los caracterizan y que me ha infundado siempre, por el valor mostrado para salir adelante y por su amor.

A MIS MAESTROS

Gracias por su tiempo, por su apoyo así como por la sabiduría que me transmitieron en el desarrollo de mi formación profesional, en especial: al **DR. JOSÉ HERRERA CAMACHO** por haber guiado el desarrollo de este trabajo y llegar a la culminación del mismo, y por su tiempo compartido e impulsar mi desarrollo profesional, y al **Dr. Federico Escobedo Amezcua** por su apoyo ofrecido en este trabajo.

A la **UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO** y en especial a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia que me dieron la oportunidad de formar parte de ella.

¡Gracias!

ÍNDICE

	PAG
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	2
2.1 RAZA MONTBÉLIARDE	2
2.1.1 HISTORIA	2
2.1.2 ORIGEN	2
2.1.3 EL NACIMIENTO DE LA RAZA MONTBÉLIARDE	3
2.1.4 APTITUDES	4
2.1.5 GENÉTICA Y PRESENCIA	5
2.1.6 SELECCIÓN Y EXTENSIÓN	6
2.1.7 LA ELECCIÓN	7
2.2 RECEPTORAS DE RAZA HOLSTEIN	8
2.2.1 HISTORIA	8
2.2.2 PRODUCCIÓN	9
2.2.3 REPRODUCCIÓN	9
2.2.4 RENTABILIDAD	10
2.2.5 CRUCES	11
2.3 OVULACIÓN MULTIPLE Y TRANSFERENCIA DE EMBRIONES	11
2.3.1 VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE LA TRANSFERENCIA DE EMBRIONES	12
2.3.2 ELECCIÓN DE DONADORAS	12
2.3.3 FERTILIDAD	13
2.3.4 VALOR GENÉTICO	13
2.3.5 REQUISITOS PARA LA SELECCIÓN DE LA VACA DONADORA	13
2.3.6 COMERCIALIZACIÓN	14
2.3.7 SANIDAD	14
2.3.8 SELECCIÓN DE RECEPTORAS	14
2.3.9 FACTORES IMPORTANTES EN LA SELECCIÓN Y MANEJO DE RECEPTORAS	15
2.3.10 EDAD DE LAS RECEPTORAS	16
2.3.11 SINCRONIZACIÓN DE CELOS ENTRE DONADORAS Y RECEPTORAS	17
2.3.12 SINCRONIZACIÓN DE RECEPTORAS	18
2.3.13 SUPEROVULACIÓN	18
2.3.14 SERVICIO DE DONADORAS	21
2.3.15 COLECTA DE EMBRIONES	23
2.3.16 BUSQUEDA, AISLAMIENTO Y MANIPULACIÓN DE EMBRIONES	26
2.3.17 CLASIFICACIÓN DE EMBRIONES	27
2.3.18 PREPARACIÓN DE LA PAJILLA	34
2.3.19 TRANSFERENCIA DE EMBRIONES	35

2.3.20 RECEPTORAS QUE PUEDEN SER ÚTILES PARA RECIBIR UN EMBRIÓN	37
2.3.21 TRATAMIENTO DE DONADORAS DESPUES DE LA COLECTA	38
2.3.22 DIAGNOSTICO DE GESTACIÓN EN RECEPTORAS	39
2.3.23 DETERMINANTES DEL PROGRESO DE LA GESTACIÓN	39
2.3.24 FACTORES QUE INFLUENCIAN LA DURACIÓN DE LA GESTACIÓN	39
2.3.25 DIAGNOSTICO DE GESTACIÓN	40
3. METODOLOGÍA	47
3.1 ÁREA DE ESTUDIO	47
3.2 SELECCIÓN DE ANIMALES	47
3.3 SINCRONIZACIÓN DE CELOS	47
3.4 SUPEROVULACIÓN EN DONADORAS	48
3.5 INSEMINACIÓN ARTIFICIAL DE DONADORAS	49
3.6 LAVADO Y COLECTA DE EMBRIONES	49
3.7 BÚSQUEDA DE EMBRIONES	50
4. RESULTADOS	51
5. DISCUSIÓN	52
6. BIBLIOGRAFIA	60

ÍNDICE DE FIGURAS

	PAG
FIGURA 1. OVARIO DE VACA SOMETIDA A TRATAMIENTO DE SUPEROVULACIÓN	20
FIGURA 2. ANESTESIA EPIDURAL DE XILOCAÍNA AL 2%.	24
FIGURA 3. FILTRO COLECTOR DE EMBRIONES	26
FIGURA 4. EMBRIÓN EN DESARROLLO 1) ZONA PELÚCIDA;2) MASA CELULAR Y 3) ESPACIO PERIVITELINO	29
FIGURA 5. MÓRULA (ESTADO 4)	30
FIGURA 6. BLASTOCISTO. NÓTESE LA CAVIDAD Y EL FLUIDO (1)	30
FIGURA 7. BLASTOCISTO EXPANDIDO. NÓTESE EL ADELGAZAMIENTO DE LA ZONA PELÚCIDA	31
FIGURA 8. 1. MÓRULA COMPACTA; 2. INFERTILIZADOS; 3. MÓRULAS TEMPRANAS; 4. INFERTILIZADO	32
FIGURA 9. PREPARACIÓN DE LA PAJILLA	35
FIGURA 10. PAJILLA CON EL EMBRIÓN LISTO PARA TRANSFERIRSE	37
FIGURA 11. LAVADO Y COLECTA DE EMBRIONES	49
FIGURA 12. BÚSQUEDA DE EMBRIONES EN UN ESTEREOMICROSCOPIO EN MAGNIFICACIÓN 10-15X	50

ÍNDICE DE CUADROS

	PAG
CUADRO 1. CRONOGRAMA DE SUPEROVULACIÓN E INSEMINACIÓN EN HEMBRAS DONADORAS	48
CUADRO 2. NÚMERO DE CUERPOS LUTEOS COLECTADOS	51
CUADRO 3. DOSIS DE FSH EN GANADO ADULTO <i>Bos taurus</i>	53
CUADRO 4. DOSIS DE FSH EN GANADO DE HIPERSENSIBILIDAD	53
CUADRO 5. DOSIS DE FOLLITROPIN PARA DIFERENTES RAZAS, PESOS Y EDADES EN GANADO BOVINO	55
CUADRO 6. TRATAMIENTOS SUPEROVULATORIOS TRADICIONALES	55
CUADRO 7. TRATAMIENTO TRADICIONAL DE SUPEROVULACIÓN CON DISPOSITIVOS DE LIBERACIÓN DE PROGESTERONA Y 17B ESTRADIOL O BENZOATO DE ESTRADIOL (PROTOCOLO AMERICANO)	56
CUADRO 8. PROTOCOLO BRASILEIRO PARA SUPEROVULACIÓN EN GANADO BOVINO.	57
CUADRO 9. PROTOCOLO COMBO PARA SUPEROVULACIÓN EN GANADO BOVINO	58

1. INTRODUCCIÓN

La Transferencia de Embriones (TE) era ya una realidad a principios de los años 70's, cuando la Recuperación de Embriones como la Transferencia era en forma quirúrgica y por lo mismo era imposible aplicarla en México, por los altos costos del equipo y del personal.

La Transferencia de Embriones, tiene más de 100 años de antigüedad ya que en 1980 se realizó la primera T.E. en conejos; en bovinos se obtuvo la primer cría hace más de 50 años (1951), pero su uso comercial empezó entre los años (1975-1976); al principio todo fue de forma quirúrgica.

La transferencia de embriones al igual que la inseminación artificial son técnicas para la manipulación genética.

La principal ventaja de la transferencia de embriones es aumentar la capacidad reproductiva de una hembra de alto valor genético, otra ventaja de ésta técnica es que puede reducir considerablemente el intervalo entre generaciones.

La técnica involucra un número de pasos simples, pero que requieren de personal bien entrenado y una gran atención de cada uno de los detalles de ésta.

2. ANTECEDENTES

2.1. RAZA MONTBÉLIARDE

2.1.1 HISTORIA

La raza Montbéliarde se conoce por primera vez en 1872, cuando Joseph Graber, ganadero de couthenans, expuso bajo esta denominación un lote de vacas seleccionadas en el concurso agrícola de Langres. El reconocimiento oficial, llegó solamente en 1889, gracias a la acción aunada de los ganaderos y de las notabilidades de la región de Montbéliarde. Un siglo después, la raza Montbéliarde constituye la casi totalidad de la población bovina de Franche - Comté. También se encuentra sólidamente establecida en todo el este, sudeste y centro de Francia. Incluso ha constituido núcleos importantes en el sudoeste y el oeste se exporta a todo el mundo y en este concepto, ella presenta uno de los florecimientos de la ganadería francesa. Su peso en la economía del Franco Condado es considerable, puesto a que se encuentra a la base de los ingresos de las explotaciones agrícolas de esta región (<http://www.elevage-francais.com/es/Bd.asp?Id=15>).

2.1.2 ORIGEN

La raza Montbéliarde pertenece al tronco de las Berrendas en colorado continentales europeas de tipo jurásico. Su zona de origen está situada en el Franco – Condado, sobre las altas mesetas jurásicas. Allí el clima es de tipo continental, con cambios bruscos de temperatura. La ganadería conlleva una alternancia entre un largo periodo de estabulación invernal, de 5 a 7 meses,

durante el cual la alimentación se basa en forrajes secos, y un periodo de pastoreo de estiaje. La leche se transforma en su mayor parte en queso de marca (<http://www.elevage-francais.com/es/Bd.asp?Id=15>).

2.1.3 EL NACIMIENTO DE LA RAZA MONTBÉLIARDE

Esta población bovina había participado en concursos anteriores a 1870 con el nombre de raza Franco – Suiza. Fue en 1872, como ya lo hemos dicho, cuando se utilizó la denominación de < raza Montbéliarde > por primera vez. Con este nombre se había presentado un lote por círculo agrícola de Montbéliarde en la exposición universal de París en el año 1889.

Fue reconocido en el mismo año y el Herd – Book se creaba el 2 diciembre de 1889. Entre las personalidades que desempeñaron un papel importante en el reconocimiento de la raza cabe mencionar a Gustave CUVIER, presidente del círculo de Montbéliarde; M. BOULLAND, veterinario de Montbéliarde, vicepresidente del círculo, y que será el primer presidente del Herd – Book, M. VASSILIERE, inspector general de la agricultura y Jules VIETTE, diputado de Montbéliarde y ministro de la agricultura en 1889 (<http://www.elevage-francais.com/es/Bd.asp?Id=15>).

La imagen de la Montbéliarde iba a imponerse rápidamente en su identidad y originalidad. La orientación lechera ha permitido asegurar el abastecimiento de consorcios de queseros que se han desarrollado después de 1900 hasta en las zonas de planicie y, han proporcionado salidas

importantes para el suministro de animales a los lecheros del Midi de la France (<http://www.elevage-francais.com/es/Bd.asp?Id=15>).

2.1.4 APTITUDES

La Montbéliarde se sitúa en primer plano por sus cualidades de cría o, dicho de otra forma, por sus caracteres funcionales:

- Su resistencia a la mastitis (conteos celulares muy bajos).
- Su fertilidad (buen porcentaje de éxito en inseminación artificial).

Resultados convincentes en Francia y el extranjero. En Irlanda, en la granja de Moorepark se obtuvieron en 1998, 61% de éxitos en la inseminación artificial con un solo servicio contra 50, 43, 32% en 1998 para las otras razas, mantenidas bajo las mismas condiciones de explotación.

- Su longevidad (24% de vacas en 5ta lactación y más). La Montbéliarde ha hecho sus pruebas en la ganadería francesa. 200 vacas han producido ya más de 100 toneladas de leche hasta hoy, 50% más de vacas a partir de la quinta lactación
- Su facilidad de parto (25% de cruzamiento con Charoláis, sin problema de parto), hacen de ella una raza fácil de manejar, rustica y notable por su adaptación a todos los medios.
- Con la lactancia de 317 días.
- Excelente crecimiento y excelentes canales. Peso a los 10 meses, 420 Kg.
- Peso de los toros adultos: 900 a 1200 Kg.
- Peso de las vacas adultas: 600 a 700 Kg.
- Alzada a la cruz de las vacas adultas: 145 cm.

La Montbéliarde posee también innegables aptitudes cárnicas, su buena velocidad de crecimiento y su correcta conformación hace de los terneros y becerros de abasto animales muy apreciados, las vacas de desecho también rinden canales de buena calidad sin exceso de grasa. Además, la Montbéliarde es muy rústica y se adapta bien a los climas duros, resistente bien al calor y consume grandes cantidades de forrajes bastos, lo que le permite mantener sus rendimientos cuando se explota en zonas muchas más cálidas (<http://www.coopex.com/les-raisons-du-succes-es.php>).

2.1.5 GENÉTICA Y PRESENCIA

Actualmente, en Francia se está trabajando en programas de selección que buscan mejorar la producción de leche con fuerte énfasis en sólidos especialmente proteína, manteniendo las características de aptitud cárnica como raza doble propósito, sin descuidar el mejoramiento de aspectos de tipo como ubre, patas y conformación.

El veterinario Julio Guerra en 1983, explicó que “todo este trabajo a permitido que la raza Montbéliarde esté presente en los 5 continentes y en más de 50 países, imponiéndose como alternativa a las razas lecheras especializadas, y explotadas tanto en raza pura como en cruzamientos con razas locales”. Características relevantes con su facilidad de adaptación a diferentes condiciones climáticas, manejo y alimentación con especial valorización de los forrajes. Resistencia a mastitis, fertilidad y longevidad son también factores que avalan las bondades de la raza.

“Actualmente, la raza experimenta una creciente demanda para cruzar sobre rebaños Holstein en países como Irlanda, Israel, Holanda, Canadá y Estados Unidos. “Cada la gran variabilidad de sistemas productivos en el sur de Chile pueden tener cabida distintos tipos bovinos lecheros”, asegura el veterinario Julio Guerra, 1983.

“La elección de determinada raza para la producción de leche o carne, estará influenciada por sus características zootécnicas, clima, suelo, objetivos productivos, factores económicos y de mercado, sistema de manejo, base forrajera y alimentación, características específicas de cada predio, gestión, infraestructura y también por factores subjetivos como la afinidad de cada productor por alguna raza en especial”, asegura el profesional (<http://www.australosorno.cl/site/edic/20030323093758/pags/20030323094619.html>).

2.1.6 SELECCIÓN Y EXTENSIÓN

El programa de selección tiende principalmente a mejorar las actitudes lecheras (la cantidad y calidad de la leche, facilidad de ordeña) y al mantenimiento de las actitudes cárnicas (crecimiento, conformación) y de cría (rusticidad). Este programa comprende 3 fases: acoplamientos razonados, control individual de los años en estación y control de descendencia en finca sobre las novillas (por la producción lechera, en ordeño y la conformación). Cada año se evalúan 150 toros de raza Montbéliarde en Francia, la Montbéliarde cuenta con 700 000 vacas lecheras, se desarrolla en muchas regiones y sus efectivos están en progresivo aumento.

La raza Montbéliarde representa, en el ceno del tronco berrendo en colorado Simental, el tipo lechero más acentuado. A este efecto se exporta hacia todos los países de Europa Central y del Este, para mejorar sus correspondientes razas berrendas en colorado especialmente en Italia, Austria, República Checa. Además sus cualidades de producción y adaptación hacen que sea muy solicitada en África del Norte (Marruecos, Argelia) donde se exporta desde hace muchos años, así como en varios países de la Cuenca Mediterránea, de Oriente Medio, del África Negra, de América del Norte y del Sur (<http://www.elevage-francais.com/es/Bd.asp?Id=15>).

2.1.7 LA ELECCIÓN

La idea de cambiar la genética de su masa nació del análisis que indica que la Holstein es una raza especializada en leche que requiere de muchos cuidados. “Uno no puede escatimar en lo referido a la alimentación, lo que obviamente genera más gastos. La raza Montbéliarde, a pesar de ser doble propósito, ha demostrado que con concentrados es capaz de alcanzar también un muy alto rendimiento lechero. Es decir, es este sentido, resulta un ganado mucho más dúctil, que permite adaptarse a la necesidad de ese mercado”. (<http://www.australosorno.cl/site/edic/20030323093758/pags/20030323094619.html>).

2.2 RECEPTORAS DE RAZA HOLSTEIN

2.2.1 HISTORIA

La raza Holstein tiene como sus ancestros más remotos los animales negros de los bávaros y los blancos de los frisonos, tribus que hace cerca de 2.000 años se ubicaron en el delta del Rin.

Por sus características únicas de color, fortaleza y producción, la Holstein empezó a diferenciarse de las demás razas, y pronto comenzó a expandirse por otros países, empezando por Alemania, y desde hace 300 años está consolidada en lugar de privilegio en el hato mundial por su producción y su adaptación a diferentes climas.

La historia atribuye a Winthrop Chenery, un criador de Massachussets, la introducción de la raza a tierras americanas, al haberle comprado en 1852 al capitán de un barco que atracó en Boston, la primera vaca Holandesa, con cuya leche la tripulación del navío se alimentaba durante la travesía desde Europa.

El entusiasmo y la acogida de los ganaderos hacia los animales Holstein fueron totales que en 1861 ya pastaban en las praderas de Estados Unidos 8.000 ejemplares. De ese pie de cría descenden lo más de 8.5 millones de cabezas registradas en ese país.

2.2.2 PRODUCCIÓN

Aunque desde sus orígenes la Holstein se ha distinguido por su sobresaliente producción de leche, en virtud de la permanente selección para buscar acentuar aquellos rasgos que determinan una mayor producción lechera, se ha ido especializando cada día más.

Se ha llegado hasta el punto que la actual campeona mundial es un ejemplar de esta raza, con una producción de 27445 Kg en 365 días. En Colombia, la mayor producción la ha logrado una Holstein, con 17.610 Kilos en 305 días.

2.2.3 REPRODUCCIÓN

Dicha selección se ha dirigido igualmente hacia la definición de una conformación en la que la reproducción sea también una característica importante de la raza.

Así, se está trabajando para que el anca del animal tenga una ligera inclinación y sea más amplia con el objeto de que el parto y el posparto sean más fáciles.

2.2.4 RENTABILIDAD

La rentabilidad es, sin duda, uno de los aspectos que más preocupa hoy al ganadero. Frente a una competencia interna y externa cada día más fuerte y agresiva, resulta fundamental ser eficiente y competitivo.

Como la rentabilidad tiene relación directa con la eficiencia, entonces el objetivo obvio debe ser aumentar la productividad, que se obtiene mediante mayor producción a menor costo. Característica principal de la raza Holstein son los altos volúmenes de producción, que le permiten ser la más lechera del mundo.

Si los costos fijos -mano de obra, equipos, instalaciones, y otros- son semejantes en las explotaciones lecheras, es claro que el factor determinante de la rentabilidad, y por consiguiente, de las utilidades, es el volumen de producción. Es fácil deducir y entender, entonces, que la Holstein es la raza más rentable, y por lo tanto, la más difundida en el mundo. Ello es tan cierto que en algunos países desarrollados la Holstein alcanza hasta 95% de la población total de vacas dedicadas a la producción lechera.

2.2.5 CRUCES

El pie de cría de las lecherías tropicales en Colombia lo constituye un ganado con alto porcentaje de sangre cebú. Se caracteriza por su total adaptación al medio, rusticidad y muy bajo potencial lechero.

Esta última condición se mejora considerablemente mediante el cruzamiento con razas *Bos taurus* especializadas como la Holstein.

El ganado media sangre Holstein x cebú no tiene problemas de adaptación a climas cálidos; es de buena producción cuando las hembras se han seleccionado por su potencial lechero. Experimentalmente se han obtenido rendimientos de 1.400 Kilos por lactancia, y peso promedio de sus crías al destete de 164 Kg.

Presenta su primer parto a una edad adecuada, y el periodo interparto es bastante aceptable, situándose alrededor de 15 meses (<http://www.unaga.org.co/asociados/holstein.htm>).

2.3 OVULACIÓN MULTIPLE Y TRANSFERENCIA DE EMBRIONES

La superovulación y transferencia de embriones se está utilizando para el mejoramiento genético del ganado bovino en una sola camada para los ganaderos, la cual se utilizó con fines experimentales en sus inicios, y se estuvo perfeccionando dicha técnica desde los 60.s hasta finales de los 80.s.

2.3.1 VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE LA TRANSFERENCIA DE EMBRIONES

Ventajas

1. Incrementar la producción de hembras genéticamente superiores.
2. Recuperación genética de animales accidentados, o enfermos permanentes de los que pudieran obtenerse embriones antes de que el animal muera.
4. Diagnóstico, tratamiento y recuperación de las funciones reproductivas de hembras con
5. infertilidad de origen no genético.
6. Control y prevención de enfermedades infecciosas.
7. Importación y exportación.
8. Maximizar el uso de semen de alto valor.
9. Ayudar a la aclimatación de ciertas razas a distintos medio ambientes.

Desventajas

1. Costes operacionales.
2. Coste de las receptoras.
3. Entrenamiento de los técnicos e instalaciones.
4. Falta de predicción de resultados:
 - a) número de embriones transferibles por vaca
 - b) número de gestaciones

(<http://www.buenastareas.com/ensayos/Transferencia-De-Embriones-Bovinos/14227.html>)

2.3.2 ELECCIÓN DE DONADORAS

La selección de donadoras es muy importante, ya que de ello depende el éxito de obtener un mejoramiento genético, sin embargo es muy importante hacer una rigurosa selección para tener la facultad de dar un buen número de embriones viables. Es por esto que la medida de nuestras posibilidades la preselección de los animales futuros a donantes para un programa de Transferencia Embrionaria (TE), deberá ser sistemática y muy estricta en lo que concierne a estatus y calidad de su estado fisiológico con el fin de asegurar respuestas ováricas altas y estables, es por eso necesario que reúnan los siguientes requisitos:

2.3.3 FERTILIDAD

Es muy importante que la donadora sea fértil que por lo menos haya tenido un parto normal, está demostrado que las mejores respuestas de superovulación y calidad de embriones, provienen de aquellas donadoras que son fértiles y tienen un comportamiento normal.

Revisión genital de la donadora: - Revisión estricta en su aparato genital por vía rectal y vaginal.

- Presentar 2 celos normales previos a la superovulación (18 a 23 días).

No es recomendable la programación de vacas donadoras con alteraciones patológicas en los órganos genitales, por que los resultados serán mediocres o negativos (Ávila García J. 2009).

2.3.4 VALOR GENÉTICO

La superioridad genética es indispensable, ya que el propósito básico de T.E., es contribuir a incrementar la progenie de los mejores animales.

2.3.5 REQUISITOS PARA LA SELECCIÓN DE LA VACA DONADORA

- Índice genético: Indica lo que transmite la vaca a la descendencia.
- Pedigree: Antepasados superiores en producción y conformación.
- Producción: Por ejemplo el porcentaje de proteína o grasa.
- Conformación: que sea de una conformación excelente.
- Buen historial reproductivo.

2.3.6 COMERCIALIZACIÓN

El éxito económico depende de la genética utilizada (donadora y semental) y de la habilidad de mercadotecnia y ventas.

2.3.7 SANIDAD

Los medidores serológicos de diagnóstico de enfermedades infecto-contagiosas y transmisibles al hombre (Brucelosis –Tuberculosis), por lo tanto es muy recomendable trabajar con donadoras libres de enfermedades como: brucelosis, leptospirosis, vibriosis, tricomoniasis y, en general, con animales libres de parásitos internos y externos, por lo cual es conveniente llevar a cabo los programas de vacunación y desparasitación, dependiendo de la zona (Ávila, 2009).

2.3.8 SELECCIÓN DE RECEPTORAS

Para la selección de receptoras debemos de considerar diversos factores como son:

- 1) Sanidad: que se encuentren libres de enfermedades contagiosas y vacunadas contra todas las enfermedades que causen aborto, así como otras enfermedades que afecten en la zona.
- 2) Reproductivo: revisión ginecológica rectal y vaginal en el cual solo los animales normales serán escogidos para estos programas. Las vacas viejas y las vacas o novillas repetidoras serán excluidas de este programa.

- 3) Aptitud materna: que sean buenas productoras de leche, así como mantener sano y fuerte un ternero de alto valor genético.
- 4) Estructura pélvica: que sea óptima y amplia para evitar partos difíciles.
- 5) Identificación de receptoras: con aretes de color en ambas orejas o marcado con fuego o nitrógeno líquido en las piernas o costillas, es muy importante su identificación, para tener un mayor control de celos, preñeces y manejo (Ávila García J., Bailón Blanco A. 2009).

2.3.9 FACTORES IMPORTANTES EN LA SELECCIÓN Y MANEJO DE RECEPTORAS.

1. Raza.
2. Biotipo.
3. Funcionalidad y adaptación.
4. Origen.
5. Examen clínico.
6. Número e identificación.
7. Sincronización de celos.
8. Combinación de Transferencia Embrionaria e Inseminación Artificial.

Los factores más importantes que afectan el costo de la T.E. son: el grupo de receptoras, porcentaje de preñez, abortos y pérdidas perinatales por partos distócicos. Para el ganadero el mayor costo de la transferencia embrionaria T.E., es el mantenimiento de receptoras hasta que queden

preñadas. Este es el factor económico más importante de todo el programa; así mismo el número de receptoras implican un capital, ocupan campo y se alimentan.

El porcentaje de preñeces depende en gran parte del manejo y la fertilidad de las receptoras, así como también de la experiencia y la habilidad de los técnicos. La inversión en hormonas, materiales, así como los honorarios profesionales ocupan un menor costo dentro del programa de Transferencia de Embriones (Ávila García J., Bailón Blanco A. 2009).

2.3.10 EDAD DE LAS RECEPTORAS.

Las novillonas o vaquillas vírgenes tienen una gran ventaja, debido a que consumen menos alimento, responden mejor a la sincronización y se obtiene un porcentaje 5 a 10% superior a las vacas adultas, la única desventaja contra las vacas adultas, es que pueden tener mayores problemas durante el parto y menor producción de leche (Ávila García J., Bailón Blanco A. 2009).

2.3.11 SINCRONIZACIÓN DE CELOS ENTRE DONADORAS Y RECEPTORAS.

Para sincronizar los estros entre la donadora y la receptora se pueden utilizar sincronizadores de estro inyectados (prostaglandinas), aplicándose dos veces con intervalo de 11 días, de tal forma que la segunda aplicación se realice un día después de haber empezado a superovular a la donadora. También se pueden emplear sincronizadores en forma de implante, que se colocan subcutáneamente en la oreja de cada receptora 7 días antes de iniciar la superovulación y se retiran dos días después de haberla comenzado. Con cualquiera de estos métodos, las receptoras deben estar en celo al mismo tiempo que la donadora o cuando mucho un día antes o uno después que ella; si manifiestan

el estro en cualquier otro día no será posible utilizarlas para la transferencia.

(<http://www.buenastareas.com/ensayos/Transferencia-De-Embriones-Bovinos/14227.html>)

2.3.12 SINCRONIZACIÓN DE RECEPTORAS.

Es importante que las receptoras estén recibiendo una ración bien balanceada con minerales, que estén en balance energético positivo, con una buena ganancia diaria de peso, desparasitadas y vacunadas contra todas las enfermedades que producen aborto.

Es importante sincronizar el grupo de receptoras para que salga en celo (+/-) 24 horas antes o (+/-) 24 horas después del celo de la donadora. Lo ideal es que salgan a la misma hora que la donadora, sin embargo esto es muy difícil.

Altas preñeces son adquiridas cuando la sincronización es muy exacta. Embriones colectados de una donadora al día 7 de su ciclo, deberán ser transferidos en receptoras del día 6, 7 u 8 de su ciclo, tenemos varias opciones que puede ser a calor natural que coincida con el ciclo de la donadora.

Otra opción es a base de implantes en la oreja conteniendo Norgestomet, combinado con 2 ml de Norgestomet (Valerato de Estradiol) inyectados. Aproximadamente un 80% de los animales implantados demuestran celo 36 horas después de haber removido el implante de la oreja. A los 9 o

10 días de su implante se retiran 48 h antes del celo esperado de la donadora. Algunos tratamientos recomiendan el uso de prostaglandina conjuntamente en el retiro del implante.

Otra elección puede ser el uso de prostaglandinas, con una o doble inyección, con un lapso de 10 a 13 días, aplicado la 2ª inyección – 30 o 48 h antes del celo esperado de la donadora, para que se concentren los celos de las receptoras muy cerca al de las donadoras.

Los resultados de fertilidad, son muy similares entre prostaglandinas y progestágenos (implantes) cuando el porcentaje de los celos observados es bajo, coincide con ciertos inconvenientes como: lluvias, nortes, tormentas y viento, bajo estas condiciones los animales sufren estrés y no manifiestan la conducta estral, así mismo, el propio porcentaje de las receptoras que se llegan a implantar son muy bajos.

Como recomendación final, se sugiere tener el doble de receptoras disponibles, sobre el número de embriones que se van a transferir, para escoger las más aptas y obtener más alto el porcentaje de preñez (Ávila y Bailón, 2009).

2.3.13 SUPEROVULACIÓN

La superovulación (SPO) es la inducción de ovulaciones múltiples mediante el uso de gonadotropinas exógenas. Esta técnica es empleada en el procedimiento de producción y colecta de embriones y sin ella sería imposible llevar a cabo esta práctica de mejoramiento genético.

(<http://jairoserrano.com/2009/01/superoovulacion-en-bovinos/>)

El objetivo principal del tratamiento de superovulación en el ganado bovino es producir el mayor número de ovulaciones, mediante lo cual llevar acabo también inseminaciones artificiales para obtener el máximo número de embriones transferibles que resulten en una alta probabilidad de preñez

(http://www.engormix.com/factores_afectan_superovulacion_bovino_s_articulos_1684_GDC.htm)

El objetivo de la transferencia de embriones es obtener a partir de progenitores de alto mérito genético, el mayor número posible de descendientes utilizando el útero de receptoras de menor valor económico para llevar la gestación a término.

Para lograr dicho objetivo es necesario, en primera instancia, contar con un número elevado de embriones transferibles. A tal fin, debe provocarse en la hembra donante una estimulación ovárica adecuada mediante la administración de gonadotropinas. Esto debe complementarse con un régimen óptimo de inseminación artificial, utilizando semen de muy buena calidad.

(http://www.reprobiotec.com/libro_rojo/capitulo_05.pdf)



Figura 1. Ovario de vaca sometida a tratamiento de superovulación.

El tratamiento de superovulación más efectivo es aquel en el cual se elimina la detección del celo. Para realizar este tratamiento utilizamos un dispositivo liberador de progesterona junto a una progesterona inyectable (P4) y Benzoato de Estradiol (BE). La nueva onda folicular se inicia al día 4 después de aplicado el BE.

FSH-P: hormona folículo estimulante extraída de la pituitaria porcina obtenida de animales de matadero. Esta hormona viene liofilizada y una vez reconstituida debe permanecer bajo refrigeración. Comercialmente podemos encontrar esta hormona con el nombre de: FOLLTROPIN-V.

FOLLTROPIN-V.

El siguiente es el cronograma de Superovulación.

Día 0: Dispositivo liberador + P4 + BE

Día 4 SPO: FSH (mañana) – FSH (tarde)

Día 5 SPO: FSH (mañana) – FSH (tarde)

Día 6 SPO: FSH + PGF2 α (mañana) – FSH + PGF2 α y retirar el dispositivo.

Día 7 SPO: FSH (mañana) – FSH (tarde)

Día 8 Estro: IA + (mañana) – IA (tarde)

Día 9: IA (mañana)

Día 15: Colecta de embriones + PGF2a (<http://jairoserano.com/2009/01/superoovulacion-en-bovinos/>).

eCG (Gonadotropina coriónica equina)

Protocolo de eCG

Día 0: AM (8.00): Insertar PRID sin la cápsula

Día de 1: AM (8.00): inyección IM de 100mg P4 + 5mg E17 β

Día 5: AM (8.00): inyección IM de 1000 UI de eCG

Día 7: AM (8.00): inyección IM de 500 μ g PGF2 α ; PM (20.00): retirar PRID

Día 9: AM (8.00): Detección de celos. PM (20.00): 100 μ g GnRH. Detección de celos

Día 16: Transferecia de embriones
(<http://www.calier.es/pdf/Tasa%20de%20gestacion%20de%20novillas.pdf>)

2.3.14 SERVICIO DE DONADORAS

Normalmente en los programas de transferencia de embriones se emplea la inseminación artificial de la donadora, realizando un servicio a las 12 horas y repitiendo, a las 24 después de detectado el celo, esto es debido a que la ovulación tiene lugar en momentos diferentes en un intervalo de tiempo amplio, si la superovulación se ha inducido con FSH, es conveniente aplicar en el momento de la segunda inseminación una dosis de 3,000 a 5,000 UI de h eCG (gonadotropina

coriónica humana) para reducir el tiempo en el que se suceden las ovulaciones (Vision veterinaria, 2003).

La inseminación artificial se debe realizar con especial atención puesto que la inseminación repetida del animal aumenta el riesgo de contaminación por gérmenes, lo que disminuirá o anularía totalmente el éxito de la transferencia de embriones. También se debe evitar la exploración de los ovarios y de los folículos durante la misma por que producen fácilmente a la ruptura de los folículos preovulatorios y los ovocitos procedentes de ovulaciones provocadas así como inmaduros (García, 1998).

Para la primera inseminación de las donadoras se puede aplicar la llamada “Regla AM-PM”, detectando celos después del amanecer y poco antes del atardecer. Cuando las donadoras son de raza Europea y el celo se detectó en la mañana, la primera inseminación se da ese mismo día en la tarde y la segunda, al día siguiente en la mañana (Asprón, 2001).

Es posible tener éxito con tan sólo dos inseminaciones si se programan dependiendo del comportamiento del animal donante (del comienzo del celo y de su duración), debiéndose llevar a cabo la primera inseminación de 8 a 10 horas después del comienzo del celo y la segunda de 10 a 14 horas después, pero si la donadora aún manifiesta receptividad sexual al momento de la segunda inseminación es recomendable darle una tercera inseminación 10 a 12 horas después (Escurre, 2001).

Para lograr una buena tasa de fertilización y por lo tanto un mayor número de embriones transferibles, deberá emplearse semen de buena calidad biológica, evaluando previamente con base en la concentración y motilidad espermática progresiva del lote del semen utilizado. Los catálogos del sementales de algunas compañías señalan que si el semental es clasificado de baja, mediana o alta fertilidad (determinada mediante pruebas de penetración espermática de óvulos sin zona pelúcida); que no deben emplearse en programas de transferencia de embriones (Asprón, 2004).

2.3.15 COLECTA DE EMBRIONES

El primer paso en la recuperación no quirúrgica es palpar los ovarios vía rectal y estimar el número de cuerpos lúteos. Es muy difícil acatar el número de cuerpos lúteos, sobre todo cuando la donadora está súper estimulada, ovarios del tamaño de una naranja, el mejor estímulo es $\pm$ el tamaño de una mandarina o el tamaño de un huevo de gallina, cuando existen 2-3 cuerpos lúteos por ovario se pueden palpar y predecir el número de embriones que se puede colectar.

Las donadoras se recomienda ayunarlas 12 horas antes de la colecta, para evitar, que estén defecando y contaminando mangueras y sondas.

ANESTESIA EPIDURAL. Es recomendado para este procedimiento, que la cola, el sacro y la zona vulvar, sean lavadas y desinfectadas con yodo-povidona y luego con alcohol al 70% para disminuir el estrés del animal y la presión del esfínter anal sobre el brazo del operador, se aplican de 5 a 7 ml

de xilocaína al 2% en el espacio epidural, así como una dosis de tranquilizante de Promacina, 10 mg intravenosa, ya que la cola esté flácida, es el momento de empezar.



Figura 2. Anestesia Epidural de xilocaína al 2%.

El cérvix uterino, está cerrado, se cateteriza con un dilatador cervical metálico atraumático hasta llegar al cuerpo del útero (bifurcación de los cuernos). Se introduce una sonda Foley de calibres (14-16-18) según el tamaño, la edad de donadoras- 14 para novillas,- 16 para vacas o vaquillas y del número 18 hasta el 20 para vacas muy grandes y de cuernos gruesos, el globo del catéter es inflado con 5 a 12cc de solución salina fisiológica estéril o bien aire, cuando la punta de la sonda, esté a la mitad del cuerno uterino. Algunas veces se encuentra dificultad para pasar el cérvix, sobre todo en novillas de algunas razas. Es necesario hacerlo con todo cuidado y paciencia, es muy importante para no lastimar el cérvix o la mucosa uterina. Un error muy común es súper inflamar el globo del catéter, causando rotura del endometrio, o del útero.

El líquido del lavado, saldrá sanguinolento o se perderá dentro del útero, o caerá en la cavidad abdominal. Se utiliza una manguera estéril larga que está en circuito cerrado, un extremo penetra en el frasco o bolsa, que contiene medio lavado, otro extremo penetra en la sonda Foley y el otro extremo es conectado a un filtro, colector de embriones.

La bolsa o frasco, que contiene 1 o 2 litros de medio de colecta, se coloca a una altura de 80 a 100 cm sobre el nivel de la vaca, para que el líquido pueda penetrar por gravedad.

FILTRO COLECTOR. Al reflujo del líquido que penetra al útero $\pm$ 30 a 80cc de líquido por cada lavado, a la palpación en el útero, es aproximadamente una preñez de 35 a 40 días, se da un ligero masaje al cuerno, que contiene el líquido del lavado, para tratar de desprender los embriones, que están en la mucosa uterina, estos van a caer a un **FILTRO COLECTOR Y CONCENTRADOR** de embriones, este filtro posee una malla de 70 micras y retiene embriones ya que estos miden de 140 a 160 micras (Ávila García J., Bailón Blanco A. 2009).



Figura 3. Filtro colector y recuperación de líquido de lavado con embriones.

2.3.16 BUSQUEDA, AISLAMIENTO Y MANIPULACIÓN DE EMBRIONES

Lo primero que se tiene que hacer antes de aislar los embriones es, lavar el filtro con el medio para poder obtener embriones que se pudieran a ver quedado adheridos en la pared de este o en la periferia del recipiente recolector. Para localizar, identificar, aislar, manipular y clasificar embriones y óvulos sin fertilizar se requiere de considerable experiencia. Sin embargo; desde el momento en que los embriones son colectados deben ser manipulados con técnicas estériles y tan pronto como sea posible se deben colocar en el microscopio y lavar 3 veces en el mismo estéril, para posteriormente, ser evaluados, almacenados, congelados o transferidos. Los embriones deben ser aspirados con una pipeta con un pequeño volumen de medio (menos de 2ml), para evitar la contaminación del medio fresco. Los embriones deben ser manejados con mucho cuidado para evitar causarles el mínimo daño (Vanderwall, 2004).

La localización, manipulación y evaluación de los embriones deberá serse lo más rápido posible, los recipientes con la solución resultante del lavado de embriones se mantienen a temperatura ambiente hasta el aislamiento de los mismos. Aunque los embriones son relativamente resistentes a la temperatura, en caso de un descenso de la misma, no se debe superar bajo ningún concepto una temperatura ambiente de menos de 20°C. Los embriones se buscan rápidamente en la caja de Petri de arriba abajo y de derecha a izquierda por lo que es conveniente que tenga la base cuadrículada, ya que facilita el proceso en gran medida, ya que realiza la búsqueda de manera sistemática, cuadro tras cuadro sin perder la orientación en el campo para esto se usa una micropipeta para mover el detritus (partículas producidas por el desgaste de algún tejido) y encontrar embriones ocultos al momento de localizar el embrión, este se toma con una pipeta de Pasteur con 250 a 500u de diámetro y se deposita en una caja de petri de 35 x 10 mm con el embrión se deposita también todo el medio que llena la pipeta (las cajas petri se deben rotular con nombres o números que correspondan al animal de procedencia de manera que no den lugar a confusión) (Vanderwall, 2004).

2.3.17 CLASIFICACIÓN DE EMBRIONES

La clasificación y evaluación de los embriones son sin duda los procedimientos más difíciles para aquellos técnicos y profesionales que comienzan a trabajar con esta biotecnología reproductiva. En realidad no es algo muy complicado pero requiere habilidad y experiencia.

Los embriones se buscan con un estereomicroscopio en magnificación 10-15X. Teniendo el medio en una caja de Petri se pone una placa cuadriculada bajo esta para facilitar la búsqueda y clasificación. Luego de haber encontrado el último embrión se busca una o dos veces más para descartar que alguna futura cría se nos haya quedado en el medio.

Un ovocito mide aproximadamente 150-190 μ m y tiene una zona pelúcida de aproximadamente 12-15 μ m. Este diámetro permanece sin variaciones considerables desde que tiene una célula hasta que se encuentra en fase de blastocito expandido. El técnico puede contar las células del embrión sin dificultad hasta que este tiene 16 células, luego de esto, las células se dividen asincrónicamente e identificarlas se hace un poco difícil. Cuando las células comienzan a adherirse entre ellas y comienzan a perder su forma esférica el embrión recibe el nombre de mórula.

La zona pelúcida se observa como una estructura transparente que rodea a las células. Entre la zona pelúcida y las células existe un espacio llamado espacio perivitelino. Este espacio perivitelino es identificable hasta que el embrión se encuentra en estado de blastocisto.



Figura 4. Embrión en desarrollo 1) Zona pelúcida; 2) Masa celular y 3) Espacio perivitelino.

Los estados de desarrollo del embrión se identifican, después de tener 16 células, de acuerdo al desarrollo morfológico.

Mórula (Estadio 4): Las células (blastómeras) son difíciles de distinguir unas de otras. El embrión tiene aproximadamente 5 días.

Mórula compacta: Las blastómeras se juntan y forman una masa celular sólida. El embrión ocupa aproximadamente un 60% del espacio perivitelino.



Figura 5. Mórula (Estado 4)

Blastocito temprano (Estadio 5): Presenta una cavidad en donde se encuentra un fluido llamado **blastócele**. El embrión ocupa el 70-80% del espacio perivitelino. Se puede diferenciar el trofoblasto y el macizo celular interno. Luego de esta etapa viene el **Blastocito** (Estadio 6) propiamente dicho. La única diferencia entre estos dos estados es básicamente el tamaño de la cavidad.



Figura 6. Blastocito. Nótese la cavidad y el fluido (1).

Blastocito expandido (Estadio 7): El diámetro aumenta hasta en un 150%. La zona pelúcida se adelgaza hasta un 66% con respecto al grosor que tenía en el Estado 4. Estos embriones tienen una edad estimada de 8 a 9 días.



Figura 7. Blastocito expandido. Nótese el adelgazamiento de la zona pelúcida.

Blastocito eclosionado (Estadio 8): La masa celular puede estar por fuera de la zona pelúcida o en proceso de salir. Luego viene un estado llamado **Blastocito eclosionado expandido** (Estadio 9).

El grado de desarrollo de un embrión se determina por números en donde el número 1 identifica un ovocito sin fertilizar, el número 2 nos identifica un embrión con hasta 16 células (2 a 5 días). El número 3 identifica una mórula temprana y los números del 4 al 9 nos identifican embriones que ya presentaron compactación. En un lavado convencional los embriones son colectados entre los días 6 y 8, o sea entre mórula y blastocito.

En resumen los estadios del embrión son los siguientes:

Estado 1: Infertilizado

Estado 2: de 2 a 16 células

Estado 3: Mórula temprana

Estado 4: Mórula

Estado 5: Blastocito temprano

Estado 6: Blastocito

Estado 7: Blastocito expandido

Estado 8: Blastocito eclosionado

Estado 9: Blastocito eclosionado en expansión

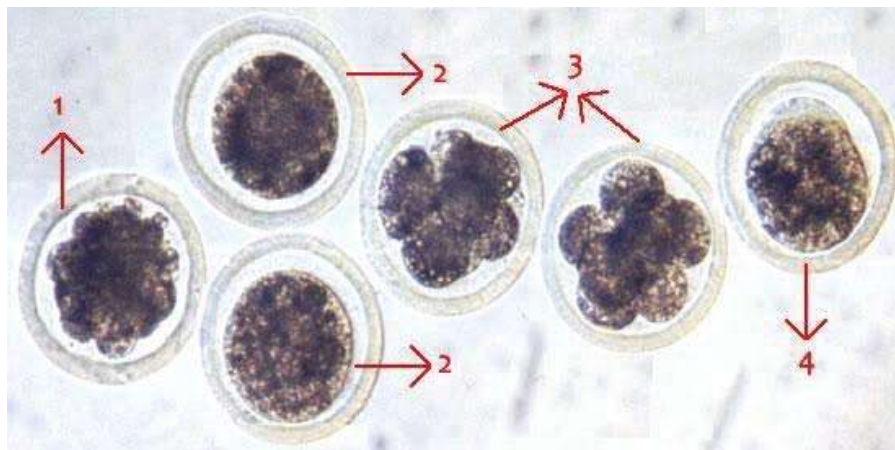


Figura 8. 1. Mórula compacta; 2. Infertilizados; 3. Mórulas tempranas; 4. Infertilizado.

La evaluación la damos de acuerdo a sus características morfológicas. Estas características son subjetivas y pueden variar de un técnico a otro. Las características que debemos tener en cuenta para calificar un embrión son:

1. Forma del embrión
2. Color y textura de la masa celular
3. Diferencia de tamaño entre las blastómeras
4. Número y nivel de compactación de las blastómeras
5. Tamaño del espacio perivitelino
6. Presencia de blastómeras sueltas o separadas
7. Presencia o ausencia de vesículas
8. Forma y estado de la zona pelúcida

Si en la clasificación utilizábamos una escala numérica del 1 al 9 en la calificación vamos a utilizar una escala numérica que va del 1 al 4:

Calidad 1: Embriones excelentes y buenos. Son embriones esféricos, simétricos con células de tamaño, color y texturas uniformes. Puede haber pequeñas imperfecciones como algunas

blastómeras sueltas, tamaño irregular o algunas vesículas. Estos embriones son los ideales para congelar.

Calidad 2: Embriones regulares. Tienen problemas más definidos incluyendo blastómeras sueltas, vesículas o células degeneradas. Estos embriones pueden ser congelados pero se obtendrán resultados bajos. Sin embargo son embriones aceptables para ser transferidos en fresco (de donadora a receptora directamente sin congelación).

Calidad 3: Embriones malos. Numerosas blastómeras sueltas, células degeneradas. Células de distinto tamaño, color y textura, formas irregulares. Numerosas vesículas. No se deben congelar y al ser transferidos en fresco nos dan resultados pobres.

Calidad 4: Muertos o degenerados. Son embriones cuyas blastómeras se encuentran en desorden y sueltas. Hay muchas vesículas. Puede tener un aspecto granular como los infertilizados y tener un crecimiento retardado con respecto a los otros embriones de la colecta. No se congelan ni se transfieren en fresco (<http://jairo serrano.com/2009/12/calificacion-y-clasificacion-embrionaria/>).

2.3.18 PREPARACIÓN DE LA PAJILLA

Se utilizan pajillas de I.A. de 0.25cc, una jeringa de 1cc, se enjuaga la pajilla con medio de implante varias veces, no importa que la pajilla este estéril, es para eliminar cualquier tóxico de la pajilla. Los embriones fueron cargados en la pajueta, primero medio de implante, luego un espacio

de aire, luego medio, aire, medio con embrión, aire y luego medio, hasta que el algodón de la pajilla se humedezca y solidifique el PVC, de esta manera aseguramos que el embrión es expelido de la pajilla (García y Bailón,. 2009).



Figura 9. Preparación de la pajilla.

2.3.19 TRANSFERENCIA DE EMBRIONES

Una transferencia de embriones es una gran técnica que es introducir un embrión de gran valor genético en la etapa de preimplantación en el útero de una hembra que es la receptora la cual esta hembra se encargara de gestarlo y llevarlo al termino. Desde el punto de vista genético los animales nacidos son portadores del 50% de los genes del padre y 50% de la madre.

En la vaca los embriones son rutinariamente transferidos al cuerno uterino, esto es porque los embriones son recuperados no quirúrgicamente del útero y deben ser transferidos al mismo sitio.

1. Es necesario palpar los ovarios en forma acertada, para seleccionar el que tiene el cuerpo lúteo (cuerpo amarillo)
2. Es pasar el aplicador con el embrión, a través del cérvix. Recordemos que la aplicación o transferencia se hace del día 6-7 u 8 del ciclo estral cuando está en fase lútea; el cérvix puede estar ocluido y con presencia de mucosidad. Las novillas presentan un reto por su pequeño cérvix, algunas razas son más difíciles que otras. El mejor entrenamiento es tener mucha experiencia en Inseminación Artificial.
3. Es colocar el embrión, a la mitad del cuerno uterino o al último tercio, esto debe ser muy gentil y en forma rápida.

Los técnicos inseminadores generalmente requieren 100 a 200 transferencias para adquirir experiencia (García y Bailón, 2009).

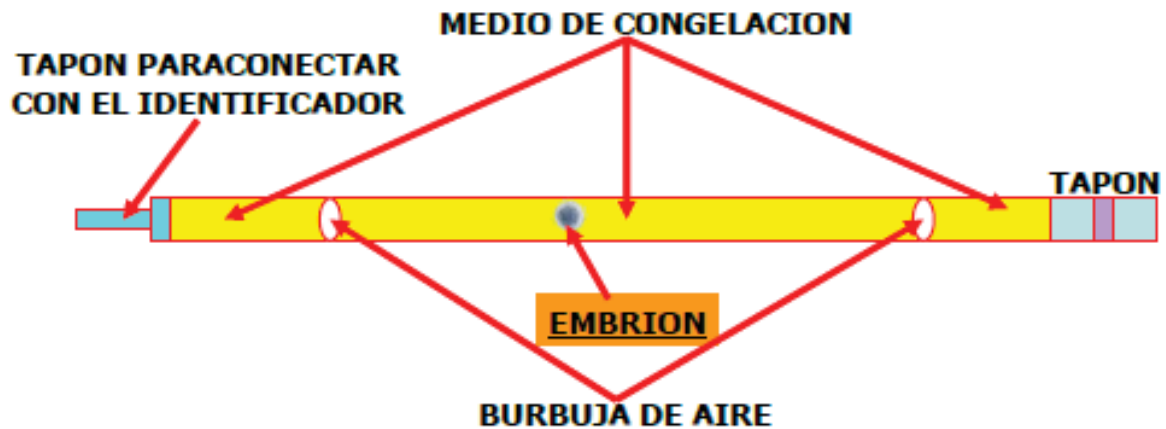


Figura 10. Pajilla con el embrión listo para transferirse.

2.3.20 RECEPTORAS QUE PUEDEN SER ÚTILES PARA RECIBIR UN EMBRIÓN

Las receptoras son seleccionadas por 2 cosas:

- Tener un cuerpo lúteo palpable.
- Estar sincronizadas con las donadoras en +/- 24 horas con el embrión a la donadora.

Las receptoras son tranquilizadas $\frac{1}{2}$ hora antes de la transferencia, la anestesia local es recomendable 10 minutos antes de la transferencia de preferencia xilocaína o lidocaína al 2%, cuando la cola está flácida, es el momento de transferir.

Los embriones deben ser depositados lo más profundo posible en el tercio medio anterior del cuerno uterino que tiene el cuerpo lúteo. El técnico que palpa con el brazo izquierdo, se facilita mucho cuando la transferencia es del cuerno derecho, pero es poco difícil cuando hay que depositar en el cuerno izquierdo, por eso es muy importante, que la anestesia epidural esté bien puesta (+/-) 8 cc de xilocaína es la dosis.

La colocación debe ser lo más profundo posible, de la mitad del cuerno hacia delante. Es necesario que sea realizado con mucha destreza y calma para no lastimar el endometrio (Ávila y Bailón, 2009).

2.3.21 TRATAMIENTO DE DONADORAS DESPUES DE LA COLECTA

Una vez terminado de lavar los cuernos uterinos, las donadoras, son inyectadas con una dosis doble de prostaglandina y se repite de 12 a 14 días después. El objetivo de esto es evitar procesos inflamatorios uterinos o gestacionales múltiples ya que algunos embriones pueden permanecer aún en los oviductos.

Se puede aplicar un antibiótico no irritante, como preventivo de alguna contaminación (Ávila y Bailón, 2009).

2.3.22 DIAGNOSTICO DE GESTACIÓN EN RECEPTORAS

El diagnostico de gestación principalmente se basa en la observación de los cambios fisiológicos de los órganos genitales asociados a la preñez, lo cual también es el periodo transcurrido desde la fertilización al parto.

2.3.23 DETERMINANTES DEL PROGRESO DE LA GESTACIÓN.

Tiempo de vida fértil del óvulo (6 horas).

Tiempo de vida fértil del espermatozoide (18-24 hrs).

2.3.24 FACTORES QUE INFLUENCIAN LA DURACIÓN DE LA GESTACIÓN.

Sexo del feto (más largo en machos).

Número de fetos.

Raza.

Genotipo de los padres.

Nutrición.

Factores ambientales.

2.3.25 DIAGNOSTICO DE GESTACIÓN

La concentración de progesterona se eleva dentro de los primeros 3 a 4 días del ciclo.

En vez de declinar el día 17 o 18, permanece elevada estimulando al epitelio glandular del endometrio a proliferar y secretar leche uterina (histiotrofo), única fuente de nutrientes del embrión antes de la implantación.

LA CONCENTRACIÓN DE PROGESTERONA

Disminuye tono uterino.

Disminuye contractilidad miometral.

Incrementa umbral de sensibilidad a estimulantes miometriales.

Permite libre desarrollo de concepto y placenta sin expulsarlos del útero.

PROTEÍNA TROFOBLÁSTICA

Señal de reconocimiento materno de la preñez.

Aparece alrededor del día 16 o 17.

Es una proteína interferón.

Previene/bloquea a la enzima sintetasa de PGF.

-Evita producción de prostaglandinas.

-Evita lisis de cuerpo lúteo.

PALPACIÓN TRANSRECTAL (PTR)

Más acertada realizada en etapas tempranas de la gestación.

Después de 90 días el margen de error aumenta a un mes.

Tiene 4 signos positivos para declarar preñez:

-Deslizamiento de membranas.

-Vesícula amniótica.

-Cotiledones.

-Feto.

VESÍCULA AMNIÓTICA

Formado por:

Amnios: contiene al embrión

Líquido amniótico

TIEMPO ADECUADO PARA PALPAR

Vaquillas: 28 días.

Vacas pluriparturientas: 32-35 días.

Estructura llena de fluido, turgente y esférica unida a la membrana corioalantoidea por medio de un pedúnculo.

Permite a la vesícula flotar libremente dentro del líquido alantoideo.

Agarrar con el pulgar de un lado y los otros lados del lado opuesto a fin de abarcar un largo segmento.

Generalmente se encuentra en el borde craneal del ligamento intercornual.

Se vuelve progresivamente menos turgente y es difícil de reconocer a partir del día 65 de gestación.

En el embrión bovino el corazón es externo hasta el día 42 de gestación.

Extremar precauciones.

Excesiva presión puede causar muerte fetal.

PLACENTOMAS

Los cotiledones de la placenta fetal producen vellosidades que se proyectan dentro de las criptas de las carúnculas para formar los placentomas.

75 – 120 carúnculas.

-Dos filas ventrales.

-Dos filas dorsales.

Se desarrollan desde la gestación temprana.

Se hacen visibles en el útero a los 40 – 50 días.

Sólo son palpables alrededor de los días 70 a 80.

Varían en tamaño de acuerdo a etapa de la gestación y localización en el útero.

Son más grandes cerca de la mitad del útero grávido.

Son más pequeños en el polo cervical y ovarios.

Se deben palpar los inmediatamente craneales al cérvix pues ahí mantienen su tamaño más uniforme.

FETO

Llega a ser palpable a los 65 – 70 días cuando la vesícula amniótica se vuelve menos tungente.

En preñeces tempranas se puede agarrar directamente.

En preñeces tardías se requiere de peloteo.

Fácilmente palpable en primero 4 meses.

- Flota libremente en el sobre pélvico.
- A medida que la gestación avanza incrementa el peso del feto y fluidos jalando el útero craneal y ventralmente hasta descansar sobre el piso abdominal a partir del 5º o 6º mes.
- Durante el último trimestre (periodo de ascendencia) se facilita su palpación pues se encuentra cerca de la pelvis.

Falsos positivos

- Saco dorsal del rúmen.
- Riñón izquierdo.

Posibilidad de palpación

- 95% meses 3 y 4.
- 40 – 70 % meses 5 y 6
- 80% mes 7
- 95% meses 8 y 9

SIGNOS QUE RESPALDAN LA GESTACIÓN

Asimetría de cuernos uterinos

- El diagnóstico de preñez debe empezar con palpación de ambos cuernos uterinos para detectar diferencias.
- Si hay diferencias en diámetro, se debe proceder a examinar vasícula amniótica o membranas fetales.
- Falso positivo.
 - Piometra.
 - Mucometra.
 - Involución uterina retardada.
- Elasticidad de Pared Uterina.
 - A medida que la gestación avanza las paredes del útero se llenan de fluido y se hacen más delgadas.
- Fijación del Cérvix.
 - Puede ser levantado y retraído aproximadamente hasta el día 65 a 70.

- Alrededor del día 90 el fluido hace al útero lo suficientemente pesado como para no poder levantarlo.
- Falsos positivos.
- Acumulaciones de líquido por piometra o mucometra.
- Hipertrofia de la Arteria Uterina.
- Incremento de volumen de sangre que llega al feto.
- Situada sobre ligamento ancho.
- Palpable a los 60 – 75 días en vaquillas y 90 días en vacas.
- .5 cm a 120 días.
- 1 cm a 150 días.
- 1.25 cm a 180 días.
- 1.5 cm a 210 días.

ULTRASONIDO Y VENTAJAS

ULTRASONIDO

- Transrectal.
- 5 MHz y 7.5 MHz.
- Vesícula amniótica: 13 – 14 días.
- Embrión: 26 – 29 días.

VENTAJAS

- Determinación de gestaciones de menos edad.

- Viabilidad del embrión.
- Sexo.
- Edad del feto.
- Mostrar feto al cliente. (<http://www.scribd.com/doc/6659017/Diagnostico-de-Gestacion>)

3. METODOLOGÍA

3.1 ÁREA DE ESTUDIO

El trabajo fue realizado en dos diferentes sitios la Posta Zootecnia y el Instituto Tecnológico del Valle de Morelia 07, ubicados en el Km 9.5 carretera Morelia- Zinapécuaro y en el 6.5 Km Morelia-salamanca, respectivamente, ambos en el municipio de Tarímbaro, Michoacán.

3.2 SELECCIÓN DE ANIMALES

Dos hembras F1 de la raza *Bos taurus* x *Bos indicus*, con un parto previo y sin problemas reproductivos, mantenidas en la FMVZ-UMSNH, fueron utilizadas como donadoras y nueve hembras de la raza Holstein o sus cruza, de partos múltiples (2-7 partos) mantenidas en el ITVM 7, como receptoras.

3.3 SINCRONIZACIÓN DE CELOS

Receptoras: Las hembras receptoras fueron inducidas al celo con la aplicación de un dispositivo intravaginal (CIDR- Controlled Internal Droug Release por sus siglas en ingles, Intervet SA, México) mantenido por espacio de 11 días más la aplicación de 5 mg DE CIPIONATO DE ESTRADIOL + 75 mg DE PROGESTERONA (Ford Dode SA México) por vía intramuscular. El día 19 de la aplicación del CIDR, las hembras fueron tratadas 25 mg de PGF_{2α} (Lutalyse, Intervet SA, México). Al tercer día de aplicada la PGF_{2α} se inicio con la detección de celos.

Donadoras. La sincronización de celos de las donadoras se realizó en la FMVZ-UMSNH utilizando el dispositivo intravaginal (CIDR, Intervet SA, México), por espacio de ocho días; más 2.5 mg DE CIPIONATO DE ESTRADIOL + 100 mg DE PROGESTERONA (FORTE DODGE).

3.4 SUPEROVULACIÓN EN DONADORAS

Las donadoras fueron tratadas al quinto día de colocado el CIDR, con hormona folículo estimulante porcina (Follitropin-V; BIONICHE Animal Health Canada INC) aplicada dos veces al día (07:00 y 19:00 h), en dosis decrecientes (50-50; 40-40, 30-30 y 20-20 mg). Al tercer día de iniciado el tratamiento de superovulación, cada una de las hembras donadoras fue tratada (i. m.) con 15 mg de PGF_{2α} (Prosolvín; Intervet SA. México).

Cuadro 1. Cronograma de superovulación e inseminación en hembras donadoras.

FECHA	HORARIO A.M/ 7:00 A.M	HORARIO P.M/ 7:00 P.M
DÍA 1	50 mg FOLLTROPIN	50 mg FOLLTROPIN
DÍA 2	40 mg FOLLTROPIN	40 mg FOLLTROPIN
DÍA 3	30 mg FOLLTROPIN + PROSOLVIL	30 mg FOLLTROPIN + PROSOLVIL
DÍA 4	20 mg FOLLTROPIN + RETIRO DEL IMPLANTE (CIDR)	20 mg FOLLTROPIN
DÍA 5	INSEMINACIÓN ARTIFICIAL	INSEMINACIÓN ARTIFICIAL
DÍA 6	INSEMINACIÓN ARTIFICIAL	
DÍA 12	COLECTA Y TRANSFERENCIA DE EMBRIONES	

3.5 INSEMINACIÓN ARTIFICIAL DE DONADORAS

Cada una de las hembras donadoras fue sometida a la inseminación artificial tres veces a intervalos de 12 h, iniciando 24 h después de retirado el dispositivo intravaginal.

3.6 LAVADO Y COLECTA DE EMBRIONES

El lavado de los cuernos uterinos para la colecta de embriones en las donadoras se realizó a los siete días después de la última inseminación, de manera independiente, gravitacional e intermitente, colocando una sonda Foley de dos vías en el aparato reproductor de la hembra. Como medio de lavado se utilizó solución Dulbecco a 37 °C. El medio de lavado de cada cuerno fue colectado en recipientes con filtros de malla fina (25 µM de poro), de manera intermitente el excedente de medio fue retirado para no sobrepasar la capacidad del recipiente.



Figura 11. Lavado y colecta de embriones.

3.7 BÚSQUEDA DE EMBRIONES

La búsqueda de los embriones se realizó en el medio colectado una vez terminado el lavado de cada uno de los cuernos uterinos. El medio se depositó en cajas de petri y se realizó la búsqueda en bajo un microscopio estereoscópico (10X). Los embriones localizados fueron evaluados y clasificados (40X) en función de su estado de desarrollo (óvulos, mórula temprana o tardía o blastocito temprano o tardía) y calidad morfológica (excelente, bueno, regular y pobre) con base en los criterios descritos por Lindner y Wrigth (1983).

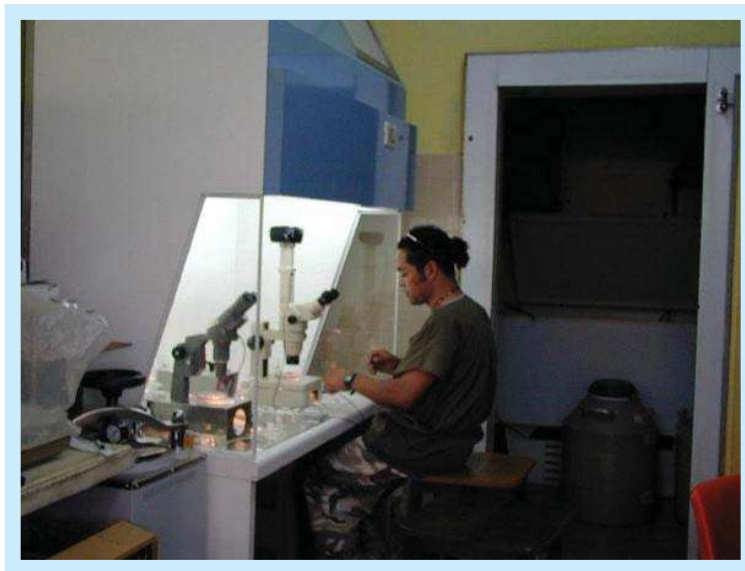


Figura 12. Búsqueda de embriones en un estereomicroscopio en magnificación 10-15X

4. RESULTADOS

Las dos hembras de FI respondieron al tratamiento de superovulación, presentando un total de 7 y 4 cuerpos lúteos sobre la superficie del ovario.

Cuadro 2. Número de cuerpos lúteos colectados.

DONADORAS	# DE CUERPOS LUTEOS DIAGNOSTICADOS	# DE EMBRIONES OBTENIDOS
28	4	3
36	7	0

Al momento de la colecta en una de las donadoras, se observó la presencia de moco cervical que obstruyó la sonda de Foley, lo que posiblemente afectó la recuperación embrionaria.

Después de la colecta de embriones se colocaron en pajillas francesa de 0.5 ml y se transfirieron en receptoras de la raza Holstein, en el Instituto Tecnológico del Valle de Morelia 07, las cuales fueron previamente sincronizadas en cuanto a su ciclo estral con el de las donadoras. Las receptoras presentaron cuerpo lúteo funcional en el ovario derecho, por lo que los embriones se depositaron en los cuernos uterinos correspondientes.

5. DISCUSIÓN

El objetivo de los tratamientos superovulatorios en las vacas es obtener el máximo de embriones fertilizados y de la calidad transferible con alta probabilidad de producir gestaciones. Sin embargo la asincronía ovárica y las variaciones en las respuestas al tratamiento utilizado para la super estimulación ovárica, es el principal factor limitante en la transferencia embrionaria para obtener una mejor producción de embriones transferibles para hacer costeable esta práctica.

La respuesta superovulatoria observada, si bien es buena, no es del todo satisfactoria dado que para una buena cosecha de embriones es recomendable que cada una de las donadoras tratadas con FSH, presente al menos un total de 10 CL por ovario. Adicionalmente, existen varios ejemplos de las respuestas superovulatorias de revisiones de programas experimentales y comerciales de transferencia embrionaria (T.E.) y su reporte incluye el ganado de carne 6.2 embriones transferibles colectados de cada vaca donadora; sin embargo, 24% de las colectas no producen embriones viables, 64% de las donadoras producen pocos embriones transferibles y solo el 30% de las colectas o lavados producen 70% de los embriones. Estos resultados reportados, revelan que existe un alto grado de valores impredecibles en la respuesta superovulatoria. El control de las ondas foliculares presenta una nueva alternativa y una nueva luz para mejorar y reducir estas variaciones.

El tratamiento con hormona folículo estimulante y la dosis empleada, es un tema con mucha controversia debido a que existe una gran diversidad en el número de embriones viables obtenidos por cada lavado. Parte de la variabilidad en el número de embriones colectados depende de la

calidad y dosis de FSH utilizada (Murphy et al., 1984), y también puede ser afectada por la raza, estado productivo y edad del animal. La dosis inicial que utilizo para ganado *Bos taurus* adulto en un protocolo de superovulación es de 400 mg de FSH utilizando el medicamento Folltropin.

Cuadro 3. Dosis de FSH en ganado adulto *Bos taurus*

DIA	AM	PM	TOTAL
1	80 mg (4.0 ml)	80 mg (4.0 ml)	160 mg (8.0 ml)
2	60 mg (3.0 ml)	60 mg (3.0 ml)	120 mg (6.0 ml)
3	40 mg (2.0 ml)	40 mg (2.0 ml)	80 mg (4.0 ml)
4	20 mg (1.0 ml)	20 mg (1.0 ml)	40 mg (2.0 ml)
TOTAL	200 mg (10 ml)	200 mg (10 ml)	400 mg (20 ml)

Existen razas como la Simmental, Fleckvieh, Montbéliarde y algunas Cebuinas (Nelore) que son sumamente sensibles a la hormona folículo estimulante (FSH) y son necesarias dosis muy bajas para una mejor respuesta ya que dosis elevadas producen malos resultados debido a una sobre estimulación ovárica (Mapletoft *et al.*, 2002). La dosis inicial recomendada para estas razas es de 240 mg de FSH repartido en dosis descendente por cuatro días am-pm (Cuadro 4).

Cuadro 4. Dosis de FSH en ganado con hipersensibilidad

DIA	AM	PM	TOTAL
1	50 mg (2.5 ml)	50 mg (2.5 ml)	100 mg (5.0 ml)
2	40 mg (2.0 ml)	40 mg (2.0 ml)	80 mg (4.0 ml)
3	20 mg (1.0 ml)	20 mg (1.0 ml)	40 mg (2.0 ml)
4	10 mg (0.5 ml)	10 mg (0.5 ml)	20 mg (1.0 ml)
TOTAL	120 mg (6.0 ml)	120 mg (6.0 ml)	400 mg (12.0 ml)

Las donadoras jóvenes son muy sensibles a la FSH y es recomendable iniciarlas con una dosis baja. Recomendando iniciar becerras jóvenes con 200 mg o 240 mg de FSH. Después del primer lavado con la dosis inicial se valora la respuesta de la donadora. Si la respuesta fue favorable se queda la dosis donde utilizada. Si la respuesta no fue favorable hay dos maneras de solucionarlo en el próximo lavado:

1) Si la donadora se sobre estimulo se necesita bajar la dosis dependiendo de la respuesta. Si tenía más de 15 Cuerpos Lúteos (CLs) en cada ovario se puede reducir hasta 100 mg en el protocolo de FSH. Si fue menor a 15 CLs por ovario se puede reducir solo 50 mg, ya que es común que en vacas sobre estimuladas se encuentren en la colecta de embriones un gran número de óvulos o muy pocos embriones. Es posible también no encontrar óvulos ni embriones en vacas muy sobre estimuladas.

2) Si la donadora tuvo muy baja respuesta en cuanto al número de CLs y embriones encontrados se puede aumentar la dosis. Si fueron menos de 3 embriones se puede subir la dosis hasta 100 mg si fueron cerca de 5 embriones subirla a 60 mg.

Cuadro 5. Dosis de Follitropin para diferentes razas, pesos y edades en ganado bovino.

Dosis	Tipo de ganado
14 a 20 mg	Novillas
20 a 24.5 mg	Novillas y ganado cebuino
30 mg	Vacas adultas (Holstein)
35 mg	Vacas adultas muy grandes y pesadas.

Algunos de los protocolos de superovulación se describen a continuación

Cuadro 6. Tratamientos superovulatorios tradicionales

	Donadoras				Receptoras	
Día	PMSG		FSH			
	AM	PM	AM	PM	AM	
0	2500 UI		FSH	FSH	PGF _{2α}	
1			FSH	FSH		
2	PGF _{2α}		FSH + PGF _{2α}	FSH		
3			FSH	FSH	OBSERVAR CELOS	
4	CELO	IA + NEUTRA- PMSG	CELO	IA		
5	IA		IA			
11	COLECTA		COLECTA		TRANSFERENCIA	

Cuadro 7. Tratamiento tradicional de superovulación con dispositivos de liberación de Progesterona y 17β estradiol o Benzoato de Estradiol (Protocolo americano)

DONADORAS			RECEPTOR AS	DONADORAS			RECEPTOR AS
DI A	eCG	FSH		DI A	Ecg	FSH	
0	AM: Progestágeno + P ₄ (IM) + 5 mg de E ₂			0	AM: Progestágeno + P ₄ (IM) + 5 mg de E ₂		
4	AM: eCG (2500 UI)	AM: FSH PM: FSH		5	AM: eCG (2500 UI)	AM: FSH PM: FSH	
5		AM: FSH PM: FSH	AM: PGF _{2α}	6		AM: FSH PM: FSH	AM: PGF _{2α}
6	AM: PGF _{2α} PM: Retirar progestágeno	AM: FSH + PGF _{2α} PM: FSH + Retirar progestágeno		7	AM: PGF _{2α} PM: Retirar progestágeno	AM: FSH + PGF _{2α} PM: FSH + Retirar progestágeno	
7		AM: FSH PM: FSH		8		AM: FSH PM: FSH	
8	AM: Celo + IA PM: IA + Neutra-Ecg	AM: Celo + IA PM: IA	AM: Observar Celos	9	AM: Celo + IA PM: IA + Neutra-eCG	AM: Celo + IA PM: IA	AM: Observar Celos
9	AM: IA	AM: IA		10	AM: IA	AM: IA	
15	Colecta	Colecta	Transferencia	16	Colecta	Colecta	Transferencia

Si se usan progestágenos, los más habituales son: CRESTAR, PRID, CIDR-B O EAZI-BRED se denomina Día 0 al día en que el progestágeno es colocado, sin importar en que día del ciclo en que se encuentra la donante.

PROTOCOLO BRASILERO

Este protocolo fue propuesto por el Baruselli (Bo et al., 2002 ; Barros et al., 2005; Baruselli et al., 2006;). Es similar a los anteriores. Sin embargo, se ha desarrollado para inseminar las donadoras a tiempo fijo es decir no hay necesidad de detectar calores por lo que lo hace probablemente el más práctico de todos los protocolos (Cuadro 8). Baruselli reporto 9,983 lavados utilizando el protocolo a tiempo fijo con un promedio de 5.6 embriones transferibles por lavado (Lammoglia MA. 2010).

Cuadro 8. Protocolo brasileiro para superovulación en ganado bovino.

DIA	AM	PM
0	Implante + benzoato de estradiol (2 mg)+ progesterona (50 mg)	
4	FSH	FSH
5	FSH	FSH
6	FSH + PGF _{2α}	FSH + PGF _{2α}
7	FSH	FSH+REMOVER EL IMPLANTE
8	LH o GnRH	IATF
9	IATF	
15	LAVADO	

PROTOCOLO COMBO

Este protocolo es una combinación de varias hormonas auxiliares en reproducción. Por ejemplo se incorpora la utilización de la hormona llamada somatotropina bovina Recombinante conocida comercialmente con el nombre de Lactotropina (500 mg; Elanco) o Boostin (Schering-Plough; G 320 mg y S 500 mg). La idea de usar somatotropina bovina es incrementar la respuesta folicular a la hormona FSH.

Este protocolo también manipula el ciclo estral bovino para inducir las donadoras a un primer calor que se conoce como calor base. Cuatro días después del calor base se aplica somatotropina bovina, dos días después se aplica estradiol 17 β (5 mg), progesterona (50 mg) y se pone el dispositivo de progesterona (Bo et al., 1995). El día 10 del ciclo se inicia el protocolo de FSH que termina el día 13 del ciclo inyectando FSH y PGF_{2 α} a.m. y p.m.

Además en la última inyección de FSH y PGF₂ también se retira el implante (Cuadro 9). El calor se manifiesta generalmente a las 36 horas de retirar el implante. Es recomendable palpar los ovarios de las donadoras el día 9 del ciclo estral a partir del calor base o un día antes de iniciar el protocolo de FSH. Las donadoras que presenten cuerpo lúteo (Mapletoft et al., 2002) continuarán el programa de embriones. Esto es por si alguna de las donadoras presentó un calor falso como calor base quedará fuera del programa y de esta manera se garantiza un poco más la respuesta de las donadoras.

Cuadro 9. Protocolo combo para superovulación en ganado bovino.

DIA	AM	PM
0	IMPLANTE + ESTRADIOL 17 β + PGF _{2α}	
7	RETIRAR IMPANTE + PGF _{2α}	
8	2.5 mg ESTRADIOL 17 β	
13	SOMATOTROPINA	
15	IMPLANTE + ESTRADIOL 17 β (5 mg) + PROGESTERONA (50 mg)	
19	FSH	FSH
20	FSH	FSH
21	FSH	FSH
22	FSH + PGF _{2α}	FSH + PGF _{2α} + REMOVE IMPLANTE
24	CALOR IA UNA DOSIS	CALOR IA DOS DOSIS
25	IA UNA DOSIS	
32	LAVADO	

Recientemente se están ensayando con buenos resultados la simplificación de los tratamientos, reduciendo el número de inyecciones de FSH a dos (dosis partida) o una sola, administrada bajo la escápula (en animales en buen estado de carnes) o vehiculada en PVP, aceites, etc., incluso puede ser expandida por pequeñas bombas osmóticas subcutáneas.

A pesar de los recientes e importantes avances logrados en el campo de la fisiología reproductiva del bovino, los factores inherentes al animal donante sólo están parcialmente aclarados. Otros factores son el estado nutricional, la historia reproductiva, la edad, la estación del año, la raza, el estado ovárico en el momento del tratamiento y efecto de repetición de tratamientos superovulatorios. Atendiendo a todo esto se pueden simplificar los procedimientos, mejorar las respuestas y reducir la variabilidad (Lammoglia, 2010).

BIBLIOGRAFIA

- Asprón, PM,A. 2001. Transferencia de embriones [en línea]. <http://www.patrocipes.uson.mx/patrocipes/invpec/ranchos/RA0062.html>.
- Asprón, PMA. 2004. Situación actual de la transferencia de embriones en México. Memorias del X Congreso Internacional de Reproducción Bovina, México DF. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM. Mayo del 2004. p. 162-176.
- Ávila García J., Bailón Blanco A 2009, Importancia de donadoras y receptoras, Selección de receptoras y sincronización, Técnica de colección y recuperación de embriones, Transferencia de embriones. Memoria de Curso teórico-práctico sobre transferencia de embriones, México DF. Facultad de medicina veterinaria y zootécnica, UNAM. 29-31 enero del 2009.
- Baruselli, P.S., M. Sa Filho, C.M. Martins, L.F. Nasser, M.F.G. Nogueira, C.M. Barros, G.A. Bo. Superovulation and embryo transfer in *Bos indicus* cattle. *Theriogenology*. 2006; 65:77-88.
- Barros, C.M, M.F.G. Nogueira. Superovulation in zebu cattle. Protocol P36. Embryo Transfer Newsletter, IETS, June 2005; 5-9.
- Bo, G.A., P.S. Baruselli., D. Moreno., L. Cutaia., R. Tribulo., R.J. Mapletoft. The control of follicular wave development for selft-appointed embryo transfer programs in cattle. *Theriogenology* 2002; 57:53-72.
- Bo, Ga., Adams, G.P., R.A. Pierson, y R.J. Mapletoft. Exogenous control of follicular wave emergent in cattle, *Theriogenology*, 1995; 43:31-40.

Escurrea Laboratorios. 2001. Transferencia de embriones: Metodología de trabajo de manejo clásico de transferencia embrionaria. [En línea].

<http://www.viarural.com.ar/viarural.com.ar/sumosagropecuarios/ganaderos/inseminación/ezcurrea/default.html>.

García. D.E., 1998. Mejoramiento genético mediante la transferencia de embriones.

[En línea]. <http://www.patrocipes.uson.mx/patrocipes/invpec/ranchos/RA0087.html>

Mapletoft, R.J., K.B. Steward, y G.P. Adams. Recent advances in the superovulation of cattle. *Reprod. Nutr. Dev.*, 2002, 1-11.

Murphy, B.D., R.J. Mapletoft, J. Manns, y W.D. Humprey. Variability in gonadotrophin preparations as a factor in the superovulatory response. *Theriogenology*, 1984; 21:117-125.

Lammoglia MA. 2010. Nuevos protocolos de superovulación y sincronización en programas de transferencia de embriones en bovinos. XII Curso Internacional de Reproducción Bovina. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México. Mayo 19-21, 2010. México, DF.

Vanderwall. Current bovine embryo transfer techniques. [En línea] consulta 17 de abril del 2010.

http://www.ivis.org/advances/reproduction-ball/embryo_transfer_vanderwall.asp.

Visionveterinaria, 2003. La Clonación y la Transferencia de Embriones en Vacunos de leche.

(<http://www.visionveterinaria.com/prion/transferencia.html>) [En línea] consulta 17 de abril del 2010.

(<http://www.buenastareas.com/ensayos/Transferencia-De-Embriones-Bovinos/14227.html>) [En línea] consulta 17 de abril del 2010.

(<http://www.australosorno.cl/site/edic/20030323093758/pags/20030323094619.html>) [En línea] consulta 18 de abril del 2010.

(<http://www.unaga.org.co/asociados/holstein.htm>) [En línea] consulta 20 de abril del 2010.

(<http://www.elevage-francais.com/es/Bd.asp?Id=15>) [En línea] consulta 5 mayo del 2010.

(<http://www.scribd.com/doc/6659017/Diagnostico-de-Gestacion>) [En línea] consulta 9 de mayo del 2010.

(<http://www.coopex.com/les-raisons-du-succes-es.php>) [En línea] consulta 12 de mayo del 2010.

(<http://jairoserrano.com/2009/01/superoovulacion-en-bovinos/>) [En línea] consulta 15 de mayo del 2010.

(http://www.engormix.com/factores_afectan_superoovulacion_bovino_s_articulos_1684_GDC.htm) [En línea] consulta 1 de junio del 2010.

(http://www.reprobiotec.com/libro_rojo/capitulo_05.pdf) [En línea] consulta 2 de junio del 2010.

(<http://www.calier.es/pdf/Tasa%20de%20gestacion%20de%20novillas.pdf>) [En línea] consulta 2 de junio del 2010.

(<http://jairoserrano.com/2009/12/calificacion-y-clasificacion-embrionaria/>) [En línea] consulta 3 de junio del 2010.