



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE BABAHOYO
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS



ESCUELA DE AGRICULTURA, SILVICULTURA, PESCA Y
VETERINARIA
CARRERA DE AGROPECUARIA

TRABAJO DE TITULACION:

Componente práctico del examen de carácter Complexivo,
presentado al H. Consejo Directivo de la
Facultad, como requisito previo a la obtención del título de:

INGENIERA AGROPECUARIA

TEMA:

Uso de la biotecnología reproductiva para el mejoramiento genético
mediante la transferencia de embriones en ganado bovino

AUTORA:

Karla Janela Mora Monserrate

TUTORA:

Dra. Lidia Leonor Paredes Lozano MSc.

Babahoyo – Los Ríos – Ecuador

2024

RESUMEN

La biotecnología reproductiva, especialmente la transferencia de embriones, es una herramienta muy importante para el mejoramiento genético en la ganadería de bovinos, pues permite multiplicar genéticamente a los animales superiores, acelerando así el progreso genético, facilitando la propagación de rasgos deseables, la preservación de líneas genéticas valiosas y almacenamiento de recursos genéticos únicos que puedan disponerse con relativa facilidad para su posible utilización futura. Con la transferencia de embriones, se contribuye a la mejora de la productividad en el sector agropecuario, y por ende al incremento del rendimiento económico, pues se consigue un mayor número de terneros de animales genéticamente superior en un solo ciclo estral. Para tener el éxito deseado se debe realizar un adecuado proceso de selección y manejo de los animales que cumplirán su función como donadoras, receptoras y semental, es por eso que el encargado debe estar capacitado para la correcta elección, manejar adecuadamente los protocolos para la superovulación de las donadoras, obtener la mayor cantidad de ovocitos viables para ser fertilizados y luego recolectar embriones transferibles con elevadas posibilidades de producir preñez. Asimismo, mover embriones, desde el punto de vista sanitario, es la forma más segura de transportar material genético. Los embriones recolectados pueden ser transferidos a la receptora de forma inmediata o conservarse durante un periodo prolongado a bajas temperaturas. Si se transfieren de forma inminente, es necesario realizar la sincronización artificial de los ciclos estrales entre la hembra donante y receptora. Para el almacenamiento prolongado de embriones con mayor frecuencia, se recurre a la criopreservación y aunque este método está siendo reemplazado por la vitrificación, las tasas de gestación siguen siendo menores que al transferir embriones frescos, es por esto que surgen nuevas investigaciones para innovar y desarrollar técnicas e instrumentos eficaces.

Palabras clave: transferencia de embriones, bovino, reproducción, donantes, receptora, superovulación, mejoramiento genético

SUMMARY

Reproductive biotechnology, especially embryo transfer, is a crucial tool for genetic improvement in livestock, as it allows the multiplication of genetically superior animals, so accelerating genetic progress, facilitating the spread of desirable traits, preserving valuable genetic lines, and storing unique genetic resources that can be readily available for future use. Embryo transfer optimizes the genetic quality of livestock, which in turn enhances productivity in the agricultural sector and contributes to increased economic returns, as a greater number of calves from genetically superior animals are produced in a single estrous cycle. For embryo transfer to achieve the desired success, it is important to select and manage animals that will serve as donors, recipients, and sires. Therefore, the personnel involved must be trained to make the correct choices, properly manage protocols for donor superovulation, obtain the highest number of viable oocytes for fertilization, and then collect transferable embryos with high chances of resulting in pregnancy. Moreover, moving embryos, from a sanitary perspective, is the safest way to transport genetic material. The collected embryos can be transferred to the recipient immediately or preserved for an extended period at low temperatures. If transferred imminently, artificial synchronization of estrous cycles between the donor and recipient female is necessary. For the long-term storage of embryos, cryopreservation is employed, a process whereby cells or tissues are preserved at low temperatures, halting their metabolic activity; this method is being replaced by vitrification. However, pregnancy rates remain lower than those obtained when transferring fresh embryos, prompting new research to innovate and develop effective techniques and instruments.

Keywords: embryo transfer, bovine, reproduction, donors, recipients, superovulation, genetic improvement.

Contenido

RESUMEN.....	II
SUMMARY	III
Contenido	IV
1. CONTEXTUALIZACIÓN	1
1.1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.2. PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN.....	2
1.3. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN.....	2
1.4. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACION	3
1.4.1. Objetivo general.....	3
1.4.2. Objetivos específicos.....	3
1.5. Líneas de investigación	3
2. DESARROLLO.....	4
2.1. MARCO CONCEPTUAL	4
2.1.1. Transferencia de embriones.....	4
2.1.2. Historia y perspectivas de la transferencia de embriones.....	4
2.1.3. Transferencia de embriones y mejoramiento genético.....	5
2.1.4. Hormonas empleadas para la superovulación y su mecanismo de acción.....	5
2.1.5. Selección de los animales.....	7
2.1.6. Protocolos de superovulación	9
2.1.7. Métodos de obtención o recolección de embriones.....	10
2.1.8. Evaluación de embriones	12
2.1.9. Transferencia de embriones a la hembra receptora	14
2.1.10. Criopreservación de embriones	15
2.1.11. Descongelamiento.....	16
2.1.12. Vitricación	17
2.2. MARCO METODOLÓGICO.....	17
2.3. RESULTADOS	18
2.4. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	20
3. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	22
3.1. CONCLUSIONES.....	22
3.2. RECOMENDACIONES.....	22
4. REFERENCIAS Y ANEXOS.....	24
4.1 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	24
4.2 ANEXOS.....	27

Contenido de Tablas

Tabla 1. Protocolo probado de superovulación con Hcg	6
Tabla 2. Ejemplo de un protocolo de sincronización, superovulación y transferencia de embriones.	10
Tabla 3. Efecto de la edad de la receptora sobre el índice de preñez de TE.	20

Contenido de Figuras

Figura 1: Sincronización y superovulación mediante FSH y prostaglandina	9
Figura 2: Sistema de lavado y colocación de la sonda de Foley para la recuperación de embriones en bovinos.	11
Figura 3 Blastocito de 8 días, donde se puede apreciar la zona pelúcida	12
Figura 4: Estadíos de desarrollo embrionario.	13
Figura 5: Transferencia del embrión a la hembra receptora.....	14
Figura 6: Porcentaje de la taza de preñez en vacas receptoras Brown Swiss cruzadas, transferidas con embriones frescos.....	19
Figura 7: Porcentaje de la taza de preñez en vacas receptoras Brown Swiss cruzadas, transferidas con embriones congelados	19

1. CONTEXTUALIZACIÓN

1.1. INTRODUCCIÓN

La biotecnología reproductiva es muy utilizada a nivel mundial, hay mucha variabilidad en cuanto a las necesidades de los animales y tecnología para aplicar en las ganaderías. La experimentación y el compartir información es primordial, ya que permite estandarizar algunos resultados positivos, lo que generará un mayor desarrollo de esta biotecnología en la zona, hay que considerar como aspectos de gran importancia, la selección de la donante y receptoras (Chuga *et al.* 2020).

El mejoramiento genético incluye el uso de tecnologías reproductivas y biotecnologías como la inseminación artificial, transferencia de embriones, ovulación múltiple, selección asistida por marcadores genéticos, fertilización in vitro y demás (Vásquez 2016)

El uso de la transferencia de embriones está ampliamente difundido a nivel global y es considerada la biotecnología de la reproducción que más influencia ha tenido en la genética del ganado (Fuentes 2015). Para ello, se analizan los antecedentes de fertilidad y fecundidad, estado sanitario (sana y libre de patologías) y la existencia de ciclos estrales normales y regulares. Asimismo, la hembra donante deberá encontrarse, al menos, en el día 60 postparto (Monaco 2020)

En el Ecuador actualmente se están desarrollando nuevas técnicas como transferencia de embriones, que nos permite producir animales de alto valor genético, lo que ayuda a los productores a mejorar las características productivas y ser más rentables (Ochoa 2006)

La finalidad que tienen los programas de transferencia de embriones es obtener la mayor cantidad de embriones posibles en un solo ciclo estral, por lo cual se realiza estimulación ovárica de la hembra cuya función será de donante con el objetivo de producir la ovulación de diferentes ovocitos, en vez de la ovulación simple característica de la bovina (García 2021).

La presente investigación se realizará con el propósito de indagar sobre el uso de la biotecnología reproductiva para el mejoramiento genético mediante la transferencia de embriones en ganado bovino, y otorgar una revisión detallada,

actualizada y fidedigna de las técnicas de transferencias de embriones con énfasis en sus aplicaciones y limitaciones.

1.2. PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN

La recolecta y transferencia de embriones fue un proceso en un inicio complejo, pues tanto la colección de los embriones en la donadora como su posterior transferencia a hembras receptoras se hacía por métodos quirúrgicos y usando anestesia general, implicando un enorme esfuerzo de logística, pues las donadoras y receptoras tenían que ser preparadas para la cirugía al mismo tiempo. Los resultados obtenidos empleando los métodos no quirúrgicos, poco a poco se aproximaron a los obtenidos con los quirúrgicos, razón por la cual estos últimos cayeron en desuso. Las técnicas de transferencias de embriones en el mundo en las últimas cinco décadas, conforme han pasado los años, han evolucionado de forma meteórica y ha sido cada vez más complicado mantener una base de investigación de frontera sólida que permita estar alineados con los desarrollos tecnológicos que van sucediendo (Alvarez et al. 2022)

La transferencia de embriones es conceptualmente sencilla desde una perspectiva metodológica, pero operativamente es complicada debido a la amplia gama de variables que afectan la técnica y el requisito de una serie de pasos secuenciales que determinan el éxito del proceso de la transferencia de embriones (Garcia et al. 2018).

El aborto en el ganado bovino produce desafíos económicos y de gestión al productor. Se producen fallas importantes del desarrollo durante los primeros 7 días de gestación. Alrededor del 28,4% de los embriones después del día 7 de gestación no se desarrollarán, mientras que la mayoría de pérdidas embrionarias se efectuará antes del día 4. Al finalizar el primer mes de preñez, el 47,9% de las hembras bovinas inseminadas no estarán preñadas en el día 0 (Reese et al. 2020).

1.3. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

Bajo el concepto de transferencias de embriones se agrupan una serie de biotecnologías reproductivas que tiene como propósito aumentar la capacidad de reproducción por el lado materno y se utiliza como una herramienta de mejoramiento genético. Estas biotecnologías incluyen: la selección de donadores (hembras y machos) de alto mérito genético, la supe ovulación de las donadoras, la recolección

y evaluación de los embriones, su transferencia a vacas receptoras o la crío preservación de los mismos. Además del mejoramiento genético, la Transferencia de embriones también se ha utilizado con fines de conservación de Recursos Zoo genéticos, ya que, de acuerdo con la FAO, es una excelente opción para conservar la diversidad genética y es la forma más rápida de restaurar una población en riesgo (Moore y Hasler 2017).

La técnica biotecnológica del trasplante de embriones se puede ver afectada por una serie de variables inherentes a la donante (raza, edad, estado nutricional, estado sanitario, estado fisiológico, tratamiento de superovulación); al embrión (calidad, tipo de embrión, estado de desarrollo); a la aplicación de la propia técnica y a las receptoras, (raza, edad, estado nutricional, estado sanitario, estado fisiológico, tratamientos de sincronización empleado, sincronismo donante-receptora). La gran cantidad de factores que afectan el éxito de la transferencia de embriones, explican la variabilidad de los resultados obtenidos (Fuentes 2015:204).

1.4. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACION

1.4.1. Objetivo general

- Recopilar información sobre el uso de la biotecnología reproductiva para el mejoramiento en el ganado bovino mediante la transferencia de embriones.

1.4.2. Objetivos específicos

- Investigar sobre la transferencia de embriones para el mejoramiento del ganado bovino.
- Analizar los factores que influyen en la transferencia de embriones en relación a la tasa de preñez.

1.5. Líneas de investigación

Dominio: Recursos Agropecuarios, ambiente, biodiversidad y Biotecnología

Línea: Desarrollo agropecuario agroindustrial sostenible y sustentable.

Sublíneas: Producción y reproducción animal.

2. DESARROLLO

2.1. MARCO CONCEPTUAL

2.1.1. Transferencia de embriones

La transferencia de embriones es una técnica que consiste en recoger los embriones de una hembra donante y transferirlos al útero de unas hembras receptoras, en las que se completará la gestación. Es una técnica plenamente consolidada, ya que se utiliza con asiduidad desde hace más de 40 años con unos resultados más que aceptables. (García et al. 2018).

Este procedimiento depende por completo de la disponibilidad de una fuente de embriones de calidad adecuada y el medio uterino propicio de la receptora al momento de la transferencia (sincronía) (Hafez 2000)

2.1.2. Historia y perspectivas de la transferencia de embriones

Las primeras transferencias de embriones las efectuó HEAPE en coneja, entre los años 1891 y 1897; en ellas se inició la técnica de transferencia embrionaria de forma cruenta; ésta se realiza mediante una incisión en el abdomen por la que poder extraer y trabajar con el aparato reproductor de la hembra. Posteriormente, la TE se generalizó en las restantes especies domésticas; VILLEY consiguió en el año 1951 el primer ternero nacido de una transferencia; en esa misma década, otros investigadores como ROWSON y AVARILL obtuvieron varios nacimientos de embriones trasplantados por vía cruenta. En la década de los 60 se desarrolló la transferencia embrionaria en la vaca por la vía incruenta (sin incisión abdominal), lográndose ya en el año 1965 óptimos resultados.

Este ha sido el método por el que se ha desarrollado la TE en el ganado vacuno y por el que se han logrado numerosos éxitos. En la pasada década se ha generalizado el uso de este método en la especie bovina a nivel mundial, llegando a ser tan elevado el número de embriones transferidos cada año, como lo demuestra el haber pasado de unos 100.000 en 1983 a más de 500.000 en 1988. Destaca especialmente Norteamérica, ya que entre U. S. A. y Canadá se realizaron en 1986 más del 60 por 100 de las transferencias mundiales. En Europa occidental la técnica estaba menos difundida, efectuándose unas 35.000 en 1986 y alcanzando las 50.000

en 1989. Los países europeos que destacan en la técnica son Alemania, Francia, Gran Bretaña y Holanda (Gonsalves y Vidal s.f.).

2.1.3. Transferencia de embriones y mejoramiento genético

La transferencia de embriones es una herramienta de gran utilidad que permite difundir los genes de una hembra valiosa en mayor medida que la reproducción fisiológica tanto para la creación de líneas genéticas como para la difusión del progreso genético. Los programas de superovulación y TE tienen la capacidad de: 1) Aumentar la intensidad de selección: debido al aumento en el número de descendientes por hembra, se reduce el número de madres seleccionadas de una generación para dar lugar a la generación siguiente de reproductores que renovarán el rodeo; 2) Reducir el intervalo intergeneracional: al aumentar en forma rápida las hembras jóvenes, se reduce el intervalo entre las generaciones, se difunden los reproductores de alto valor genético y por tanto se acelera el progreso genético y 3) Difundir la mejora genética: al aumentar la descendencia de hembras de alto valor genético. Vientres inferiores producirán terneros superiores. Esto es muy valioso en rodeos élite, cuya genética podría difundirse al resto de la población bovina a través del uso de la IA. La transferencia de embriones podría ser usada para producir sementales hijos de las mejores vacas y toros disponibles. De esta manera, la industria ganadera comercial se vería muy beneficiada (Colazo et al. 2007; Filipiak et al. 2012).

2.1.4. Hormonas empleadas para la superovulación y su mecanismo de acción.

Para la implementación de un programa de TE es indispensable aumentar la tasa de ovulación de las hembras donantes. Por aquello se utilizan gonadotropinas, especialmente folículo estimulante (FSH), u otras hormonas con efectos similares, como la gonadotropina coriónica equina (eCG).

- Hormona folículo estimulante (FSH)

La FSH es una glicoproteína, la cual es producida por la hipófisis anterior. Promueve la maduración de las gónadas y la producción de esteroides, permitiendo que al organismo para que se pueda reproducir. En las hembras la FSH actúa sobre los folículos, los cuales contienen el ovulo en desarrollo, proporcionando en su crecimiento. Además estimula la secreción de estrógeno y, cuando alcanza un cierto

nivel, suprime la segregación hipofisiaria de la FSH. En lo que respecta a los machos esta hormona favorece en la espermatogénesis (Prieto y Velazquez 2002).

Utilizando Folltropin-V® reportan un promedio de 10.5 embriones recolectados por animal. Esto varía de acuerdo con muchos factores como pueden ser el estado fisiológico del animal, la edad, la alimentación, la raza etc. (Díaz et al. 2012) Cabe añadir que la pérdida de embriones durante el lavado sería un factor importante al momento de evaluar los resultados (Kanawaga et al. 1995). Sin embargo, el número de embriones puede ser variable, de la vaca donante; durante el chequeo ginecológico de la vaca donadora se confirmó la presencia de ocho embriones. (Bó et al. 2006).

- **Gonadotropina coriónica equina (eCG)**

La gonadotropina coriónica equina (eCG) conocida también como gonadotropina sérica de la yegua preñada (PMSG). Se define por su elevado contenido de ácido siálico, el cual es responsable de una extensa larga vida media en la circulación sistémica (40h), además de su capacidad única para imitar la acción de la hormona folículo estimulante (FSH) y de la luteinizante (LH) (Vera 2017).

Al tratamiento básico de superovulación se le puede incorporar en la parte final, la administración de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) o de gonadotropina coriónica humana (Hcg), las cuales provocan la ovulación sincronizada de los folículos maduros (Boeta & Balcázar, 2018).

Tabla 1. Protocolo probado de superovulación con Hcg

Día	Mañana/tarde	Tratamiento vacas	Tratamiento novillas
15-abr	Mañana	HMG (375 U.I FSH)	HMG (275 U.I FSH)
16-abr	Mañana	HMG (300 U.I FSH)	HMG (225 U.I FSH)
16-abr	Tarde	HMG (300 U.I FSH)	HMG (225 U.I FSH)
17-abr	Mañana	HMG (300 U.I FSH)	HMG (225 U.I FSH)
17-abr	Tarde	HMG (300 U.I FSH)	HMG (225 U.I FSH)
18-abr	Mañana	HMG (300 U.I FSH) y prostaglandina F2 α	HMG (200 U.I FSH) y prostaglandina F2 α
18-abr	Tarde	HMG (225 U.I FSH) y prostaglandina F2 α	HMG (200 U.I FSH) y prostaglandina F2 α
19-abr	Mañana	Exploración para comprobar respuesta	
20-abr	Mañana	Inseminación	
20-abr	Tarde	Inseminación y HCG	
21-abr	Mediodía	Inseminación	
27-abr		Recogida de embriones y transferencia	

Fuente: Gorlach (s.f.)

2.1.5. Selección de los animales.

Es aconsejable para poder rentabilizar al máximo la T. E. que las hembras que ceden y reciben el material genético cumplan unas condiciones objetivas mínimas.

- Selección de las donadoras:

La selección de la hembra donante suele basarse en datos genealógicos y productivos. También se presta especial atención al hecho de que provenga de líneas fértiles, que tengan ciclos estrales normales, que no evidencien patologías uterinas, ni antecedentes de distocia y retención de placenta. En cuanto al aspecto sanitario debe contar con su plan de vacunación, desparasitación y que no presenten enfermedades reproductivas. De acuerdo con la condición corporal se verá reflejada en la alimentación que se le administre. Las hembras donantes deben encontrarse en un rango de CC de 3.0 a 4.0 no cebada. En cuanto a las vacas posparto, se necesita de dos a cuatro meses después del nacimiento del ternero para ser seleccionadas. Para seleccionar a novillas estas deben tener un peso vivo de al menos 350kg (Boeta y Balcázar 2018).

Las vacas donantes deben tener el mayor valor genético, zootécnico y productivo, siendo además sexual y genitalmente normales; esta última característica es especialmente interesante ya que, en ejemplares muy valiosos, sus índices productivos suelen ser reflejo de desequilibrios fisiológicos (ciclos irregulares, desajustes hormonales, etc.), que no interesa transmitir a la descendencia. (Gonsalvez y Vidal s.f.).

- Selección del semental

Para este tipo de programas reproductivos es preferente de que se seleccionen toros probados, pues con esto se garantiza la calidad de las futuras crías. Ya que si se usa un toro no probado, los becerros resultantes no tengan buena genética y valgan menos de lo invertido para producirlos (Serrano, 2015). El semental seleccionado que servirá como donador, debe contar con un alto merito genético, además de buena salud, condición corporal de tres o más, no poseer enfermedades reproductivas y contar con los estándares propios de su raza. Se debe tomar en

cuenta en el aspecto reproductivo las características del eyaculado, puesto a que este tiene mucho impacto en la fertilidad y éxito del proceso. Y es así como la calidad del eyaculado del toro donador es un estimador objetivo sobre los resultados del programa de superovulación, transferencia y la tasa de recuperación de los embriones (Boeta y Balcázar 2018).

- Selección de las receptoras

Las características que debe reunir una vaca receptora son las siguientes: - Ser anatómica y funcionalmente normal. -Presentar en el momento de la deposición un cuerpo lúteo funcional y bien desarrollado. (Gonsalvez y Vidal s.f.).

Se debe tener en cuenta las características sanitarias, reproductivas y nutricionales, sin importar su genética. Las vacas receptoras no deben contar con antecedentes de distocia ni retención placentaria, pero si debe poseer habilidad materna, buena condición corporal, ciclos estrales que sean regulares, estar clínicamente sanas, no tener problemas anatómicos en el aparato reproductor y contar con el programa de desparasitación al corriente (Boeta y Balcázar 2018).

Es recomendable que la hembra que cumple el papel de receptora haya tenido por lo menos dos o tres partos, y contar con más de 80 días posparto. A pesar de que la raza no es un factor significativo, por lo general se detalla que las vacas cruzadas poseen mayor fertilidad (Unión Ganadera Regional de Jalisco 2023).

Un tema controvertido a considerar es la edad de la receptora. Algunos autores sostienen que los mejores resultados se obtienen cuando se utilizan novillas nulíparas (que hayan alcanzado un adecuado desarrollo) debido a que dan tasas de preñez más altas que las vacas. Sin embargo, hay tener en cuenta que los problemas de manejo durante la transferencia, la gestación, el parto y la lactancia pueden producir resultados finales inferiores. Por otro lado, se encuentran los autores que consideran que las vacas multíparas son las receptoras óptimas puesto que cuentan con historial reproductivo conocido lo que garantiza en cierta manera su comportamiento futuro. Además, a esto se suma el hecho de que los problemas de parto son menores y la producción de leche es. En este último caso, es importante que la vaca adulta haya tenido siempre buena fertilidad. (García 2021)

2.1.6. Protocolos de superovulación

La superovulación se la define como el aumento del número fisiológico de ovulaciones características de las especies, causadas por la administración de gonadotropinas. En el ganado bovino es considerada como una respuesta al tratamiento cuando se ocasionan más de dos ovulaciones (Mogollón y Burla 2013).

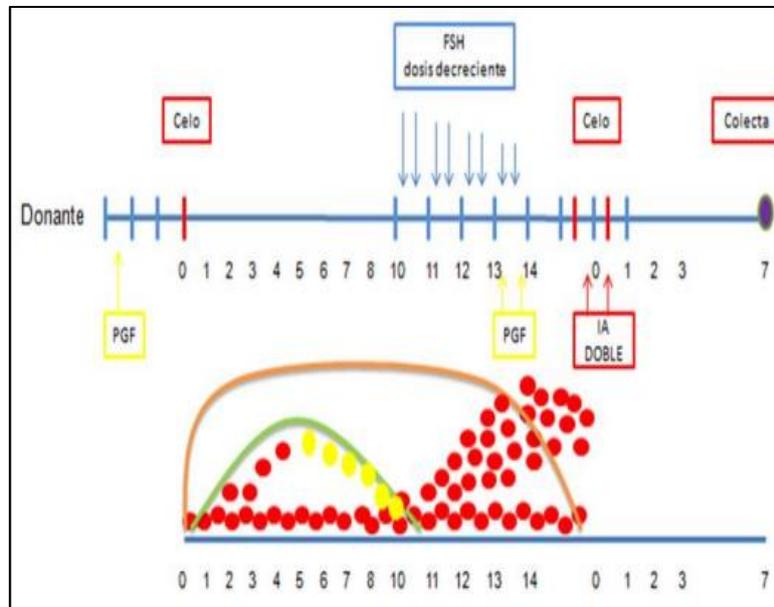


Figura 1: Sincronización y superovulación mediante FSH y prostaglandina
Fuente: Gorch (2011).

Para las hembras bovinas en la sincronización se hace uso de prostaglandinas antes de empezar con el protocolo de superovulación, de tal manera que la aplicación de FSH a las hembras donadoras comienza entre nueve y diez días posteriores del celo sincronizado. (Boeta y Balcázar 2018)

Tabla 2. Ejemplo de un protocolo de sincronización, superovulación y transferencia de embriones.

Día	Hembras donadoras	Hembras receptoras
Inicio del tratamiento 0	Colocar CIDR y PGF2a	Colocar CIDR y PGF2a
8	FSH, am y pm	
9	FSH, am y pm	
10	FSH, am y pm Retirar CIDR	150 UI de eCG Retirar CIDR
11	FSH, am y pm Detección de estros Monta o IA	Detección de estros
Presentación del celo 0	Detección de estros Monta o IA	Detección de estros
6	Dietado de sólidos y líquidos	Dietado de sólidos y líquidos
7	Lavado para recuperación de embriones PGF2a	Transferencia de embriones

Fuente: Lopez y Balcazar (2018)

2.1.7. Métodos de obtención o recolección de embriones

Actualmente, todas las recolecciones de embriones bovinos disponibles comercialmente son procedimientos no quirúrgicos los cuales requieren de la inserción de un catéter transcervical en los cuernos uterinos (Ponce 2015).

El procedimiento a seguir para la recolección de embriones:

1. Antes de empezar se debe preparar el material. Se utiliza una sonda Foley de 2 o 3 vías con un balón inflable, además de un estilete de acero inoxidable estéril el cual estaría insertado a lo largo de toda la longitud de la sonda para proporcionar rigidez para la inserción en el útero por medio de la manipulación transrectal. Si es necesario se pueden utilizar dilatadores o pinzas cervicales para dilatar o tirar el canal cervical.
2. Generalmente se realiza tacto rectal y/o ecografía transrectal para tener una idea general de la respuesta de la hembra donante a la superovulación y estimar el número aproximado a extraer.
3. Se aplica anestesia epidural baja usando de 4-6 ml de lidocaína al 2% con la finalidad de prevenir los empujes rectales o la evacuación.
4. Se lleva a cabo la desinfección de la zona vulvar y perianal.

5. Colecta. El calibre del catéter o sonda de Foley depende del tamaño y la edad de la hembra donante. 14 French (Fr) para las novillas, 16 Fr para vacas y 18 o 20 Fr para bovinas de mayor tamaño (Concepcion, 2019). El acceso se realiza por vía transcervical con la sonda de Foley. El cual se fija inflando el balón en el cuero del útero y, si se irriga por separado sería en cada uno de los cuernos. Una vez que el catéter esté colocado se retira el estilete.

6. La sonda se conecta a un tubo en Y con conexión Foley, por medio del cual se suministrará el medio para el lavado. La parte que sobra de la unión en Y se encuentra unida a una tubería, la cual conecta con un filtro. Los embriones los cuales son más grandes que los poros (160 μm) persisten en el filtro con una considerable cantidad de líquido para evitar su desecación.

7. La luz uterina se procede a lavar con un medio específico, buffer fosfato salino (PBS). La cual es una solución acuosa y salina tamponada a la que se le añade glucosa y piruvato como fuente de energía para el desarrollo embrionario y la estabilización de la membrana. En cuanto la solución es introducida, se procede a realizar un suave masaje de los cuernos uterinos para que los embriones que están en los pliegues sean arrastrados hacia el exterior (Vega 2021)

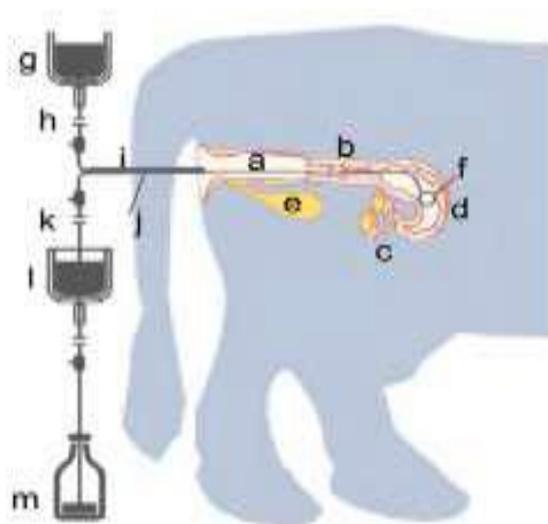


Figura 2: Sistema de lavado y colocación de la sonda de Foley para la recuperación de embriones en bovinos y equinos. **a**, vagina; **b**, cervix; **c**, ovarios; **d**, útero; **e**, vejiga; **f**, bulbo de la sonda de Foley que no permite el paso de líquido hacia el cervix; **g**, solución para el lavado; **h**, pinzas para control del paso del fluido; **i**, manguera de dos vías; **j**, válvula; **k**, pinzas para el control del paso del fluido; **l**, contenedor con filtro para la recolección de embriones; **m**, contenedor para el exceso de fluido de lavado.

Fuente: López (2018).

2.1.8. Evaluación de embriones

Una vez adquiridos los embriones se deben evaluar y clasificar de acuerdo a las especificaciones del Manual de la IETS para su transferencia en fresco o criopreservación (Naranjo 2019).

La clasificación de acuerdo al estado de desarrollo del embrión va desde el estadio “1” (ovocito sin fecundar) extendiéndose hasta el número 9 (blastocito expandido eclosionado); en tanto al estado cualitativo se clasifica del “1” (excelente/bueno) hasta el “4” (muerto/degenerado). (Ponce 2015)

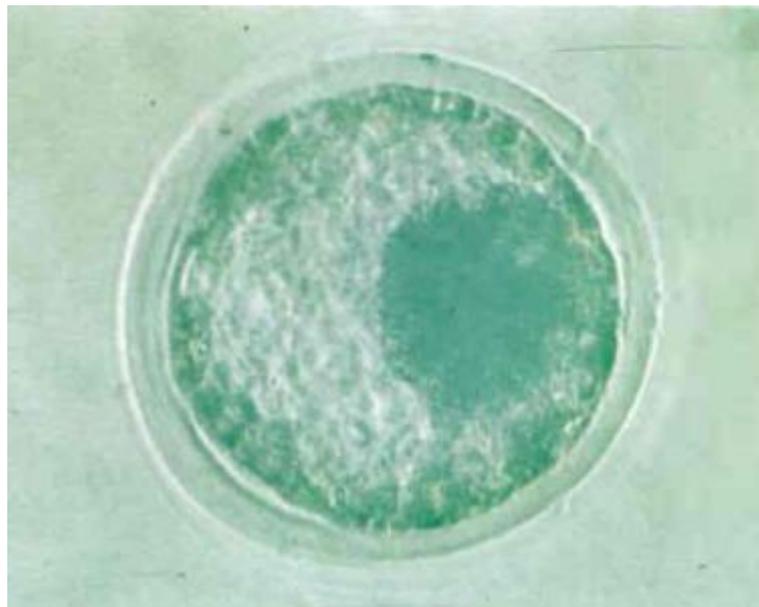


Figura 3: Blastocito de 8 días, donde se puede apreciar la zona pelúcida
Fuente: Ponce (2015)

La clasificación de los embriones según el estado de desarrollo:

1. Sin fecundar: en esta fase se observa una sola célula, la cual ocupa el espacio embrionario, en donde se asume que es un ovocito sin fecundar.
2. Células: generalmente se encuentran en el oviducto, en las hembras donde la obtención se llevó a cabo alrededor del día 5 posterior al celo, por tanto si se encuentra en vacas donde la extracción fue en los días 6-8 suele indicar muerte o degeneración. Por lo que esas estructuras no se consideran útiles ni para la criopreservación ni la transferencia en fresco.

3. Mórula temprana: los blastómeros son complicados de diferenciar uno de otros; en esta fase el embrión tiene alrededor de cinco días.
4. Mórula compacta: los blastómeros se encuentran aglomerados, invadiendo aproximadamente el 60-70% del espacio perivitelino, que hace difícil su diferenciación
5. Blastocito joven: la principal peculiaridad del blastocito es la presencia de líquido dentro de la cavidad blastocele. Los trofoblastos ya diferenciados son claramente visibles entre el blastocele y la zona pelúcida.
6. Blastocito: se evidencia una cavidad (blastocele) completa en su interior de líquido. El embrión en esta fase ocupa alrededor del 70 a 80% del espacio vitelino
7. Blastocito expandido: en esta etapa es la primera en aumentar significativamente su tamaño respecto a etapas anteriores, el blastocele ocupa la mayor parte del espacio interno y el espacio perivitelino desaparece.
8. Blastocito eclosionado: el blastocito suele encontrarse liberado de la zona pelúcida. Los embriones son esféricos con un marcado blastocele.
9. Blastocito expandido eclosionado: es igual que el anterior, excepto por el tamaño. Estas estructuras no se encuentran si el lavado uterino se realiza antes del 8vo día después del celo. No se recomienda su comercialización. (Jahnke et al. 2015)

<i>Secuencia de desarrollo</i>	<i>Horas desde el inicio del estro</i>	<i>Días desde el inicio del estro</i>	<i>Imágen</i>
Estro	0	0	
Ovulación	30-32	1	
Fecundación	33		
2 células	46-56	2	
4 células	50-66	3	
8 células	60-90	4	
16-32 células	90-125	5	
Mórula (30-64 células)	120-145	6	
Blastocisto joven	140-175	7	
Blastocisto expandido	170-210	8-9	
Blastocisto eclosionado		10	

Figura 4: Estadios de desarrollo embrionario. Las mayores tasas de gestación se obtienen con mórulas compactas y blastocistos jóvenes, es decir, cuando han transcurrido 6-7 días después del estro

Fuente: Jahnke et al. (2015)}

2.1.9. Transferencia de embriones a la hembra receptora

De acuerdo con la técnica de transferencia de los embriones se realiza de forma directa a través del cuello uterino de manera igual a la inseminación artificial (IA):

- a. En primeras instancias, se debe extraer las heces del recto, posteriormente se explora para establecer en que ovario se encuentra el cuerpo lúteo.
- b. Es preferible que se utilice anestesia epidural para evitar que el animal empuje y por ende defeque.
- c. Luego se procede a lavar y desinfectar la zona perianal y vulvar. Es considerable disminuir la contaminación del útero, puesto a que en la fase luteínica es más susceptible a las infecciones.
- d. Se instala la pajuela en la pistola de transferencia cortando de un extremo para permitir la salida del embrión. Es muy importante la ubicación de una funda sanitaria en la pistola.
- e. El embrión se debe colocar en el tercio anterior del cuerno uterino ipsilateral al cuerpo lúteo. (Vega 2021)



Figura 5: Transferencia del embrión a la hembra receptora. Se realiza la deposición del mismo cuerno uterino ipsilateral al CL

Fuente: Fuentes (2015)

Se ha demostrado una correlación negativa entre el tiempo empleado a manipular el cuello y los cuernos uterinos y las tasas de gestación. Además, si se traumatiza el endometrio, se producirán hemorragias y la sangre resulta tóxica para el embrión.

Inicialmente, el fracaso suele estar determinado por la falta de habilidad, mejorando las tasas de preñez con la experiencia. En cualquier caso, la identificación temprana de las receptoras no gestantes permite su reutilización de forma eficiente y económica. De las vacas diagnosticadas gestantes por ecografía el día 28, el 13,5% va a experimentar reabsorción embrionaria temprana (Mónaco 2020). Por ello, deben ser reexaminadas 60 días después. Este momento también es excelente para el sexaje fetal (entre el día 55 y el 70). Cada receptora podrá tener tres oportunidades "buenas" para quedar gestante, puesto que las tasas de gestación en la primera y segunda transferencia son similares, comenzando a disminuir a partir de la tercera. Luego de esto, la caída es alta y no justifica el mantenimiento de esta hembra. La tasa de abortos en las receptoras utilizadas para TE suele ser ligeramente superior a la de vacas que han quedado gestantes de forma "natural" (Alberio, 2004).

2.1.10. Criopreservación de embriones

El almacenamiento de los embriones persigue mantenerlos sin mortalidad ni perjuicio de sus células, desde la recogida hasta la deposición. En el líquido de lavado los embriones bovinos, a temperatura ambiente (entre 18 y 20° C), se pueden mantener poco más de cinco horas. Entre 0 y 4° C se pueden conservar de veinticuatro a cuarenta y ocho horas, con unos niveles de fertilidad sólo ligeramente peores que sin almacenar; a esta temperatura existen referencias que alcanzan aún los cuatro-cinco días de conservación en unas condiciones aceptables. (Gonsalvez y Vidal S.f.)

En resumen, la calidad de la conservación se mide en días y en porcentajes de viabilidad obtenidos, ambas variables dependen de la temperatura. La conservación por congelación dentro de tanques de nitrógeno líquido (-196° C), supuso un paso muy importante en la generalización de la transferencia de los embriones bovinos. Las ventajas más señaladas de la congelación son las siguientes:

1. Conservación de material genético por largos períodos de tiempo.
2. Metodología relativamente sencilla y económica.
3. Facilita el transporte y el comercio nacional e internacional.

A pesar de estas ventajas, la congelación tiene todavía hoy la importante desventaja de reducir sensiblemente los porcentajes de fertilidad conseguido. (Gonsalvez y Vidal S.f.)

2.1.11. Descongelamiento

Los embriones que son congelados implementando métodos tradicionales con etilenglicol o glicerina deben descongelarse de forma inmediata para prevenir daños estructurales que disminuyan la probabilidad de supervivencia. Un protocolo común implica mantener las pajillas alrededor de 5 a 10 segundos al aire luego de ser extraídas del NL, con esto se evita que la zona pelúcida se rompa, posteriormente se sumergen en agua a 25-37°C hasta que el hielo se haya derretido por completo, esto en aproximadamente 30 segundos (Boeta y Balcázar 2018).

Sin embargo, el método de congelación/descongelación es un proceso que requiere emplear bastante tiempo y además, obliga a la utilización de congeladores biológicos. Por ello, se ha desarrollado una técnica mucho más sencilla: la vitrificación. Esta tecnología consiste en deshidratar al embrión a temperatura ambiente a través de un medio muy concentrado con distintas mezclas de crioprotectores, seguido de un enfriamiento ultrarrápido para lograr que aumente la viscosidad de la solución hasta asemejarse al vidrio (estado "vítreo"). Con esta técnica se evita la formación de cristales de hielo intracelulares (Fernández 2014).

Las soluciones de vitrificación mantienen la distribución iónica y molecular de un líquido, pero en un estado sobreenfriado y extremadamente viscoso (Córdova et al. 2015), gracias a ello, toman la forma de las células y permiten mantener intacta su estructura. La probabilidad de que una solución vitrifique aumenta a medida que el volumen se reduce, lo que ha conducido a desarrollar diversos soportes en los que depositar los embriones durante el proceso (Arav 2014; García et al. 2017).

La vitrificación es una técnica sencilla, de fácil ejecución, costo-eficiente y con tasas de gestación aceptables, por lo que se ha convertido en una tecnología muy interesante, capaz de reemplazar a la congelación convencional, especialmente cuando se intentan conservar embriones sensibles a la criopreservación como los producidos in vitro (Zárate 2018). Con todo, las tasas de gestación obtenidas con embriones criopreservados son del 56,1%, ligeramente inferiores a las obtenidas al transferir embriones frescos (68,3%) (Faizah et al. 2018).

Por ello, se están investigando alternativas que permitan incrementar las tasas de gestación de embriones criopreservados. Una técnica novedosa que parece solucionar este problema es la blastocentesis. El día 7, el embrión bovino (blastocisto), tiene una cavidad central llena de fluido llamada blastocele. Esta técnica consiste en reducir de manera artificial el volumen de esta cavidad mediante micro manipuladores, microagujas, micropipeta y un microscopio invertido. Al tratarse de un procedimiento muy novedoso, no hay información de su utilización en embriones bovinos previo a su criopreservación (Zárate 2018)

2.1.12. Vitrificación

La vitrificación se refiere al proceso físico de solidificación de una solución a bajas temperaturas sin la formación de cristales de hielo. El fenómeno puede ser considerado como un incremento extremo de la viscosidad, que requiere de altas tasas de enfriamiento y calentamiento (Vajta y Kuwayama 2006). La vitrificación es un proceso físico de solidificación utilizado para conservar órganos, tejidos, embriones y gametos. La solución vitrificante lleva incorporados crioprotectores en alta concentración. Al ser enfriada no cristaliza, sino que se torna viscosa y pasa del estado líquido a un estado sólido no estructurado similar al vidrio, tomando de ahí su nombre. Todo el procedimiento desde el equilibrio hasta la inmersión en NL no requiere más de 10 minutos. Esta alternativa no necesita de equipos costosos de congelación, además este método elimina la formación de cristales de hielo intra y extra celular que son letales para las células, y sobre todo porque se puede utilizar directamente en terreno para programas de transferencia embrionaria. La vitrificación ha sido utilizada exitosamente como método de congelación de ovocitos y embriones de diversas especies (Vatja et al. 1997).

2.2. MARCO METODOLÓGICO

En la elaboración del presente documento se recopiló información actualizada como artículos científicos, sitios web y bibliotecas virtuales que aporten opiniones e ideas de autores que permitirán estudiar el proceso de la presente investigación. Se especificó la temática relevante sobre el uso transferencia de embriones para el mejoramiento en el ganado bovino. El presente trabajo se desarrolló como una

investigación de carácter bibliográfico, mediante el uso de síntesis, análisis, y resumen de información de fuentes confiables y viables de revistas indexadas, artículos científicos, trabajos de grados, libros y demás que contengan información sobre el uso transferencia de embriones para el mejoramiento en el ganado bovino.

2.3. RESULTADOS

Una vaca normalmente produce una cría por año, y a lo largo de su vida producirá de 6 a 8 terneros. Con inseminación artificial se puede obtener múltiples crías de un semental. Pero con la transferencia de embriones, se logra producir más de cien crías de una sola vaca durante toda su vida reproductiva, lo que ha facilitado el mejoramiento genético con el consecuente ascenso de la producción de leche y carne. Es una biotecnología compleja requiere de mucha práctica y conocimientos, debe efectuarse bajo protocolos estrictos de bioseguridad tanto para los espermatozoides, óvulos y embriones, esto para disminuir la mortalidad de los mismos.

La transferencia de embriones es un método que consiste en implementar una hembra bovina como donadora, por medio de un tratamiento hormonal e inseminación con un toro probado cuyo valor genético sea alto. Esto para producir varios embriones que luego de siete días serán extraídos y transferidos a una hembra receptora, previamente sincronizada. El proceso radica en superovular a vacas elite de producción alta, con la finalidad de multiplicar su genética, y aunque la receptora no transmite particularidades genéticas a las nuevas crías, puesto a que su papel es solo de mantenerlas hasta el parto y durante el proceso de lactancia, es importante cuidar de su proceso de elección, manejo, preparación y una buena nutrición para la implantación y el desarrollo de los embriones transferidos.

La transferencia de embriones aumenta la tasa de preñez en comparación con la inseminación artificial, y el adecuado protocolo mejora los resultados, por ejemplo el uso de Folltropin-V® permitió conseguir un promedio de 10.5 embriones recolectados por animal. Asimismo se han desarrollado nuevas técnicas que han sido relacionadas con la transferencia de embriones, actualmente se combina con el semen sexado, lo que ayuda a obtener animales con el sexo que se desea con un 90% de eficiencia, también está la fertilización in vitro y la micro manipulación.

Existen otros factores que influyen para tener resultados óptimos como el estado fisiológico, edad, alimentación y la raza, un factor significativo al momento de evaluar los resultados es la pérdida de embriones al momento del lavado. Así como influye el realizar el proceso en fresco o en forma congelada, siendo que en un estudio realizado con 80 vacas reproductivas activas de las razas Brown Swiss y simmental, de los cuales se seleccionaron a 12 vacas receptoras de embriones de la raza Brown swiss cruzadas, seleccionadas al azar obteniendo los siguientes resultados:

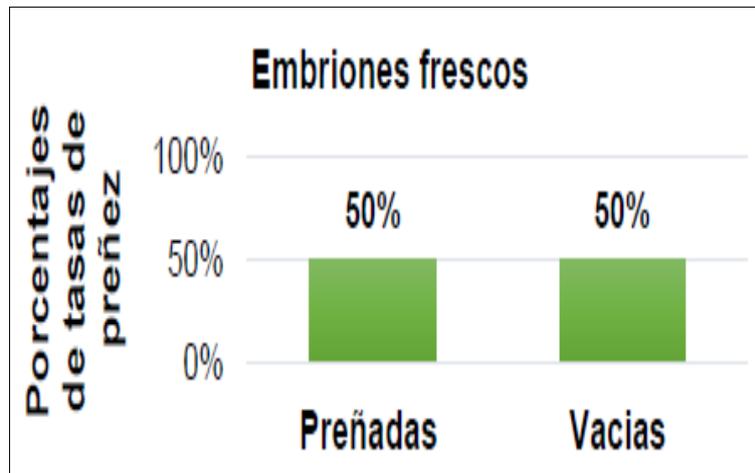


Figura 6: Porcentaje de la tasa de preñez en vacas receptoras Brown Swiss cruzadas, transferidas con embriones frescos.

Fuente: Inga, Murga y Cayo (2021)

Resultó que el 50% de las vacas receptoras, a las que se les transfirió embriones en fresco en estadio de blastocito inicial de buena calidad, quedaron preñadas, mientras que el 50% de las vacas vacías no respondieron al proceso de transferencia de embriones.

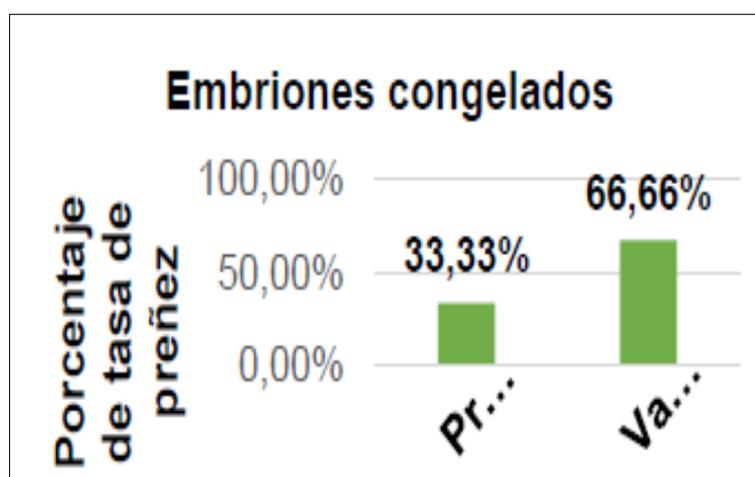


Figura 7: Porcentaje de la tasa de preñez en vacas receptoras Brown Swiss cruzadas, transferidas con embriones congelados

Fuente: Inga, Murga y Cayo (2021)

La tasa de preñez en hembras receptoras Brown Swiss, cruzadas transferidas con embriones congelados en estadio blastocito inicial de buena calidad, es de 33,33%, mientras que un 66,66% no respondieron a la transferencia de embriones.

Como logramos identificar con estos resultados a pesar de la ventaja en el porcentaje de preñez, la congelación tiene el gran inconveniente de reducir significativamente la fertilidad alcanzada.

La edad en las receptoras también tiene efecto sobre el índice de preñez. Señalando que las vaquillonas poseen ventajas porque ingieren menos alimento, teniendo mejor respuesta a la sincronización aplicando PG, obteniendo un índice de preñez de 5% mayor que las vacas. También influyen la elección, manejo y la preparación de las hembras receptoras.

Tabla 3. Efecto de la edad de la receptora sobre el índice de preñez de TE.

Edad	Transferencias	Preñadas	%
Vaquillonas	2689	1887	70,2%
Vacas	2380	1566	65,8%

Fuente: Ninabanda (2022)

2.4. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La transferencia de embriones aumenta la tasa de preñez y permite obtener en poco tiempo mayor número de crías de animales, con alto valor genético, en comparación con otras técnicas de biotecnología reproductiva, como la inseminación artificial. También permite incrementar favorablemente la multiplicación y transporte de material genético y almacenar estos recursos genéticos, sobre todo los considerados exclusivos para que puedan disponerse con relativa facilidad en un futuro.

La importancia de la transferencia de embriones está enmarcada en relación a que permite acelerar el progreso genético, se puede fructificar el potencial de hembras de alta genética, acortar el intervalo generacional e intensificar la natalidad por partos dobles, así como controlar el sexo de las crías y procrear terneros con mejores posibilidades de supervivencia y adaptación al medio de nuestra producción ganadera. Des del punto de vista Medioambiental permite la conservación de especies en extinción y la formación de nuevas razas con pocos donantes. También se logra tener un mejor control de enfermedades, mezclar genotipos (quimeras), producir

gemelos hasta cuatrillizos, por la micro manipulación, y sobre todo mantener embriones por largo tiempo, a través de la conservación.

Existen diversos factores que influyen en la tasa de preñez, algunos de estos relacionados con la selección de semental y donadora, manejar adecuadamente los protocolos para la superovulación de las donadoras, obtener la mayor cantidad de ovocitos viables para ser fertilizados y luego recolectar embriones transferibles con elevadas posibilidades de producir preñez. Así también otro factor esencial es la selección de las receptoras que como indica Chuga, et al., (2020) la selección de las vacas receptoras desde la perspectiva genética no posee mucha mayor consecuencia en la transferencia de embriones. Sin embargo, no se debe excluir que la habilidad materna, las condiciones climáticas, el correcto manejo y una buena nutrición influyen sobre la implantación y el desarrollo de los embriones transferidos.

Como se indica en los resultados otro de los factores es el protocolo utilizado, esto concuerda con lo investigado por Díaz et al. (2012), Mejía y Vásquez (2002) experimentando que el uso de Folltropin-V® les permitió conseguir un promedio mayor de embriones recolectados por animal, además indican que obtuvieron una respuesta superovulatorios del 100% utilizando Folltropin® en la evaluación de la técnica de transferencia de embriones.

Existe también una diferenciación en los resultados de las tasas de gestación obtenidas con embriones congelados inferiores a las obtenidas al transferir embriones frescos. Por ello, se están investigando alternativas que permitan incrementar las tasas de gestación de embriones congelados. Zarate (2018) explica que como solución a esta problemática existe una técnica novedosa, la blastocentesis. El día 7, el embrión bovino, blastocisto, tiene una cavidad central llena de fluido llamada blastocele. Esta técnica consiste en reducir de manera artificial el volumen de esta cavidad mediante micromanipuladores, microagujas, micropipeta y un microscopio invertido. Al tratarse de un procedimiento muy novedoso, no hay información de su utilización en embriones bovinos previo a su criopreservación.

3. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

3.1. CONCLUSIONES

La transferencia de embriones es una biotecnología compleja la cual requiere de mucha práctica y conocimientos para obtener resultados favorables. Es una herramienta muy importante para el mejoramiento genético y así Mediante este proceso se consigue preservar la genética de animales con alto valor genético y así mejorar la productividad en el sector agropecuario.

Existen varios factores que influyen en los índices de preñez con relación a los donantes, receptoras, calidad, tipo y desarrollo del embrión, así como el adecuado protocolo y las técnicas empleadas. Las hembras donadoras para el proceso de selección deben cumplir varios parámetros y tener en consideración la raza, edad, estado nutricional, estado sanitario, estado fisiológico para posteriormente ser sometida a un proceso de superovulación y sincronización, con la finalidad de obtener embriones en gran cantidad y de excelente calidad. Las hembras receptoras pasan también por un proceso de elección, es indispensable realizar un buen manejo y preparación para el éxito o fracaso de la transferencia de embriones. La técnica debe efectuarse bajo protocolos estrictos de bioseguridad tanto para los espermatozoides, óvulos y embriones, esto para disminuir la mortalidad de los mismos.

El momento ideal para la recuperación de los embriones es 6-8 días después del comienzo del estro. Los índices de preñez más altos se producen con embriones de excelente y buena calidad, que corresponde a las etapas de desarrollo de mórula compacta a blastocito.

3.2. RECOMENDACIONES

Dar continuidad a las investigaciones sobre el uso de la biotecnología reproductiva para el mejoramiento en el ganado bovino mediante la transferencia de embriones.

Recurrir a esta investigación como guía y motivación para la realización de nuevas Investigaciones y prácticas que permitan a los estudiantes de la universidad UTB, ganaderos locales y provinciales conocer sobre los beneficios que proporciona la transferencia de embriones.

Realizar prácticas de esta biotecnología para profundizar conocimientos sobre los protocolos, selección de los animales, métodos de obtención, transferencia, congelación, criopreservación, vitrificación y descongelamiento en el hato ganadero de nuestra master universidad.

4. REFERENCIAS Y ANEXOS

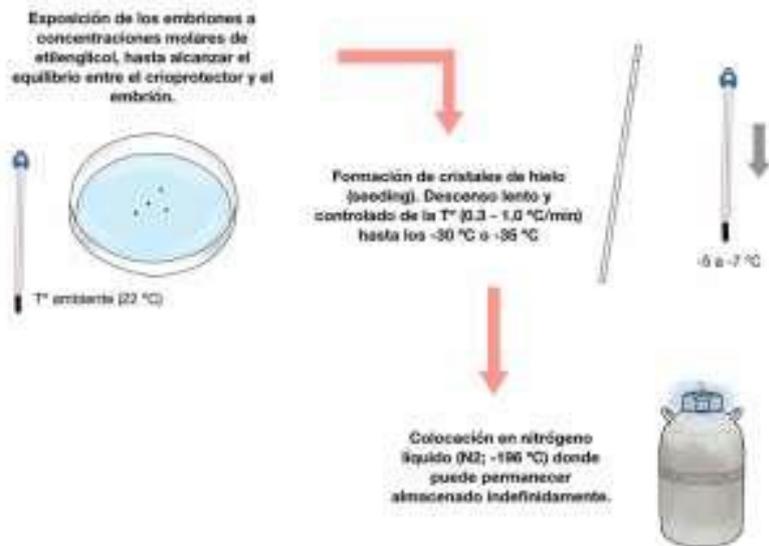
4.1 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Chuga, W; Martinez, R; Ceron, S; Jativa, D; Chamorro, B; Chiran, G; Proaño, M 2020. Transferencia de embriones en bovinos en la Provincia de Carchi. Sathiri sembrador, 16(2), 98-106. Disponible en <https://doi.org/10.32645/13906925.1074>
- Fuentes, S. 2015. Incremento del porcentaje de gestación en la transferencia de embriones bovinos de aptitud láctea mediante tratamientos hormonales de sincronización y postransferencia de la hembra receptora. Tesis. Doctoral. Universidad de León. España. 200-204
- Garcia, F. 2021. Biotecnología embrionaria: Transferencia de embriones en ganado vacuno. Trabajo de grado. Universidad de Santiago de Compostela. Disponible en https://minerva.usc.es/xmlui/bitstream/handle/10347/30414/2021_TFG_Veterinaria_Garcia_Biotecnologia.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Garcia, P; Quintela, L; Becerra, J; y Peña, A. 2018. La transferencia de embriones en bovinos. Disponible en Portal Veterinaria : <https://www.portalveterinaria.com/rumiantes/articulos/14123/la-transferenciade-embriones-en-bovinos.html>
- Monaco, D. 2020. Applicazione di bio cnologie riproduttive in animali in allevamento intensivo.
- Moore, S. y Hasler, J. 2017. Reproductive technologies in dairy science. Dairy Sci.
- Reese, S; Franco, G; Poole, R; Capucha, R 2020. Pérdida de gestación en ganado de carne: un metaanálisis. Anim Reprod Ciencia, 212(10). Disponible en <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31864492/>

- Vasquez, H. 2016. Influencia de factores socio-economicos en la adopcion de tecnologias para el mejoramiento genetico del ganado vacuno, Distrito Florida, Amazonas, Peru. Tesis de grado. Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima-Peru. Disponible en <https://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12996/2710/L10-V387-T.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Bó, G.; Moreno, D.; Cutaia, L.; Caccia, M.; Tríbulo, R.; Tríbulo, H. 2006. Transferencia de embriones a tiempo fijo: tratamientos y factores que afectan los índices de preñez. Educación Continua. UNCPBA.
- Chuga, W; Martinez, R; Ceron, S; Jativa, D; Chamorro, B; Chiran, G; Proaño, M 2020. Transferencia de embriones en bovinos en la Provincia de Carchi. Sathiri sembrador, 16(2), 98-106. Disponible en <https://doi.org/10.32645/13906925.1074>
- Fuentes, S. 2015. Incremento del porcentaje de gestación en la transferencia de embriones bovinos de aptitud láctea mediante tratamientos hormonales de sincronización y postransferencia de la hembra receptora. Tesis. Doctoral. Universidad de León. España. 200-204
- Garcia, F. 2021. Biotecnología embrionaria: Transferencia de embriones en ganado vacuno. Trabajo de grado. Universidad de Santiago de Compostela. Disponible en https://minerva.usc.es/xmlui/bitstream/handle/10347/30414/2021_TFG_Veterinaria_Garcia_Biotecnologia.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Garcia, P; Quintela, L; Becerra, J; & Peña, A. 2018. La transferencia de embriones en bovinos. Portal Veterinaria Disponible en <https://www.portalveterinaria.com/rumiantes/articulos/14123/la-transferencia-de-embriones-en-bovinos.html>
- Gonsalvez y Vidal. S.f. LA TRANSFERENCIA EMBRIONARIA EN EL GANADO VACUNO. Secretaria General de Estructuras agrarias. Madrid
- Mapletoft, R. y Bó, G. 2013. ¿Qué novedades hay en la superovulación de ganado vacuno? X Simposio Internacional De Reproduccion Animal – Irac, 257-267

- Monaco, D. 2020. Applicazione di biotecnologie riproduttive in animali in allevamento intensivo.
- Moore, S. y Hasler, J. 2017. Reproductive technologies in dairy science. Dairy Sci.
- Pacheco, J; Velez, V. y Pezo, D. 2016. Evaluación de la eficiencia de la transferencia de embriones interespecie entre alpacas y llamas obtenidos por ovulación simple. Rev. investig. vet. Perú. doi:<http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v27i1.11464>
- Palma, G. 2001 Biotecnología de la Reproducción. En: Biotecnología de la Reproducción, capítulo I, Ediciones INTA, Balcare. Argentina.
- Rosete, J; Alvarez, H; Urban, D. y Fragoso, A. 2022. Biotecnologías reproductivas en el ganado bovino. Mexico: Rev. mex. de cienc. pecuarias.
- UGRJ. 2023. Transferencia de embriones en ganado bovino. Union Ganadera Regional de Jalisco , 19-24.
- Vasquez, H. 2016. Influencia de factores socio-economicos en la adopcion de tecnologias para el mejoramiento genetico del ganado vacuno, Distrito Florida, Amazonas, Peru. Tesis de grado. Universidad Nacional Agraria La Molina, Peru. Disponible en:<https://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12996/2710/L10-V387-T.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Vera, J. 2017. Efecto del celo y el tratamiento con GnRH sobre la tasa de concepcion en programas de inseminacion artificial y transferencia de embriones bovinos. Tesis de grado. Instituto de Reproduccion Animal Cordoba, Cordoba. Disponible en <https://iracbiogen.com/wp-content/uploads/2021/06/EFEECTO-DEL-CELO-Y-EL-TRATAMIENTO-CON-GnRH-SOBRE-LA-TASA-DE-CONCEPCION-EN-PROGRAMAS-DE-INSEMINACION-ARTIFICIAL-Y-TRANSFERENC.pdf>

4.2 ANEXOS



Anexo 1.- Pasos para el congelamiento lento de embriones.



Anexo 2.- Ovocito maduro.



Anexo 3.- Terneros raza Simmental, producidos por transferencia embrionaria.