

**ACTUALIZACIÓN DE PROTOCOLOS DE TRANSFERENCIA DE EMBRIONES A TIEMPO  
FIJO**

**(Revisión de literatura)**

**EMBRYO TRANSFER PROTOCOLS UPDATE AT FIXED TIME**

**(literature review)**

**Santiago Hernandez Andrade**

**Estudiante del seminario de profundización en reproducción**

**Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Cooperativa de Colombia,  
Sede Ibagué**

**Santiago.hernandez@campusucc.edu.co**



## Resumen

El uso de biotecnologías aplicadas al ganado bovino ha sido uno de los grandes avances en el mejoramiento genético, ya que permite fortalecer la vida útil de los animales de alto valor, produciendo mucho mas animales por año que en estado natural no se podría. En la actualidad se están mejorando los protocolos aplicados a esta tecnología con el fin de fortalecer y mejorar los resultados obtenidos años atrás disminuyendo la inversión y promoviendo la tecnología a diferentes lugares en el mundo. La transferencia de embriones posee números procesos de sincronización, superovulacion , manipulación transferencia que dependen de gran medida de los grandes conocimientos y aplicaciones que puede lograr hacer el médico veterinario a cargo de los procesos reproductivos del establecimiento.

**Palabras claves:** sincronización, superovulación, transferencia

## ABSTRACT

The use of biotechnology applied to cattle has been one of the major advances in genetic improvement, as it allows to strengthen the useful life of animals of high value, producing much more animals per year that in natural state could not. The protocols applied to this technology are currently being improved in order to strengthen and improve the results obtained years ago by reducing investment and promoting technology to different places in the world. The transfer of embryos has numbers processes of synchronization, superovulation, manipulation transference that depend largely on the great knowledge and applications that can be achieved by the veterinary surgeon in charge of the reproductive processes of the establishment.

**Keywords:** synchronization, superovulation, transfer

## INTRODUCCION

La transferencia de embriones en ganado bovino ha sido una técnica muy revolucionaria y muy eficaz a la hora de aumentar y mejorar el numero de animales en producción mejorando la eficacia de cada animal en su tiempo de vida. Existen numerosos protocolos que manipulan los ciclos estrales y ovulación que permiten que el medico veterinario evalúe sus ventajas y desventajas determinando cual es el mejor tipo de protocolo teniendo en cuenta la fisiología reproductiva, anatomía, raza del animal y medio ambiente.

El uso de las diferentes biotecnologías aplicadas a la reproducción bovina es el principal factor para el mejoramiento genético permitiendo mejorar la producción por animal aumentando la población bovina con una genética mejorada de excelentes ejemplares.

Hay numerosos elementos que dañifican o perjudican la detención de celos. Uno de los mas comunes es la persona encargada de la observación y descubrimiento del celo de los animales que en muchos casos se distraen observando diferentes elementos del entorno afectando la detección de estos. Otro factor clave es la interpretación de los signos del celo además del mal uso de los dispositivos que ayudan a la detección de celos (1). Otro elemento clave que afecta estos procesos productivos es el tipo de raza de animal o el cruce de este, un ejemplo clave son los bovinos *Bos indicus* que tiene una menor duración del celo y sus signos pueden expresarse en horas nocturnas (2).

## **Transferencia de embriones**

La transferencia de embriones es un método de adquisición de ovulos una hembra donante y su traspaso al aparato reproductor de otra hembra llamada la receptora de la misma especie, donde se desarrolla la gestación y se produce el parto (3).

La transferencia de embriones posee dificultades técnicas y fisiológicas lo cual no puede aspirar a reemplazar a la inseminación artificial. Las propiedades utilizadas de estos animales seleccionados pueden consagrar un medio de progreso a través de la mayor utilización del material genético de los individuos donadores (4).

La gestación de una vaca ocupa el 77.5% de días del año por tal motivo tiene solo una cría por año, lo que significa que en su vida productiva tendrá de 6 a 8 crías. Por medio de la inseminación artificial se pueden obtener miles de crías de un toro, con la transferencia de embriones se han adquirido más de cien crías de una vaca durante su vida productiva; lo que favorece el mejoramiento genético, incrementando la producción láctea o cárnica (5).

La técnica posee bastantes ventajas como el aprovechamiento al máximo del potencial genético y reproductivo de hembras muy valiosas, uso de vientres de animales sanos y fuentes de escaso valor genético, intercambio de material genético internacionalmente, incluir rápidamente una raza no existente en un país, transportar hatos enteros en forma de embriones congelados, con un costo inferior al costo del transporte de un solo animal adulto, adquirir más de una descendencia de cada embrión, con lo que se logran animales genéticamente idénticos que posibilitan desarrollar importantes trabajos de investigación científica, emplear como donantes vacas valiosas que sufren leucosis u otras enfermedades infecciosas, que mediante receptoras sanas permiten obtener crías, sanas de alta calidad, conformar hatos de vacas lecheras libres de leucosis bovina, conseguir óvulos de terneras

hijas de padres de alto valor genético, para lograr descendientes de estas antes de que realicen su primer parto, abreviando de esta forma su intervalo de generación (4)

La inestabilidad en la respuesta a los tratamientos superovulatorios y el tiempo esfuerzo necesarios para la administración de los tratamientos, han sido los principales factores que intervienen la aplicación de la transferencia de embriones en programas de mejoramiento genético (6).

Aunque muchos ganaderos opinan que no resulta rentable el empleo de estas tecnologías a nivel de granja por la complicación en el manejo, en la práctica real podemos observar como muchos países ya lo están empleando en animales valiosos, ya que resulta sencillo una vez se tiene el protocolo adaptado y se toma cierta practica (7).

La tecnología de la transferencia de embriones en bovinos requiere de la selección y el manejo, físico y farmacológico, de las donadoras y las receptoras, también de la recolección y transferencia de los embriones dentro de un periodo corto y específico después del estro (8).

Un inconveniente clave que posee la técnica de Transferencia de embriones es la detección de celos en las receptoras, sobre todo en animas *Bos indicus* (9). Con el objetivo de eludir la detección de celos se desarrollaron métodos de sincronización de la ovulación para facilitar la transferencia de embriones en forma sistemática, o también llamada transferencia de embriones a tiempo fijo en donde se mejora no solo el manejo del rebaño debido a la omisión de la detección de celo, sino que también se obtiene un mayor aprovechamiento de las receptoras que inician el programa de sincronización (10).

La sincronización de celos poseen tratamientos con el uso de hormona liberadora de gonadotropina (GnRH), administrada al día 0, un agente luteolítico prostaglandina (PGF) en el día 7 y una segunda dosis de GnRH en el día 9 esta protocolo es llamado Ovsynch que ha

brindado rendimientos razonables. Otro método también utilizado es el uso de dispositivos con progesterona (P4) combinado con estradiol, proporcionando este una efectiva sincronización de la nueva onda folicular. En el momento de retirar el dispositivo se administra PGF. Luego de retirado el dispositivo se aplica estradiol o gonadotropina corionica humana (hCG) resultando en una efectiva sincronización de la ovulación y en aceptables tasas de preñez. Además, adelantando el momento de la aplicación de la PGF y administrando una dosis de gonadotropina corionica equina (eCG) se ha logrado incrementar las tasas de preñez en receptoras de embriones tratadas con dispositivos con PG y estradiol (11).

La técnica de transferencia de embriones incluye varias etapas desde la selección de las donantes hasta la transferencia de embrión (12).

### **Receptora**

Una excelente reproductora es aquella hembra con capacidad de recibir un embrión y encaminarlo al termino. La receptora deberá expresar su potencial genético con el fin de ser una hembra lo bastante buena para poder tener y mantener la cría lo mejor posible. En efecto tendrá que ser de un buen tamaño, tanto general como reproductivamente sana y buena capacidad lechera (13).

La edad de la receptora es una característica primordial, pero en general difieren en el criterio, es mejor una ternera que una vaca que ya ha parido alguna vez. La ternera permite obtener tasas de preñes ligeramente superior, sin embargo los problemas de manejo durante la gestación, el parto y la lactancia pueden producir resultados finales muy inferiores a los de las vacas. Las vacas multíparas, con historia reproductiva conocida, que garantiza en cierta manera su comportamiento futuro, sumado al hecho de tener menos problemas en el parto, hacen que este sea el animal de elección (13).

Se debe pretender utilizar vacas que tengan un buen fenotipo, escoger las que demuestren una buena habilidad lechera y siempre procurar animales mansos (14).

Una vaca que no pueda tener un servicio natural no debe utilizarse para la transferencia de embriones. El programa de alimentación de la receptora es vital en el éxito final de la transferencia. La vaca gestara y amamantara a los terneros de mayor valor del establecimiento, criara terneros que son mayores a los que hubiera producido y deberá proveer nutrientes en forma suficiente para que se exprese el potencial genético del ternero (15).

Los programas sanitarios del establecimiento y especialmente de las receptoras, no se deben descuidar, las vacas deben poseer un examen negativo a brucelosis, tuberculosis, leptospirosis, y otras enfermedades reproductivas presentes en el área, o caso contrario deben estar vacunadas contra estas enfermedades como IBR, BDV, clostridiosis, fiebre aftosa y rabia. Es muy necesario mantener un buen control de endo y ectoparásitos sobre ellas (14).

### **Donadora**

La idoneidad de un animal como donante para la transferencia de embriones se establece por su valor genético y su capacidad para lograr un alto nivel de resultado. Estos pueden ser óptimos si se puede seleccionar un animal que ya ha ofrecido buenos resultados en la transferencia. Se debe tener en cuenta que un tercio de las vacas donantes no producen embriones transferibles (4).

Existen ciertos tipos de criterios claves para la selección de una hembra donante que tienen que haber presentado ciclos regulares desde temprana edad, no requerir más de dos servicios por concepción, no presentar defectos de conformación o genéticos detectables, tener de 3- 10 años de edad, debe tener un promedio de día entre calores entre 17 y 24 días, no deben existir alteraciones en su aparato reproductor (quistes, adherencias, infecciones, etc.), las vacas

deben de ser de alto valor genético, deben ser animales libres de parásitos internos y externos, buena condición corporal de 3- 3.5 en escala del 1 al 5 (16)(17).

Las novillas en determinados momentos no pueden ser donantes óptimos, debido a que el paso del catéter de lavado a través del cérvix entraña una mayor dificultad en comparación con las vacas. Años atrás la calidad embrionaria en novillas superovuladas también era inferior a la de vacas adultas. Pero este problema se ve compensado por los últimos productos de FSH Ovagen y Follitropin. Con esto novillas con una buena genealogía y un valor productivo estimado alto aceleran la mejora genética mucho mas como donante (18).

### **Factores influyentes en la transferencia de embriones**

Obtener buenos resultados en los programas de transferencia de embriones depende de un sin número de aspectos a considerar, entre ellos se encuentra el tipo de protocolo que se use, las hormonas con los que se trabaje, el estado nutricional de los animales, la raza, la edad, el clima y el manejo que se le esté dando a las vacas. La sumatoria de todos estos aspectos da como resultado el éxito o el fracaso en la transferencia de embriones. Existe una variedad de protocolos, los cuales se adecuan a distintos parámetros y condiciones. (57)

### **Factor hormona**

Las hormonas deben ser aplicadas en las cantidades indicadas en el momento y la forma adecuada. Por eso la persona encargada de este campo debe estar muy bien capacitada. Las aplicaciones de la mayoría de estas drogas se hacen de forma intramuscular, se pueden poner arriba sobre la pierna o en la parte trasera sobre los muslos. Cuando se están haciendo las inyecciones de FSH se deben hacer intervalos de 12 horas, ya que la vida media de esta es de 5 horas; muchos centros genéticos utilizan el programa AM- PM. Si las vacas son inyectadas a las de la mañana, se deben inyectar a las 6 de la tarde, durante los tratamientos



de superovulación. Otro caso en la utilización de hormonas para la superovulación es el uso de gonadotropina coriónica equina que causa problemas cuando se usa en exceso en la ovulación de los folículos y embriones de mala calidad (58).

## **Nutrición**

La condición corporal óptima para la transferencia de embriones en bovinos para la obtención de buenos resultados, es una vaca de carne de 5 a 6 una lechera es de 2.5 a 3. Las vacas que están muy gordas acumulan grasa subcutánea y alrededor de los ovarios, lo que disminuye la eficiencia de las drogas utilizadas (59). Encontraron una reducción en el número de embriones transferibles en vacas con demasiada grasa. Por eso, las vacas que están gordas se les raciona una dieta en la cual se les disminuye la cantidad de concentrado, se baja el nivel de energía y mantiene el nivel de consumo de pasto. El estado nutricional de la vaca donante tiene influencia tanto en la tasa de ovulación y fecundación como la viabilidad de los embriones. La nutrición de las vacas receptoras es menos crítica que las donantes, estas pueden ser alimentadas únicamente con forrajes y minerales, y los resultados en la transferencia de embriones pueden ser exitosos siempre y cuando se les dé un buen manejo (60).

## **Raza**

Las razas cebuinas (*Bos indicus*) necesitan menor cantidad o dosis de drogas como la FSH que las razas europeas (*Bos taurus*). Las razas europeas presentan mejor respuesta en la recuperación de embriones después del tratamiento de superovulación en comparación con las razas cebuinas. Las razas lecheras por su docilidad son muy buenas para el manejo, mientras el vacuno de carne está menos acostumbrado al manejo y puede mostrarse menos dócil, siendo este más sensible al estrés por el manejo (61) (62).

## **Edad**

La edad tiene un efecto marcado sobre la respuesta que pueden mostrar las vacas receptoras a los programas de T.E. usando vaquillonas como receptoras se pueden obtener una mayor tasa de preñez, en comparación con las vacas adultas: por otra parte estas pueden presentar problemas de manejo durante la gestación, el parto y la lactancia. Las vacas donadoras responden con mayor facilidad a los tratamientos de superovulación con FSH cuando están jóvenes, esto al relacionarlo con la raza, se puede decir que, entre más joven la donadora y más sangre de *Bos indicus* tenga recibirá menor cantidad de FSH cuantos están jóvenes, esto al relacionarlo con la raza, se puede decir que, entre más joven la donadora y más sangre de *Bos indicus* tenga recibirá menor cantidad de FSH (63).

## **Clima**

Un bovino que no esté en las condiciones climáticas óptimas, será difícil que produzca una cantidad rentable de embriones, así se use el mejor protocolo, este bien de nutrición y se le dé un excelente manejo. La vaca gastará mucha energía en adaptarse al medio ambiente y no tendrá energía para sus funciones reproductivas. Además, el metabolismo de las vacas se descontrola, lo que causa un estrés afectando negativamente la producción de embriones y ovocitos (40) las vacas sometidas a temperaturas elevadas producen un mayor número de embriones degenerados y retardados e inclusive si se someten a bajas temperaturas. También los cambios bruscos de temperatura no son buenos, ya que son un aspecto muy difícil de controlar cuando no se tienen las instalaciones adecuadas. En un estudio realizado en Alemania las temperaturas hasta 15° produjeron un número mayor de embriones de buena calidad (62).

## **Protocolo**

Al momento de establecer el protocolo se debe tomar en cuenta la rapidez con la que el cliente quiere que realice el trabajo, si este quiere los embriones lo más rápido posible, se eligen las vacas que están ciclando, es decir las que presenten cuerpo lúteo se les establece el protocolo más corto (62).

### **Sincronización de celo, ovulación para transferencia de embriones a tiempo fijo**

Es una técnica biológica que consiste en manejar el ciclo estral mediante el empleo de hormonas exógenas con la idea de concentrar la presentación de los celos y así de esta manera acortar o eliminar la detección de celo, permitiendo predecir el momento de estro con una seguridad razonable (19).

Es importante diferenciar sincronización de inducción de estros. La sincronización consiste en cortar o prolongar el ciclo estral a través de la utilización de hormonas o asociaciones hormonales que induzcan la luteolisis o prolonguen la vida del cuerpo lúteo, de manera que un grupo de vacas entre en estro ovule durante un corto periodo de tiempo o en un mismo día. Al contrario la inducción de estros consiste en inducir el estro en vacas que estén en anestro, a través de la utilización de hormonas o practicas de manejo. Así mismo la sincronización la inducción de estros son procesos distintos aplicables a diferentes categorías de animales (20).

La programación de la ovulación se han apoyado en el control de la vida del cuerpo lúteo con prostaglandinas, en la inducción de la ovulación con GnRH o en el impedimento del estro con el uso de tratamientos a base de progestágenos (20).

### **Protocolos del ciclo estral, ovulación para transferencia de embriones**

Muchas investigaciones han planteado diferentes programas de sincronización mediante métodos farmacológicos de control de cada fase del ciclo estral, en diferentes estadios del ciclo reproductivo de los animales. Los diversos estudios mostraron que es posible sincronizar la emergencia de una nueva onda folicular, a través de la inducción de la ovulación GnRH, de la atresia folicular progesterona más estradiol, o de la ablación folicular mediante Ovum Pick-up (OPU), controlar la duración de la fase luteal, usando luteolíticos análogos como la PGF-2a o los estrógenos, simulando una fase luteal, fortaleciendo la progesterona por medio de dispositivos de liberación lenta, o progesterona de administración oral, inducir la ovulación en la fase folicular, con GnRH, LH, HCG o estrógeno, inducir el crecimiento folicular en animales en anestro, utilizando gonadotrofinas FSH o eCG (21).

Hay tres métodos base para la sincronización de celos, a partir de las cuales se han desarrollado una serie de protocolos que implican la combinación de estos métodos, PGF-2a con un intervalo de 2 semanas (22). GnRH y PGF-2a 7 días más tarde (23)., implantes de liberación lenta de progestágenos durante 7 0 9 días (24).

En los años 90, se empleo la sincronización de emergencia de la onda folicular, en promedio 4 días después del tratamiento con progesterona y estradiol (25). Este tratamiento ha sido utilizado por los profesionales de todo el mundo para la superestimulación del ganado, pero su uso ahora ha sido restringido en varios países. Esta restricción hace que muchos profesionales de transferencia de embriones se enfrenten a un serio dilema y ha creado la necesidad de desarrollar tratamientos sin el uso de estradiol (26).

### **Protocolos con prostaglandinas**

En los años 70 se descubrieron las prostaglandinas como mediadores de las acciones hormonales y, especialmente, la identificación de la PGF-2<sup>a</sup> como la leteolisina uterina en

varias especies domesticas, marco un hito en el desarrollo de la biotecnología reproductiva y determinaron un avance importantísimo en el conocimiento de la fisiología y en la posibilidad de manipulación y control del ciclo estral (27).

Las prostaglandinas se encuentran en la mayoría de los tejidos del cuerpo pulmón, timo, musculo esquelético, fluido menstrual, liquido amniótico, intestino, sangre etc., actúan muy cerca donde se producen, y se destruyen rápidamente en la circulación, pues de lo contrario debido a su actividad biológica, inducirán efectos generalizados indeseables. Las prostaglandinas naturales son difíciles de aislar en cantidades comerciales y que la mayor parte de las prostaglandinas que se utilizan a nivel comercial sean sintéticas. Existen prostaglandinas de extracción natural otras sintéticas naturales o análoga (28).

Las prostaglandinas naturales, tiene la formula idéntica a las hormonas que se encuentran en los tejidos; en el caso de la PGF-2<sup>a</sup>, para sus acciones a nivel reproductivo en bovinos, se utilizan dosis de 25 a 40mg. Los análogos sintéticos tienen el sitio activo de la molécula similar, pero no el resto de la molécula. Son más potentes y en caso de la PGF-2a, se utiliza en dosis menores, que dependen del análogo 150 a 800mg, lo cual reduce el riesgo potencial de efectos secundarios (29).

La PGF y sus análogos son utilizados drásticamente con la finalidad de sincronizar las manifestaciones de celo del ganado bovino. La PGF causa la regresión del cuerpo luteo a partir del dia 5 del ciclo estral y su efecto luteolitico es máximo entre los días 12 y 17(30). El estadio del folículo dominante en el momento de la aplicación de la PGF va a producir una variación del momento del celo la ovulación de 2 a 7 días (31). Cuando se confirma la presencia de un cuerpo lúteo al momento del tratamiento, la respuesta estral del ganado *Bos indicus* es aproximadamente un 30% menor que el 90% reportado para ganado *Bos taurus* (32). Estas

características fisiológicas sumadas a la dificultad de la detección de celos en el *Bos indicus* explican los variables porcentajes de animales en celo, con índices menores al 50% y mayores al 70%. Teóricamente las dos aplicaciones de PGF con intervalos de 11 a 14 días son efectivas cuando hay una gran proporción de hembras ciclando, pero cuando hay hembras en anestro, condición bastante común en animales en pastoreo en zonas tropicales, hay bajos índices de sincronización y tasa de preñez (33) (34).

Las vacas receptoras sincronizadas con PGF2a deben ser tratadas 12 o 24 horas antes que la donadora, ya que la PGf2a inducirá la presentación del celo en las receptoras 60- 72 horas después de la inyección y en 36 a 48 horas en las vacas donadoras superovuladas. Aunque las tasas de preñez no parecen diferir entre receptoras sincronizadas con Pgf2a y receptoras con celos naturales (35).

La administración de PGF2a no es muy eficaz para la inducción de luteolisis en los primeros 5-6 días post estro, y cuando el estro es inducido efectivamente por la PGf2a, el celo resultante se presentara dentro de los siguientes 6 días (35).

La PGF causa el retroceso del cuerpo luteo a aproximadamente en el día 5 del ciclo estral y su efecto luteolítico es máximo entre los días 12 y 17(36). El estado del folículo dominante en el momento de la aplicación de la PGF va a desarrollar una variación del momento del celo y la ovulación de 2 a 7 días (24). En la actualidad se utilizan tratamientos con dos dosis de PGF con 11 a 14 días de intervalo y detección por 5-7 días después de la segunda aplicación de PGF (37). En la teoría, estas dos aplicaciones de PGF son efectivas cuando hay una gran proporción de hembras ciclando y un 80% de ellas deberían ser observadas en celo, pero los problemas de detección de celos hace que el porcentaje real de receptoras que son seleccionadas para recibir un embrión raramente supere el 50% (38). Esta situación puede ser

más grave aun cuando se trabaja con receptoras cebú o cruza cebú en condiciones de campo (39).

Para minimizar los problemas de asincronia en los animales tratados, se ha asociado la progesterona con otros tipos de sustancias como la gonadotropina corionica humana (hCG) o con benzoato de estradiol y hormona liberadora de gonadotripa (GnRH), las cuales fortalecieron la fertilidad de los animales. La combinación de GnRH con progesterona tiene la capacidad de inducir la liberación de LH y FSH influenciando la activación ovárica (40).

En programas de transferencia de embriones se utilizan con dos dosis de PGF con 11 a 14 días de intervalo y detección por 5 – 7 días después de la segunda aplicación de PGF(40).

#### Ovosynch

En estados unidos se diseño un protocolo llamado ovsynch, cuya meta principal era disminuir la variación entre los animales en el momento de la ovulación luego del tratamiento con PGF (41) el uso de GnRH o pLH es para inducir la ovulación del folículo dominante (24) y así tener el inicio de una nueva onda folicular 1.5 a 2 días después (40); pero el comienzo de la onda es sincronizado solamente cuando el tratamiento resulta en ovulación del folículo dominante (41). Este protocolo utiliza análogos de GnRH, seguido de la aplicación de PGF luego de 7d, una segunda GnRH a las 48h de la PGF se realiza la IATF a las 15 a 24 h de la segunda GnRH. La primera GnRH causa un pico de LH (2h después) y este su vez provoca la ovulación del folículo dominante presente en el momento del tratamiento, surgiendo una nueva onda de crecimiento folicular 2 a 3 días después (41). La PGF a los 7 días lisa el cuerpo lúteo y la segunda GnRH sincroniza la ovulación. Las tasas de concepción varían entre 26 a 55% en ganado *Bos taurus* (42).

En vacas lecheras, los primeros trabajos con esta temática reportaron tasas de ovulación del folículo dominante del 85% después de la administración de GnRH, pero otros más recientes reportaron un promedio de ovulación de 62,4% después de la administración de LH porcina y un 43.3% cuando se trataron con GnRH. Otro estudio mostro un promedio de ovulación de 78% y 56% en vaquillonas tratadas con LH porcina o GnRH, respetivamente (41).

Unos trabajos analizaron la respuesta al protocolo Ovsynch en cebuinos. Este protocolo fue probado en vacas lactantes como en no lactantes y las tasas de preñez después de la Inseminacion artificial a tiempo fijo fueron similares a las informadas para ganado *Bos taurus*, oscilando entre el 42 y 48% (43). También como ocurre en el *Bos taurus*, los resultados de preñen vaquillonas han sido variables, como porcentajes de preñez que oscilan entre el 21% y el 43%(44).

La sincronización de la ovulación inicia 14 días después de la ultima inyección de PGf2a día 7 y posteriormente se administra otra dosis de GnRH día 9 y se insemina 16 horas después. La primera inyección de GnRH ocasiona un pico de LH, el cual provoca la ovulación o luteinizacion de los folículos de 8 mm de diámetro y con esto se provoca el surgimiento de una nueva onda folicular. Dado que la primera inyección de GnRH se realiza en diestro temprano, al momento de la inyección de PGF2a las vacas están en el diestro tardio; además, las vacas tienen un folículo con un grado de desarrollo similar, el cual ovula en respuesta a la segunda inyección de GnRH (45).

Los protocolo Ovsych también fueron utilizados para sincronizar la ovulación en receptoras que recibieron embriones producidos in vivo (64).el protocolo Ovsynch consiste en la aplicación de GnRH en el dia 0, seguido por la administración de PGF en el dia 7 y una segunda aplicación de GnRH en el dia 9. En el tratamiento Ovsynch mas P4, se coloca un implante de norgestomet o u dispositivo con p4 en el dia 0 y se lo quita en el dia 7. No se efectúa detección de celos y



se transfieren embriones en el día 16 a receptoras con un cuerpo lúteo. En dos estudios realizados con vaquillonas o vacas cruzas cebú, la mitad de los animales recibieron una dosis simple de PGF y se detectó celo por 5 días y la otra mitad, se sincronizaron con un protocolo Ovsynch sin detección de celos. En este experimento 7 días después del celo el grupo con PGF o después de la segunda GnRH grupo Ovsynch, las receptoras con un cuerpo lúteo detectado por US o por palpación rectal, fueron seleccionadas para recibir un embrión por transferencia directa. La tasa final de preñez fue mayor en las receptoras tratadas con el protocolo Ovsynch y se debió principalmente a que un mayor número de receptoras en este grupo recibió embriones debido a que el protocolo Ovsynch no dependió de la detección de celos en el ganado bovino cruzado (65).

Otro estudio demostró con 499 vacas *Bos taurus* lactando a 28 a 92 días post parto fueron asignadas a 3 tratamientos. Las vacas en el grupo control fueron tratadas con GnRH en el día 0 y PGF en el día 7 (grupo GnRH más PGF). Las vacas en los otros 2 grupos fueron tratadas con un protocolo Ovsynch solo (grupo Ovsynch) y un grupo Ovsynch más un implante de norgestomet que fue colocado entre el día 0 y 7 (grupo Ovsynch más P). a los 6 a 8 días después del celo en el grupo GnRH + PGF o a los 7 días después de la segunda GnRH en los grupos Ovsynch Ovsynch+P, se examinaron las vacas por palpación rectal y aquellas con un cuerpo lúteo recibieron embriones por transferencia directa. A pesar de que la tasa de preñez tendió a ser mayor en las vacas del grupo GnRH+ PGF, el porcentaje de preñez general no fue significativamente diferente entre los grupos, principalmente debido a que hubo mayor número de receptoras seleccionadas en los grupos Ovsynch y Ovsynch+ p (66).

#### Pre Synch- Ovsynch

Se elaboró un programa de presincronización llamado presynch para optimizar la respuesta al protocolo Ovsynch, aplicando dos inyecciones de PGF2a con 14 días de intervalo, siendo la

segunda aplicación 12 días antes de la primera inyección de GnRH del programa de inseminación artificial a tiempo fijo. De esta manera se logra comenzar el protocolo Ovsynch en etapas tempranas de la fase luteal, días 5, 12 del ciclo estral, lo que resulta en una mayor precisión en la sincronización del celo y un mayor porcentaje de preñez de vacas multíparas se vieron incrementadas en un 13 % con una inyección de prostaglandina administrada antes del protocolo Ovsynch, mientras que las preñeces se incrementaron entre un 12-14% en todas las vacas en lactancia con dos inyecciones de prostaglandina (46).

#### Selectsynch

Se administra una inyección de GnRH y 7 días después una inyección de PGF<sub>2a</sub>, luego de la cual se realiza la detección de celo e inseminación de acuerdo al sistema AM/pm. (47)

#### Cosynch

Este protocolo es igual al Ovsynch pero con la diferencia que la IATF se realiza en el mismo día de la aplicación de la segunda dosis de GnRH (47).

#### Heatsynch

El programa Ovsynch es más eficaz cuando es iniciado entre el día 5 y 12 de ciclo estral. Por lo tanto los programas que involucran presincronización, tales como el Presynch Ovsynch o Presynch heatsynch, pueden obtener una mayor tasa de preñez en el primer servicio. Después del primer servicio, el aumento en la tasa de preñez depende de la mejoría en la sobrevivencia de los embriones y de la reinseminación rápida de las vacas que no preñaron o no consiguieron mantener la gestación. Entre los diversos métodos utilizados para identificar vacas no gestantes se incluyen la detección del celo, la verificación de las concentraciones de

progesterona, los test bioquímico/inmunológicos, la ultrasonografía y el examen de palpación rectal (48).

Una estrategia de control del momento de la ovulación es la aplicación de estradiol exógeno, que es capaz de inducir un pico de LH a través del estímulo de la secreción de GnRH por el hipotálamo, cuando es administrado en un ambiente con bajos niveles de progesterona en el final del diestro y proestro. El pico de LH inducido por el estradiol dura cerca de 10 horas, lo que se asemeja al pico espontáneo y es más extenso que el inducido por la GnRH. El cipionato de estradiol (ECP) una forma esterificada de estradiol comercializada para uso en bovinos, ha sido usada como componente de los programas de inseminación artificial en tiempo fijo (IATF) en vacas lecheras en lactación. El ECP es utilizado para sustituir la segunda inyección de GnRh del protocolo Ovsynch, siendo titulado Heatsynch o celo sincronizado. Las vacas son presincronizadas con 2 inyecciones de PGF2a administradas con un intervalo de 14 días, siendo el Heatsynch iniciado 14 días después de la segunda inyección. Las vacas entonces reciben una inyección de GnRh seguida por PGF2a 7 días más tarde. El ECP imq IM es administrado 24 horas después de la inyección de PGF2A y las vacas son inseminadas 48 horas más tarde. Las tasas de preñez con el uso del protocolo Heatsynch y ovsynch no presentan diferencias (48).

### Progestágenos y estradiol

Hace más de 40 años se ha utilizado protocolos de sincronización con progesterona para la sincronización de celos en el ganado bovino. Los animales recibían inyecciones diarias del esteroide en dosis variadas por periodos de hasta 20 días. Con el paso de los años fueron desarrollados otros métodos de administración otros compuestos similares a la progesterona, dentro de los cuales podemos citar los de administración oral como el acetato de melengestrol

(MGA), los implantes subcutáneos de norgestomet y los dispositivos intravaginales con progesterona (25).

Cuando la sincronización de celos en las donantes se efectúa con progesterona o progestágenos, generalmente se utilizan dispositivos intravaginales o implantes subcutáneos. En el primer grupo se incluyen PRID®, CIDR®, esponjas DIB, TRIUB y otras variantes del mismo tipo que las anteriores. Todas funcionan de forma similar y salvo al caso de las esponjas vaginales que utilizan un progestágeno como componente hormonal, en el resto esta acción es ejercida por la progesterona natural. En el segundo grupo se encuentra en Syncromate B®, y el Crestar® (49).

Dispositivo intravaginaal Es un dispositivo de silicona que se introduce en la vagina que contiene 1 g de progesterona natural, la cual es absorbida a través de la mucosa vaginal durante ciertos días para después ser retirado. Este progestágeno inhibe la liberación de FSH y LH frenando la ovulación hasta el momento deseado, cuando se retira de la vagina la concentración de progesterona cae rápidamente con lo cual el animal puede entrar en celo (50).

El uso de estrógenos y progestágenos para controlar el desarrollo folicular se basa en el potente efecto de la combinación de estos esteroides sobre las gonadotropinas (51). El protocolo más utilizado, consiste en administrar 2mg de benzoato de estradiol (BE) por vía intramuscular en el momento de la inserción del dispositivo intravaginal con progesterona, para sincronizar el desarrollo folicular (38). En el día 7 se retira el dispositivo intravaginal y se administra PGF para inducir la luteolisis, y en el día 8 se coloca 1 mg de BE para sincronizar la ovulación. Se realiza la inseminación artificial a tiempo fijo entre las 52 y 56 horas del retiro del dispositivo ya que la mayoría de los animales ovulan en promedio a las 66 horas (52).

Se realizaron una serie de investigaciones con el objetivo de evaluar si era posible adaptar los esquemas de sincronización de la ovulación utilizados en los programas de inseminación artificial a tiempo fijo en la transferencia de embriones a tiempo fijo. Se realizó un experimento preliminar con el objetivo de comparar las tasas de preñez en receptoras de embriones tratadas con un dispositivo intravaginal a base de progesterona CIDR y transferidas a tiempo fijo con vacas tratadas con dos dosis de PGF cada 14 días y transferidas 7 días después de detectado el celo (53). Se utilizaron 200 vacas cruce brahmán que fueron divididas al azar en dos grupos. Las vacas en el grupo control fueron sincronizadas con dos dosis de PGF cada 14 días y observadas por síntomas de celo por 5 días después de la segunda PGF. Las vacas en el otro grupo, recibieron un CIDR-B combinado con 2 mg de benzoato de estradiol y 50 mg de prostaglandina en el día 0, PGF en el momento de la remoción del CIDR-B día 7 y 1 mg de benzoato de estradiol a las 24 horas de retirado el dispositivo. En este grupo no se observó celo y se consideró arbitrariamente al día 9 como el día de celo. Todas las vacas recibieron embriones congelados excelentes y buenos a los 7 días del celo en el grupo control o en el día 16 en el grupo CIDR-B. Estos resultados demostraron que los dispositivos intravaginales con progesterona, combinados con benzoato de estradiol más progesterona al momento de la colocación del dispositivo y benzoato de estradiol 24 horas después de su retiro, pueden ser utilizados para sincronizar la ovulación. Eliminando la necesidad de la detección de celos en grupos de receptoras de embriones (25).

La remoción del dispositivo CIDR-B y una inyección de prostaglandina resultaron en la disminución de la progesterona, intentando imitar lo que sucede naturalmente durante la luteólisis e iniciar los mecanismos responsables de la maduración del folículo dominante que está en crecimiento (35)

## **Protocolo PRID**

Es dispositivo revolucionario, hecho de polietileno y EVA (etil- vinil acetato) para la liberación mas rápida y mas prolongada de la progesterona. La progesterona, que se absorbe rápidamente por via vaginal, inhibe toda descarga hormonal cíclica de la hipófisis FSH y LH y asi impide la aparición del celo y la ovulación. Cuando se retira el dispositivo, la progesterona disminuye drásticamente en 1 hora permitiendo la maduración folicular, el celo y la ovulación en un estrecho margen (54) .

El dispositivo funciona por animal durante 7 dias, con la ayuda de un aplicador, se inserta el dispositivo en la vagina del animal. En hembras cíclicas, el dispositivo debe ser utilizado en combinación con una prostaglandina, inyectada 24 horas antes de extraer el dispositivo. En hembras no cíclicas, debe administrarse una inyección de PGF<sub>2a</sub> 24 horas antes de extraer el dispositivo y una inyección de gonadotropina corionica equina en el momento de la extracción. Los animales deber ser inseminados 56 horas después de la retirada del dispositivo (54)

Se realizaron varios trabajos para evaluar si era posible adaptar los esquemas de sincronización de la ovulación utilizados en los programas de inseminación artificial a tiempo fijo en la transferencia de embriones a tiempo fijo se realizo una un experimento con el objetivo de comparar las tasas de preñez en receptoras de embriones tratadas con CIDR-B y transferidas a tiempo fijo con vacas tratadas con dos dosis de PGF cada 14 dias y transferidas 7 dias después de detectado el celo (53). Se utilizaron 200 vacas cruza brahmán que fueron divididas al azar en dos grupos. Las vacas en el grupo control fueron sincronizadas con dos dosis de PGF cada 14 dias y observadas por síntomas de celo por 5 dias después de la segunda PGF. Las vacas en el otro grupo, recibieron un CIDR-B combinado con 2mg de benzoato de estradiol y 50 mg de P4 en el dia 0, PGF en el momento de remoción del CIDR-B el dia 7 y 1 mg de benzoato de estradiol a las 24 horas de retirado el dispositivo grupo CIDR-B. en este grupo no se observo celo y se considero arbitrariamente al dia 9 como el dia de

celo. Todas las vacas recibieron embriones congelados excelentes y buenos a los 7 días del celo en el grupo control o en el día 16 en el grupo CIDR-B. la proporción de vacas utilizadas como receptoras y el porcentaje de preñez obtenido. estos resultados demostraron que los dispositivos intravaginales con p4, combinados con benzoato de estradiol al momento de la colocación de dispositivo y benzoato de estradiol 24 horas después de su retiro, pueden ser utilizados para sincronizar la ovulación, eliminando la necesidad de la detección de celos en grupos de receptoras de embriones. Sin embargo, en todos los estudios el porcentaje de vacas con cuerpo luteo detectado por palpación rectal en el momento de la transferencia de embriones fue bastante baja y los índices de preñez finales no superan el 40%, lo que representa un alto costo en tratamientos y receptoras no utilizadas (67).

### **Norgestomet y Valerato de estradiol**

Son implantes de progestágenos y son colocados en forma subcutánea en la oreja por un periodo de 9 o 0 días. Junto con la inserción del implante, se coloca una solución oleosa por vía IM que contiene 5 mg de valerato de estradiol y 3 mg de norgestomet. El propósito original norgestomet era inducir la luetolisis con el valerato de estradiol y obtener altos niveles inmediatos de progestágeno con los 3 mg de norgestomet. Luego se descubrió que el valerato de estradiol inducía también, a través de la supresión de los folículos presentes, el desarrollo de una nueva onda folicular de 3 a 8 días después (55).

En diferentes estudios utilizaron implantes de norgestomet en bovinos demostraron que más del 90% de los animales manifiestan celo después de retirado el implante, con tasas de concepción del 33 al 68% (56).

Acetato de melengestrol

El Acetato de Melengestrol es la progestina que ha sido mas comúnmente utilizada para la sincronización de celo en vacas. Las ventajas del MGA incluyen su bajo costo y su administración es via oral mezclado con el grano. El acetato de melengestro inducirá el desarrollo de folículos persistentes, los animales normalmente no deben ser inseminados al primer celo después de retirar la progestina del alimento (35).

Un protocolo es suplementar 0.5mg de acetato de melengestrol por animal dia durante 14 dias, seguido de un tratamiento con PGF2a 17 dias después de haber terminado la suplementacion con acetato. Se ha demostrado que este protocolo produce celos muy bien soncronizados y con buena fertilidad. Aparentemente es mas efectivo en animales que tienen condición corporal moderada (35).

### **Gonadotropina corionica equina ECG utilizada en la sincronización de receptoras con dispositivos intravaginales**

Este protocolo es utilizado para el incremento de los niveles circulantes de P4 en receptoras de embriones es la inducción de ovulaciones multiples mediante la utilización de gonadotropina corionica equina durante el tratamiento de sincronización de la receptora (68). Se realizo un experimento en el que se utilizaron vacas holstein que fueron divididas en cuatro grupos. El primer grupo fue formado por vacas a las que se les observo un celo natural 52 individuos yy fueron transferidos 7 dias luego de la detección de celo grupo control. El resto de los animales fueron sincronizados. Las vacas del grupo PGF fueron 58 individuos recibieron única dosis de 500ug de cloprotenol IM (prostaglandina sintetica). Las vacas del grupo PRID 54 individuos recibieron en el día 0 un PRID y una capsula con 10mg de benzoato de estradiol y cloprostenol cuando se retiro el dispositivo en el dia 10. Las vacas del grupo PRID + eCG 29 individuos recibieron un PRID sin la capsula junto con 5mg de estradiol y 100mg de P4 IM en el dia 0, 1000UI de eCG IM en el día 4, cloprostenol en el dia 6 por la mañana y se retiraron los



dispositivos en el día 7 por la tarde. En este experimento se detectó celo en todos los grupos y las vaquillonas fueron transferidas a los 7 días de la observación de los celos. El tratamiento con PRID +eCG produjo un incremento en el número de receptoras transferidas, aumento el porcentaje final de preñez. En este experimento también se observó que el tratamiento con eCG aumentó significativamente el número de CL en los ovarios en el momento de la transferencia. Estos resultados fueron corroborados en otro experimento realizado en Brasil, donde se utilizaron vaquillonas cruzadas cebu que fueron tratadas con un CIDR-B por 7 días más 800 UI de eCG en el día 5 y fueron transferidas a tiempo fijo (64). No se observó una disminución de preñez por la superovulación de las receptoras. No obstante, nosotros realizamos una serie de trabajos para evaluar la utilización de una dosis más reducida, de 400 UI de eCG, para determinar si se podía mantener el efecto positivo sobre la preñez y disminuir un poco los costos del tratamiento (53). Para este experimento se utilizaron 312 vacas de carne cruzadas cebu de 3 a 5 años de edad y con una condición corporal de 2.5 a 3.5. En el día 0, todas las vacas recibieron un DIV-B, conjuntamente con 2mg de benzoato de estradiol y 50mg de P4 IM. En el día 5 (un día después del comienzo estimado de la onda folicular, todas las vacas recibieron 500ug de cloprostenol IM y la mitad de las receptoras grupo eCG recibió 400UI de eCG IM, mientras que la otra mitad grupo control recibió una inyección de 1.5ml de solución fisiológica IM. En ambos grupos los DIV-B fueron retirados en el día 8 y se inyectó 1mg de benzoato de estradiol en el día 9. No se realizó detección de celo, se determinó arbitrariamente al día 10 como el día del celo y al día 11 como el día de la ovulación. Como en el experimento anterior, el día anterior a la transferencia de embriones día 16 se examinaron todos los animales por medio de ultrasonografía transrectal con el objetivo de determinar el tamaño de cuerpo luteo y las vacas con cuerpo luteo mayor de 10 mm de diámetro fueron seleccionadas y recibieron en el día 17 embriones congelados asignados equitativamente a ambos grupos. A pesar de que el tratamiento con eCG no resultó en muchas ovulaciones múltiples, el tamaño

promedio de los cuerpo luteo fue mayor en las vacas tratadas con eCG que en las no tratadas con eCG. Además, las proporciones de receptoras preñadas fueron mayores en el grupo que recibió eCG en el día 5 (64).

Se realizo otro experimento con el objetivo de evaluar otra hormona disponible en el mercado para sincronizar la ovulación como la hCG gonadotropina corionica humana. En este experimento se comparo la tasa de preñez en receptoras de embriones tratadas con dispositivos intravaginales con p4 y benzoato de estradiol o hCG para inducir la ovulación (46). El protocolo para la transferencia de embriones a tiempo fijo consiste en la utilización de progestágenos o progesteron, estradiol y eCG. El tratamiento consiste en la inserción de un implante de norgestomet o un dispositivo con p4 y la inyección de 2mg benzoato de estradiol IM. En el día 5 se administra 400 UI de eCG y una dosis de PGF. Se quitan los dispositivos en el día 8 y se inyecta 1mg de benzoato de estradiol en el día 9. Todas las receptoras con cuerpo lúteo reciben embriones en el día 17 (64).

### **Consideraciones practicas**

Las vacas deben tener un minimo de 50 dias postparto, estar ciclando normalmente, y estar en un plano de nutrición adecuado, sin tener deficiencias nutricionales especificas. Algunos recomiendan el uso de minerales traza como suplementos antes de la superovulacion, y aunque aparentemente no hay datos científicos, el uso de minerales quelados es recomendable para mejorar la respuesta superovulatoria y la producción de embriones. Las donantes deberían tener historia o evidencia física de infertilidad. Además, es importante resaltar que vacas con historia de superovulaciones exitosas o partos gemelares, tienen mayor posibilidad de responder bien al tratamiento. Las vaquillonas requieren dosis menores de FSH mientras que las vacas lactando o mas viejas requieren normalmente dosis mayores de FSH. Si la respuesta superovulatoria es pobre, entonces puede ser necesario aumentar la dosis de

FSH en el siguiente programa. Si la calidad embrionaria es mala es presencia de una respuesta superovulatoria alta, la dosis de FSH debería ser reducida en el próximo programa. La administración de FSH tienen que ser intramuscular profunda, se deben evitar las inyecciones subcutáneas, a menos que se pretenda administrar una sola inyección para disminuir las situaciones de estrés. En cuanto a las receptoras, la nutrición y el intervalo postparto son los dos factores de manejo que determinaran el éxito de un programa de transferencia de embriones. La condición corporal al momento de la transferencia es también sumamente importante. La transferencia de embriones en receptoras muy flacas u obesas resultara en bajos porcentajes de preñez (69).

Con la transferencia de embriones el promedio para cada vaca donante superovulada puede ser de 8 a 10 huevos colectados, de 6 a 7 embriones transferidos y 3 a 4 gestaciones, pero en condiciones tropicales se obtienen resultados mas pobres, probablemente debido a las condiciones climaticas (49).

Un tratamiento destinado a incrementar el numero de ovulaciones en un animal esta condicionado por la tasa de ovulación propia de este (70).

Los conocimientos actuales señalan que la tasa de ovulación viene claramente definida por el numero de folículos que se desarrollan y alcanzan el estado que les capacita para ovular tras el tratamiento y viene determinada tanto por las relaciones entre distintas hormonas del eje endocrino hipófisis ovario que presentan efecto estimulante FSH- LH o inhibidor estrógenos, inhibina sobre el crecimiento de los folículos ováricos, como por las relaciones intraovaricas entre ellos autocrinas y paracrinas (70).

Conclusiones

Hay que tener en cuenta las condiciones anatómicas fisiológicas de los distintos tipos de razas, hay unas que por su condición corporal pueden ser óptimas o otras por su acumulación de grasas o estado deprimido no son los animales ideales para entrar a estos sistemas que aparte de ser complejos son muy costosos.

La variación entre la edad puede ser un factor clave, las novillas requieren dosis mucho mayores de cierto tipo de hormonas que las vacas adultas, si se realiza estos procedimientos hay que evaluar y clasificar las vacas según su edad.

La transferencia de embriones fortalece la genética de un establecimiento en menor tiempo, multiplicando las hembras de alta calidad para poder seguir trabajándolas.

Para obtener excelentes resultados de los diferentes tratamientos se deben evaluar varios factores que deben ser tomados en cuenta a la hora de seleccionar los animales como la raza, edad, estado sanitario, nutrición, medio ambiente, tipo de hormona, tipo de protocolo.

#### Bibliografía

1. Kastelic J.P. 2001. Conceptos actuales en la detección de celos en bovinos. Cuarto simposio internacional de reproducción animal, Huerta Grande, Córdoba; 73-82.
2. Bo, G.A y Baruselli, P.S. 2002. Programas de inseminación artificial a tiempo fijo en el ganado bovino en regiones subtropicales y tropicales. Capítulo XXXI. En: avances en la ganadería doble propósito, C.Gonzales- Stagnaro, Eleazar Soto Belloso y Lilito Ramirez Iglesia (editores); fundación Giraz, Maracaibo, Venezuela; 499-514.
3. Hincapié. J.J, Rito. R, Campo. E, reproducción animal aplicada: fundamentos de fisiología y biotecnología” segunda edición , Tegucigalpa, Honduras; 2005. Pp. 126-127, 130.

4. Brito Capallejas R, Fisiología de la Reproducción Animal con elementos de Biotecnología” Editorial Felix Varela, La Habana 1999. Pp. 254- 261.
5. Asron A. 1992. Transferencia de embriones. Disponibilidad en internet. <http://www.buenastareas.com>. (17/03/11).
6. Bo, G.A, Baruselli, P.S, Cesta, P. and Admas, G.P. 2008. Alternative approaches to setting up donor cows for superstimulation. *Theriogenology* 69: 81-87.
7. Ponce. P.N. 2015 revisión bibliográfica en transferencia de embriones en Ganado bovino. P-18.
8. Mapletoft, R. (2006). Transferencia de embriones en bovinos. *IVIS Reviews in Veterinary medicine, I.V.I.S (Ed.) International Veterinary information Service, Ithaca NY; R0104. 1196.ES.*
9. Peres, L.C, Pincinato, D., Cutaia, L., Bo, G.A. (2006). Simplificación de los programas de transferencia de embriones a tiempo fijo en rodeos comerciales, jornadas de actualización en Biotecnologías de la reproducción en Bovinos IRAC.
10. Irouleguy. J.M, (2009) Transferencia de embriones frescos a tiempo fijo algunas variables que afectan la tasa de preñez.
11. Bo, G.A, Moreno, D., Cutaia, L. Caccia, M., Tribulo, R,J, Tribulo, H,E. (2006). Transferencia de embriones a tiempo fijo: tratamientos y factores que afectan los índices de preñez. Educación continua. UNCPBA.
12. Ortiz, J.J, Col., 2001. Manual de transferencia de embriones. Proyecto de mejoramiento de ganado de carne (P.M.G.C.). Santa Cruz- Bolivia. Pp 1-8.
13. Palma, A.G., 2001. Biotecnología de la reproducción. Buenos Aires, Argentina. Pp. 61-69.
14. Teixeira, M. T. 1999. Transferencia de embriones segundo simposio latinoamericano de productividad en ganado de corte. Santa Cruz Bolivia.

15. Alberio, R., 2001. Manejo de donantes y receptoras. Biotecnología de la reproducción. Primera edición. Editorial Argentina. Pp. 18-23.
16. Hafez. E.S.E., B. Hafez, Reproducción e inseminación artificial en animales, séptima edición, Carolina del sur, USA 2000. Pp. 147- 417, 421.
17. Mucci. N, modulo de reproducción. Memorias curso de graduación en Buiatria. 2011. Diapositivas. 10- 13, 24.
18. Gorchach. A., transferencia de embriones en el ganado vacuno, editorial acribia, S.A, Zaragoza España. 1999. p.p 14-18, 26.
19. Maatje, K., Loeffler, S.H., enmgel, B., (1997). Predicting optimal time of insemination in cows that show visual signs of estrus by estimating the onset of estrus by podometers. J. Dairy Sci. 80: 1098-1105.
20. Thatcher, W. W., (2004). Utilizacao de inseminacao artificial em tempo fixo IATF como estrategia para aumentar a tasa de prenhez em vacas leiterias em lactacao. VIII curso novos enfoques na producao e reproducao de bovinos, Uberlandia- minas gerais, Marco 18-20 de 2004.
21. Tecnopec. (2005), en: [www.tecnopec.com.br](http://www.tecnopec.com.br).
22. Ferguson, S., D., Galligan, D.T. (1993). Reproductive programs in dairy herís. Proc Centr Vet conf. 161-178.
23. Thatcher, W.W, Hansen, P.J. (1992). Systems to alter embryo survival. In: large Dairy herd management. Van Horn, H.H y Wilcox, C.J. editors.
24. Macmillan, K. L., thatcher, W.W. (1991). Effects of an agonist of gonadotrophin releasing hormone on ovarian follicles in cattle. Biol. Reprod. 45: 883-889.
25. Bo G.A, Moreno, D., Cutaia, L., Caccia, M., Tribulo, R.J, Tribulo, H. Transferencia de embriones a tiempo fijo; tratamientos y factores que afectan los índices de preñez. Taurus, v21, p. 25-40, 2004.

26. Bo. G, Pelizzari, M., Bernal, B., Tribulo A., Ongarato F., entre otros. Actualidades de las técnicas de superovulación y transferencia de embriones.
27. Mellisho S., E., (2006). Sincronización de estro. Curso reproducción animal practica. Practica 09. Universidad Nacional Agraria la Molina.
28. Stevenson, J. S.; Kobayashi, Y.; shipka, M. P., Rauchholz, K. C. (1996). Altering conception of dairy cattle by GnRH preceding luteolysis induced by prostaglandin F2a. J. Dairy sci. vol 79:402.
29. Bo, G.A. (2004a). Sincronización de cellos para programas de inseminación artificial y transferencia de embriones en tiempo fijo. Simposio sobre control farmacológico del ciclo estral de rumiantes. Universidad de San pablo, Brasil proc: 35-60.
30. Odde, K.G. 1990. A review of synchronization of estrus in postpartum cattle. J Anim Sci; 68: 817-830.
31. Kastelic, J.P., Ginther, O.J, 1991. Factors affecting the origin of the ovulatory follicle in heifers with induced luteolysis. Anim reprod Sci. 26: 13- 24.
32. Galina, C.S., Orihuela, A., Duchateau, A. 1987. Reproductive physiology in Zebu cattle. Vet clin nith armer: food anim practice, 3:619-632.
33. Cavalieri J., Fitzpatrick LA. 1995. Oestrus detection techniques and insemination strategies in Bos indicus heifers synchronized with norgestomet oestradiol. Aust vet J;72:177-182.
34. Kerr, D.R., McGowan, M.R., Carroll, C.L., Baldock, F.c. 1991. Evaluation of three estrus synchronization regimens for use in extensively managed bos indicus and bos indicus/Taurus heifers in northern Australia. Theriogenology, 36: 129-138.
35. Mapletof, 2006., transfer en CIA de embriones en Bovinos en acceso en "internet" [http://es.scribd.com/doc/45616594/transfer-en-CIA-de-Embriones-en-bovinos-ivis-Dr-mapletof#outer\\_page\\_7](http://es.scribd.com/doc/45616594/transfer-en-CIA-de-Embriones-en-bovinos-ivis-Dr-mapletof#outer_page_7).

36. Momont, H.W., Seguin, B.E. 1984. Influence of the day estrous cycle on response to PGF2a products: implications for AI programs for dairy cattle. Proc. 10<sup>th</sup> international congress on animal reproduction, 3, 336.
37. Broadbent PJ, Stewart m, Dolmal Df. 1991. Recipient management and embryo transfer. Theriogenology; 35: 125-140.
38. Bo, G.A., Baruselli, P.S, Moreno, d., Cutaia, L., Caccia, M, Tribulo, R, Tribulo, H. Mapletoft, R.J 2002. The control of follicular wave development for self appointed embryo transfer programs in cattle. Theriogenology; 57: 53-72.
39. Fuentes S, De la fuente J. 1997. Different synchronization treatments for direct embryo transfer to recipients heifers. Proc XIII annual meeting AETE, Lyon, France; 148 abstr.
40. Pursley, J.R, Mee, M.O. and Wilbank, M.C. 1995. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF2a and GnRH. Theriogenology 44: 915-923.
41. Martinez, M.F., Adams, G.P., Bergfelt, D., Kastelic, J.P., and mapletoft, R.J., 1999. Effect of LH or GnRH on the dominant follicle of the first follicular wave in weifers. Ani., Reprod. Sciv57: 23-33.
42. Stevenson, J., 2000. Sincronizacion de celos y de ovulaciones en Ganado bovino de carne y de leche. Quinto congreso Argentino de Reproduccion Animal, CABIA, rosario, Argentina, CD.
43. Barros, C.M., Moreira, M.B.B., Figueiredo, R.A., Teixeira, A.B., Trianca, L.A. 2000. Synchronization of ovulation in beef cows (bos indicus), using GnRH, PGF2a and Estradiol benzoate. Theriogenology, 53:1121-34.
44. Carcedo, J., Alonso, N., Menajovsk, J., Alvarez, C., Comparacion de dos métodos de sincronización de celos e inseminación artificial a tiempo fijo en vaquillonas cruza cebu. Resúmenes Tercer simposio internacional de reproducción animal, Carlos Paz, Argentina, 189 abstr.



45. Hernandez. J., Manejo reproductivo en bovinos en sistemas de producción de leche; mexico UNAM (2001).
46. Moreira F, Sota R.R, Diaz, T., Thacher WW. 2000. Effect of day of the estrus cycle at the initiation of timed artificial insemination protocol on reproductive responses in dairy heifers. J anim sci 78: 1568-1576. J anim Sci. vol 80.
47. Cavestanyy, D., Spermova (2013). Sincronización de celos y ovulación en vacas de leche; 3(1): 23-25.
48. Bartolome, J. A., Silvestre, F.T., Arteché, A.C.M.; Kamimura, S.; Archbald, L. F. (2002). The use of ovsynch and heatsynch for resynchronization of cows open at pregnancy diagnosis by ultrasonography.
49. Capallejas, S., Cabodevilla, S., Palma, G., Albeiro, Torquati, S., Butler, H, et al. Grupo de biotecnología de la reproducción superovulación transferencia de embriones bovinos. INTA. 2009, pp: 7, 40- 44, 52-54, 60-61.
50. Llneo F.M., (2007) Evaluación de diferentes dosis de eCG en un protocolo simplificado de sincronización de celo en vaquillas mestizas receptoras de embriones. Santa Cruz – Bolivia.
51. Bo G.A., Adams GP, Pierson RA, Caccia M, Tribulo H, Mapletoft RJ, 1994. Follicular wave dynamics after estradiol-17 $\beta$  treatment of heifers with or without a progestogen
52. Cutaia, L., Moreno, D., Villata, M.L., Bo, G.A. 2001. Synchrony of ovulation in beef cows treated with progesterone vaginal devices and estradiol benzoate administered at device removal 0 or 24 hours later. Theriogenology; 55: 408 abstr.
53. Tribulo H, Bo GA, Gatti G, Tegli JC, Cutaia L, Moreno D, Brito M, Tribulo R. 2000. Pregnancy rates in embryo recipients treated with estradiol benzoate and CIDR-B

vaginal devices to eliminate the need for estrus detection. 14<sup>th</sup> international congress on animal reproduction, Stockholm, Sweden; 2: 115 abstr.

54. Ceva salud animal PRID® DELT progesterona en dispositivo intravaginal.
55. Bo, G.A., Adams, G.P., Nasser, L.F., Pierson, R.A., Mapletoft, R.J. 1993. Effect of estradiol valerate on ovarian follicles, emergence of follicular waves and circulating gonadotropins in heifers. *Theriogenology*, 40: 225-239.
56. McGowan, M.R. 1999. Sincronización de celos y programas de inseminación artificial a tiempo fijo en Ganado bos indicus y cruce bos indicus. Resúmenes tercer simposio internacional de reproducción animal, Carlos Paz, Córdoba, Argentina, 71-82.
57. Jimenez, C. (2009). Superovulación : estrategias, factores asociados y predicción de la respuesta superovulatoria en Bovinos *Rev. Med. Vet. Zoo*. 56: 195-214. Universidad nacional de Colombia.
58. Becaluba, F. 2007. Factores que afectan la superovulación en bovinos. Consultado el 23 de septiembre del 2007.
59. Bilelanski, A; Yadav. 1990. A note on fertilization and embryo production in superovulated cattle with various levels of subcutaneous fat tissue. *Animal production* 51: 426-430.
60. Palma, G.; Brem, G. 1993. Transferencia de embriones y biotecnología de la reproducción en la especie bovina ed. Hemisferio Sur S.A. Buenos Aires. Argentina. 503p.
61. Rodríguez C.F.M. 1988. Qualitative and quantitative evaluation of embryo transfer in cattle. I. performance of zebu and Bos Taurus cattle. *Revista do centro de ciencias rurar* 18 (suppl), 373.
62. Gordon I. 2004. Tecnología de la reproducción de animales de granja. Ed. Acribia S.A. Zaragoza, España. 441p.

63. Moreno , J,. 2004. Transferencia xde embriones en bovinos. Texas, EUA. 97p.
64. Baruselli PS, marques M.O, Madureira E.H, Costa Neto W.P, Grandinetti RR, Bo GA. 2001. Increased pregnancy rates in embryo recipients treated with CIDR-B devices and eCG. Theriogenology %%: 157 abstr.
65. Cavalieri, J., Rubio, I., Kinder, J.E., Entwistle, K,W. Fitzpatrick, L.A. 1997. Synchronization of estrus and ovulation and associated endocrine changes in Boss indicus cows. Theriogenology, 47: 801-814.
66. Hinshaw R.H, formulating ET contracts. Annual meeting Soc for theriogenology, Nashville, USA, 1999; 399-404.
67. Stock AE, Fortune JE. 1993. Ovarian follicular dominance in cattle: relationship between prolonged growth of the ovulatory follicle and endocrine parameters. Endocrinology; 132: 1108-1114.
68. Fuentes S, De la fuente J. 1997. Different synchronization treatments for direct embryo transfer to recipients heifers. Proc XIII annual meeting AETE, lyon, france; 148 abstr.
69. Colazo M.G. mapletoft. R.J. estado actual yy aplicaciones de la transferencia de embriones en bovinos.
70. Leyva. C, Barreras. A, Varizanga. M, transferencia no quirúrgica de embriones en el ganado bovino acceso en internet.