

**TÉCNICAS DE BIOTECNOLOGÍA REPRODUCTIVA PARA OBTENCIÓN DE
EMBRIONES BOVINOS**

**REPRODUCTIVE BIOTECHNOLOGY TECHNIQUES FOR OBTAINING BOVINE
EMBRYOS**

Brayan Aldana Sánchez; Luis Pinilla Quiroga

brayan.aldanas@campusucc.edu.co

luis.pinillaq@campusucc.edu.co

Asesores

Lilian Bonilla León

Ricaurte Lopera Vasquez

Seminario de Genética y Biotecnología Animal
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
Universidad Cooperativa de Colombia, Sede Ibagué

2021



Resumen

La aspiración folicular permite implementar un mejoramiento genético a través de la producción de embriones, facilitando la rentabilidad en el ámbito ganadero del país, es así que existen dos técnicas de importancia que son, la producción de embriones *in vivo* con tecnología MOET y la producción de embriones *in vitro* con tecnología OPU. Se denomina superovulación al aumento del número fisiológico de ovulaciones propias de la especie, provocado por la administración de gonadotropinas, para así obtener varios descendientes de manera natural en corto tiempo, a partir de una hembra genéticamente superior. La aspiración folicular transvaginal, es una técnica mediante la cual los ovocitos inmaduros son recolectados de los folículos en los ovarios de una vaca viva por aspiración guiada mediante ultrasonografía a través de la pared vaginal. Dentro del programa de reproducción bovina es necesario conocer a fondo cada hormona usada para la superovulación en las hembras y contar con experiencia a la hora de extraer los ovocitos y óvulos fértiles.

Palabras Clave: MOET, aspiración folicular, embriones, ovocitos, óvulos, hormonas, superovulación, OPU, *in vivo*, *in vitro*.

Universidad Cooperativa
de Colombia

Abstract

Ovum Pick Up, allows us to implement genetic improvement through the production of embryos, facilitating profitability in the country's livestock environment, so there are two important techniques that are, the production of embryos *in vivo* with MOET technology and the production of *in vitro* embryos with OPU technology. Superovulation is the increase in the physiological number of ovulations typical of the species, caused by the administration of gonadotropins, in order to obtain several offspring naturally in a short time, from a genetically superior female. Transvaginal follicular aspiration is a technique by which immature oocytes are collected from the follicles in the ovaries of a live cow by ultrasound-guided aspiration through the vaginal wall. Within the bovine reproduction program, it is necessary to know in depth each hormone used for superovulation in females and to have experience when it comes to extracting fertile oocytes and ovules.

Key words: MOET, follicular aspiration, embryos, oocytes, ovules, hormones, superovulation, OPU, *in vivo*, *in vitro*.

Universidad Cooperativa
de Colombia

Introducción

Las técnicas de transferencia de embriones en los bovinos, son biotecnologías innovadoras y muy valiosas al momento de aumentar el número de animales en los sistemas de producción bovina para carne o leche, en donde se busca mejorar la eficiencia de cada animal durante su tiempo de vida, es así, que los programas de reproducción bovina en Colombia han venido creciendo alrededor de los últimos 10 a 15 años, donde los ganaderos han notado, que estas técnicas traen muchas ventajas, como mejorar genéticamente los bovinos para una mayor productividad en un menor tiempo (1). En la actualidad, la productividad adecuada para una ganadería se encuentra establecida en los altos parámetros en reproducción y producción de sus animales, donde los ganaderos buscan aumentar el nivel reproductivo de sus hatos, en la que se conduce a que cada una de sus vacas generen una cría por año en el mejor de los casos, para esto se implementan esquemas de súper ovulación en las vacas donadoras de embriones y de sincronización del celo tanto en las hembras donadoras como en las hembras receptoras (2).

Existen diversos métodos de sincronización de celos para la donadora y la receptora, por lo que, para la programación del celo en las hembras bovinas es importante conocer la dinámica folicular y así saber qué tipo de método hormonal se puede implementar para un mejor rendimiento y mayor producción. Para un buen manejo de la superovulación, es necesario hacer un proceso endocrino en el ciclo estral de la hembra bovina hasta la ovulación de los folículos, los cuales se han desarrollado como una respuesta al tratamiento hormonal respectivo que se da en cada hembra (5)(6). Es así que al momento de la utilización de las hormonas se debe realizar de manera terapéutica para una mayor eficiencia reproductiva, dentro de ellas encontramos la gonadotropina, estradiol, progesterona y gonadotropina coriónica equina para la sincronización de celo y llegar a la ejecución de la aspiración folicular (7). La técnica de aspiración folicular transvaginal guiada por ultrasonografía (OPU sigla en inglés de Ovum Pick Up), se encarga del

reclutamiento de los ovocitos disponibles en el ovario de la hembra para realizar la fecundación (7).

Según las técnicas en producción de embriones; la técnica *in vivo* con tecnología MOET (Multiple Ovulation Embryo Transfer) se basa en la super estimulación del ovario con el fin de provocar una ovulación múltiple en la hembra donante y no hacerlo de forma natural debido a que no se obtiene el mismo resultado, mientras que la *in vitro* con tecnología OPU, usada en vacas adultas en varios estados fisiológicos: cíclicas, no cíclicas, durante el primer tercio de la gestación y en terneras o novillas prepúberes a partir del sexto a octavo mes de edad, también en vacas que no responden a estímulos hormonales y su objetivo es la producción de embriones por medio de ovocitos los cuales son fecundados y cultivados en un laboratorio de alta genética (7).

Las técnicas aplicadas a la reproducción animal, que brindan la oportunidad de acelerar el progreso genético resultante de “mezclar” diferentes genotipos (8). Las biotecnologías más usadas en la ganadería es la MOET y la OPU, las cuales nos permiten seleccionar animales de alta producción y adecuada adaptabilidad ambiental, para mejorar la calidad genética e incrementar el número de crías en el hato (9). Es muy importante conocer los costos para transferir un embrión y así mismo conocer si esta técnica es rentable para el hato ganadero, ya que según el tipo de protocolo que se utilizara para la súper ovulación, en donadoras para la obtención de embriones, los costos de producción en Colombia oscilan entre los 1.600.000 a 2.000.000 de pesos por vaca (6). El objetivo de esta revisión bibliográfica es identificar y describir las actualizaciones desarrolladas en los últimos años para las técnicas de biotecnología reproductiva en la obtención de embriones bovinos, determinando resultados en producción de embriones y tasa de preñez para las dos técnicas descritas.

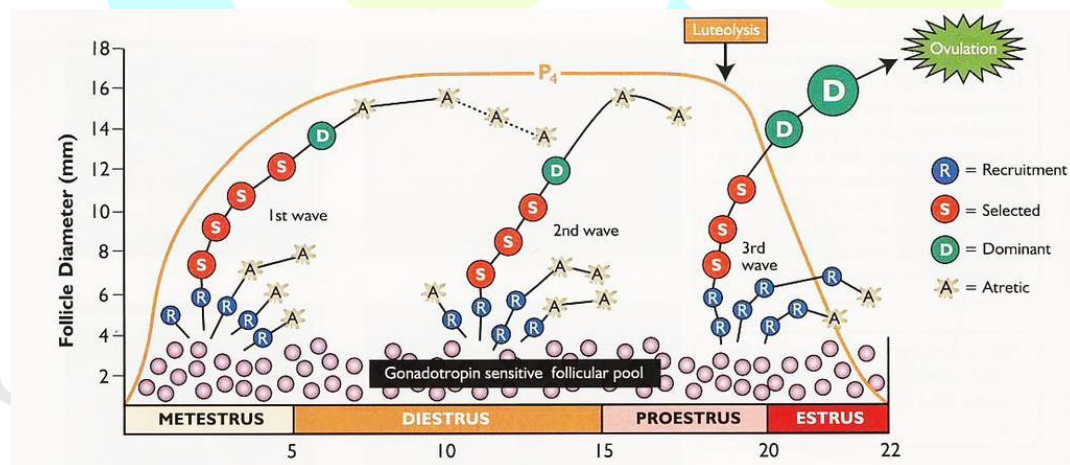
Marco conceptual

Fisiología Reproductiva Bovina

- *Dinámica folicular*

En la hembra bovina están regulados los procesos reproductivos por un complejo conjunto de factores que se interrelacionan y permiten que se presente la ovulación como punto final del ciclo estral y punto inicial en la vida reproductiva de la hembra bovina (10). Esta dinámica folicular ocurre en forma de ondas las cuales pueden ser 2 o 4 ondas de crecimiento folicular durante el ciclo estral para ganado *Bos indicus* y para los *Bos taurus* de 2 a 3 ondas foliculares, la primera onda emerge el día 2 del ciclo y la segunda onda el día 11, siendo el intervalo entre emergencia de las ondas de 9 días en un ciclo de dos ondas. Es importante conocer que las concentraciones de P_4 en plasma influyen sobre el número de ondas que se presentan en el ciclo estral (11).

Gráfico 1. Ciclo estral y las ondas de crecimiento folicular Bovina.



Fuente: (40)

Técnica MOET

Los tratamientos a base de hormonas para producir una ovulación múltiple (OM), junto a la transferencia de embriones (TE), hacen posible utilizar intensivamente a las hembras superiores genéticamente. Este conjunto de tecnologías se denomina de manera internacional, como MOET (ovulación múltiple y transferencia de embriones) (8). Se compone de varios procesos como la superovulación, inseminación artificial a tiempo fijo (IATF), cultivo *in vivo* de embriones, recuperación de embriones, y la transferencia de embriones (8). Para esta técnica, es necesario contar con una hembra donante, preferiblemente de alto valor genético, esto con el fin de producir embriones de alta calidad para el productor, quien busca aumentar el número de animales puros en su hato, agilizar el desarrollo genético con animales superiores de doble aporte, tanto materno como paterno (8).

Sin embargo, es de destacar que esta técnica, se encuentra relativamente poco utilizada, gracias a que el número de embriones transferibles obtenidos por lavado fluctúa entre 4 a 6 y se debe tener muy claro que las hembras necesitan tener una edad mínima para el inicio de los tratamientos además se ha experimentado variaciones en los últimos 15 años. La falta de respuesta de algunas hembras a la superovulación, la necesidad de fijar periodos de descanso entre dos tratamientos de superovulación y la falta de resultados en casos concretos de infertilidad derivado de problemas ginecológicos o la infertilidad del macho, además de las enfermedades reproductivas, generan que esta tecnología muchas veces tenga opositores a la hora de implementarla (1)(12).

Dentro de la biotecnología MOET es imprescindible la ejecución de protocolos hormonales, pero un poco menos importante para la OPU-FIV (Aspiración Folicular - Fecundación *In vitro*), ya que, en el caso de la técnica MOET, se busca producir un mayor número de embriones viables, mientras que la misión en la técnica OPU-FIV es incrementar el número de ovocitos, a partir de los cuales se producirán embriones *in vitro*, otra parte fundamental que pueda afectar estas tecnologías es la reducida vida media y características de los productos hormonales empleados

para estimular el ovario, puesto que las dosis de administración influye de forma significativa en los resultados. La superestimulación ovárica afecta a la calidad de los embriones recogidos, pero, por otro lado, mejora la capacidad del ovocito para completar su maduración, y aumenta los porcentajes de desarrollo hasta blastocisto (13). Esta biotecnología se basa en el proceso de inseminación de una hembra, con un toro de alto valor genético, estos embriones van a ser recogidos mediante un lavado uterino el cual se realiza el día 7 después del protocolo hormonal, estos embriones que se recogen, pasan por un proceso de conservación a bajas temperaturas y deben ser transferidos en el menor tiempo posible a la hembra receptora (14).

Para escoger una óptima receptora es importante que sea un animal con una excelente habilidad materna, por lo general se utilizan híbridos con habilidad materna en donde se implantará el embrión, se llevará a cabo toda la gestación, hasta culminar en el parto (15). Se realizan 2 o 3 Inseminaciones Artificiales (IA) por protocolo, al requerirse la IATF con dosis de diferentes toros, convirtiéndose en un proceso de resultados impredecibles o al implementar semen sexado (para producir crías de sexo conocido), el porcentaje de embriones viables recuperados por lavado (MOET), disminuye debido a su menor fertilidad con semen sexado relación al semen no sexado y al menor número de espermatozoides/pajilla, de forma que el número de pajillas de semen utilizadas aumenta (17)(18).

- **Protocolos de Súperovulación**

Los protocolos usados en las hembras bovinas se inician en el diestro entre el día 8 o 14 del ciclo (28), y se caracterizan por tener tres tipos diferentes de gonadotropinas para inducir superovulación como son las gonadotropinas de extractos de pituitaria de animales domésticos, la (FSH), la gonadotropina coriónica equina (eCG) y gonadotropina menopaúsica humana (hMG). La $PGF2\alpha$ se ha utilizado para inducir luteólisis en los regímenes super-ovulatorios para permitir una buena sincronización del inicio del celo y de la ovulación (19)

Tabla 1. Programa de superovulación después de un celo natural

Día	Donante	Receptora
0	Celo natural sincronizado	1° dosis de PGF2 α
10 \pm 2	7 h FSHp	
	19 h FSHp	
11 \pm 2	7 h FSHp	2° dosis de PGF2 α
	19 h FSHp	
12 \pm 2	7 h FSHp + 1 dosis de PGF2 α	
	19 h FSHp + 1 dosis dosis de PGF2 α	
13 \pm 2	7 h FSHp	Detección de celo
	19 h FSHp y observación del celo	
14 \pm 1	Detección de celo – IA	
14 \pm 1	IA	
21 \pm 1	Recolección de embriones	Transferencia Embrión (TE)

Fuente: (7)

Tabla 2. Superovulación con FSH

Día del ciclo	Hora/Dosis	Hora/Dosis
10	Am/ 5 mg FSH	Pm/ 5 mg FSH
11	Am/ 4 mg FSH	Pm/ 4 mg FSH
12	Am/ 3 mg FSH	Pm/ 3 mg FSH
13	Am/ 2 mg FSH	Pm/ 2 mg FSH
13	Am/ 4 cc PF2 α	Pm/ 3 cc PF2 α
14	Am/ 2 mg FSH	Pm/ 2 mg FSH

Fuente: (7)

Tabla 3. Protocolo de superovulación con progestágenos

Día	Hora/Dosis
0	Colocación del dispositivo intravaginal + BE+ P4
4	7 hrs FSHp
	19 h FSHp
5	7 h FSHp
	19 h FSHp
6	7 h FSHp + 1 Dosis de PF2 α
	19 h FSHp + 1 Dosis de PF2 α
7	7 h FSHp - retiro del dispositivo
	19 h FSHp
8	GnRH o LH, presentación del celo e IA
9	Inseminación Artificial (IA)
15	Colecta de embriones

Fuente: (7)

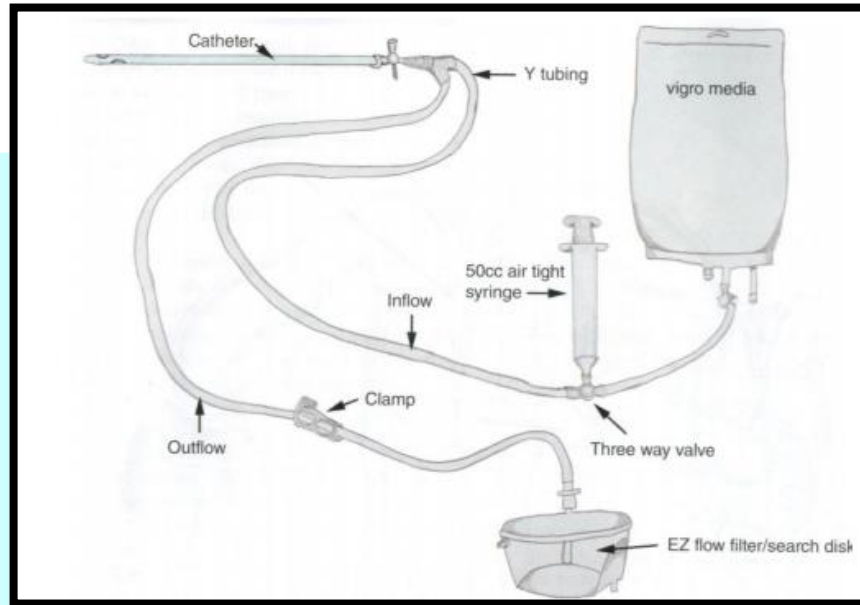
- **Recuperación embrionaria**

Este proceso se realiza preferiblemente acompañado de anestesia epidural para evitar daños y lesiones para el operario o el animal además de tener una zona de trabajo limpia y con materiales estériles que se componen de los siguientes implementos.

- Catéter de 52 cm
- Fiador de 60cm.
- Una llave de tres vías, con un extremo adaptado al catéter de recolección y los otros dos conectados a canales de entrada y salida del líquido de recolección.
- Una jeringa de 10mL y otra de 60mL.
- Filtro de recogida de embriones.
- Dilatador cervical.
- Líquido de recogida.

- Gelatina sin espermicida, especial para la recogida de embriones.

Figura 1. Sistema de recolección de embriones en bovinos.



Tomada de: (15)

Condiciones Sanitarias

Es necesaria una revisión veterinaria general y ginecológica para comprobar que las hembras son idóneas en su función como donante. Solo se permiten animales sanos, ya que se tiene la premisa que hembras sanas generan embriones sanos. (19).

Hay algunos índices que se pueden tener en cuenta para la selección de la hembra desde el punto de vista sanitario, por ejemplo, que la hembra provenga de un rebaño fértil y con buen manejo ya sea de alimentación y mantenimiento, además de estar libre de Tuberculosis, Brucelosis, Paratuberculosis, BVD e IBR en el caso de mostrar resultado positivo respecto a BVD/IBR, deberá ser negativo a la presencia de partículas virales. También en su historial de partos no deberá contar con distocias, por otra parte, esta hembra tendrá puerperios normales, con periodos entre partos e índice de inseminación por preñez bajos, además, que muestren celo

por tarde, 4 semanas post-parto, con celos posteriores regulares. Se deben descartar hembras con baja condición corporal (mínimo 3, en escala de 1-5), diarrea, cojeras, con estado ginecológico anormal luego de un puerperio problemático. Se pueden tratar aquellas donantes que por alguna carencia haya presentado problemas reproductivos, antes de su descarte (19).

Ventajas y Desventajas de la MOET

Dentro de las ventajas del MOET, se encuentra la obtención de mayor descendencia de hembras valiosas, obtener descendencia de hembras infértiles, posibilidad de exportar o importar embriones, introducir nuevo material genético en granjas libres de patógenos, y aumentar la población de razas en peligro de extinción (24). Proporcionando cierto grado de control sobre los cambios genéticos, es decir, la intensidad con que se realiza la selección, por lo tanto, se puede lograr una alta tasa de progreso genético en la granja (19). Dentro de las desventajas podemos encontrar que esta técnica tenía límites debido a que cada hembra bovina sometida a dos ciclos de superovulación debe descansar un tiempo prolongado generando un desgaste mayor para la hembra donante, por tal motivo en la actualidad esta técnica ha quedado relegada para la industria bovina debido a que en el 2008 se consideró la idea de aprovechar la cantidad de oocitos presentes en los ovarios, es así, como la fertilización *in vitro* (FIV) tomo mayor acogida en los profesionales encargados de ejecutar estas biotecnologías reproductivas especialmente en la producción de embriones, además los costos de producción de un embrión por la técnica OPU-FIV es más económico que para los generados por la biotecnología MOET (19).

Técnica Aspiración Folicular (OPU)

La aspiración folicular guiada por ultrasonografía para la recuperación repetida de ovocitos de hembras donantes vivas fue desarrollado a finales de la década de 1980 esta técnica se ha convertido en una de la predominante para la recolección de ovocitos de ganado vivo (19). Se ha determinado mediante un estudio que el número total anual de colecciones de OPU en los Estados Unidos creció de 2,000 colecciones en 2000 a 32,000 colecciones en 2015 (20). Esta técnica permite producir embriones a partir de ovocitos, los cuales son fecundados en un laboratorio de alta genética, estos se cultivan *in vitro*, durante un periodo de 7 días, a partir de este momento, se realiza una selección de los embriones viables para transferirse a las hembras receptoras o de ser necesario, pasar a un periodo de conservación a través de la congelación (21).

Mediante el desarrollo del sistema de punción que se realiza vía transvaginal guiado por ultrasonografía, se permite de manera innovadora que la obtención de ovocitos sea en hembras donantes vivas, debido a que anteriormente solo se realizaba en hembras donantes muertas, después de su fecundación, se procede a transferir los embriones a las hembras receptoras. Para realizar este procedimiento se necesita un equipo de ultrasonido, una bomba de aspiración y un sistema guía de aguja hipodérmica desechable calibre 18, que va conectado a el tubo colector, este debe contar con una presión entre 50-85 mm Hg y una temperatura de 38°C. Para la seguridad del operario y hacer más efectivo el procedimiento, se recomienda hacer una previa sedación de la hembra. Lo más utilizado para esto es Democedan (clorhidrato de detomidina) vía endovenosa (posología de 1mg/100kg peso vivo), y la xilacina (22).

Posteriormente a esto, se realiza una correcta limpieza en la vulva y el ano, con el fin de insertar el sistema de aguja con el transductor del ultrasonido que va hasta el cérvix. La mano contraria que queda libre, se inserta por el ano, para proceder a buscar el ovario por medio de la pantalla de ultrasonografía. Se realiza la punción y se extraen los ovocitos, estos deben estar en una temperatura de 38°C para que se

mantengan vivos, igualmente, estos ovocitos recolectados deben estar en un medio de Tyrode's Albúmina Lactato Piruvato (TALP) (22), que es enriquecido con suero de ternero fetal al 2%, penicilina 100UI/ml, estreptomina 0,1 mg/ml y heparina 5UI/ml; lo adecuado es que se deben perforar los folículos mayores a 3 mm de diámetro durante cada sesión OPU (23).

Otro de los aspectos importantes de la aplicación OPU en los sistemas de producción ganadera es el efecto positivo general que se evidencia con la pre-estimulación de FSH antes de la OPU sobre el desarrollo posterior de los ovocitos, puesto que se observa un mejor desarrollo cuando la estimulación es seguida a las 48 horas de la aspiración. El fluido folicular recogido se decanta en un filtro de embriones, los ovocitos se aíslan con un estereoscopio. Se dividen en 4 grupos según la presencia o ausencia de células de cúmulos que rodean los oocitos y su configuración citoplasmática (23). Los complejos de oocitos-cúmulos fueron clasificados de la siguiente forma: Grado 1) más de tres capas de material compacto de células del cúmulo; Grado 2) al menos una capa de células del cúmulo; Grado 3) desnudo; Grado 4) atrésico, con células cúmulos oscuras y signos de degeneración citoplasmática, Los oocitos atrésicos se descartan y los demás (Grados 1, 2 y 3) se utilizan en el proceso de producción de embriones *in vitro* (PIV) (24).

Universidad Cooperativa
de Colombia

Fertilización y Producción de Embriones *in vitro*

Los ovocitos recuperados son sometidos al tratamiento propuesto por Pontes et al. (25) El material que se aspira, se filtran a través de un filtro EmCon con solución salina tamponada con fosfato (PBS) suplementado con suero fetal bovino (SFB) al 5%. Antes de la maduración *in vitro* (MIV), los complejos del cúmulo del oocito (COC) se lavan tres veces con TCM-199 HEPES suplementado con SFB al 10% y sulfato de gentamicina 50 g y una vez en bicarbonato TCM-199, suplementado con SFB al 10%, 5 g de hormona luteinizante (LH), 0.5 g hormona folículo estimulante (FSH - Folltropin), 1 g de estradiol (17β estradiol), 2.2 g de piruvato, 50 g de gentamicina/ml de medio. Después de la maduración, los COC se lavan tres veces en el medio de pre-fertilización de TCM-199 suplementado con HEPES 25 mM y albúmina sérica bovina (BSA) al 0.3% y una vez en medio de fertilización TALP suplementado con 10 g/ml de heparina y 160 μ l de solución PHE. Se realiza la FIV. El semen se separa en Percoll 90 al 45% y se centrifuga (200 g) durante 30 min, antes de ajustarse para obtener una concentración final de 100×10^3 espermatozoides viables por gota. La FIV se lleva a cabo durante 18 horas a 39 °C en una atmósfera de CO₂ al 5% en aire (26).

Después de la FIV, los oocitos y los COC se transfieren a gotas de 100 μ l de medio de cultivo para embriones (CIV), un fluido sintético modificado del oviducto, SOFaa BSA, conteniendo 8 mg/ml de BSA libre de ácido graso y glutamina 1 mM. Permanecen en este medio entre 5 y 8 días. Este paso se realiza bajo condiciones de misma temperatura y ambiente gaseoso. La osmolaridad se mantiene en 270 - 280 mOsmol y el pH es de 7, el medio de cultivo se renueva para cada micropozo después de 3 y 5 días, y después de 6 días es llevado a la granja para transferir los embriones a las vacas receptoras (27). Los embriones se clasificaron de acuerdo con los criterios IETS. Solo se consideran embriones de grado I o II para transferir (embriones de mórula y blastocistos de 6 y 7.5 días de desarrollo). La calidad embrionaria, el número de células embrionarias de la masa celular interna y trofoectodermo, incidencia de apoptosis, capacidad de eclosión, anormalidades

cromosómicas y expresión de genes específicos, han sido aceptados extensamente como determinantes de la calidad embrionaria (28).

Comparación de las técnicas superovulación y fertilización *in vitro*

En los sistemas MOET, la vaca donante debe ser sometidas a protocolos hormonales, para así poder obtener más de un embrión por vaca, por otra parte, en la OPU/FIV no es indispensable el uso hormonas para obtención de los ovocitos. (41) se observan mayores resultados, OPU/FIV generando la producción de más de 160 embriones por vaca donante al año, y en la MOET genera 30 embriones por vaca año. En la MOET no se puede implementar en animales jóvenes, ni mayores de 10 años, tampoco con enfermedades reproductivas, o el animal en descarte ni en gestación. En cambio, en la OPU Se implementan en animales jóvenes, desde los 6 meses de edad, animales mayores de 10 años, animales de descarte y en gestación hasta el primer tercio. Se puede utilizar de 4 a 5 veces por año vaca la técnica MOET y en la OPU se puede utilizar dos secciones semanales por un periodo 3 a 6 meses, se presentan mejores resultados en ganado *Bos indicus* que en *Bos Taurus*, y en la MOET es la contrario. La comparación del número de embriones transferibles en el día 7 después de OPU con el número de embriones viables recolectados con MOET probablemente proporcionaría heredabilidades más similares, Se sugirió que OPU y MOET comparten el mismo trasfondo biológico, es decir, número de óvulos en el ovario Por lo tanto, se espera una alta correlación entre los rasgos. Costo de la técnica MOET oscila entre unos 1.600.000 a 2.000.000 de pesos colombianos por vaca, y en la OPU oscila entre unos 650.000 a 1.000.000 de pesos colombianos por vaca. (29)

Conclusiones

- Las nuevas técnicas de biotecnología reproductiva para la obtención de embriones bovinos, requieren esfuerzos económicos y técnicos, además, de personal capacitado para su ejecución, con el fin de beneficiar al ganadero, expresando en sus parámetros reproductivos, un mayor número de animales y de calidad en el menor tiempo posible.
- La técnica MOET produce un mayor número de embriones viables, mientras que en la OPU-FIV se incrementa el número de ovocitos, a partir de los cuales, se producirán embriones *in vitro*.
- Es de gran importancia el manejo de estas dos técnicas para lograr un mayor mejoramiento genético y productividad de los hatos colombianos.
- Gracias a estas 2 técnicas se abren mayores posibilidades de comercialización de animales con altos valores genéticos al ganadero.
- Es de vital importancia conocer las diferentes fases del ciclo estral del animal y cada una de las hormonas utilizadas en los protocolos de superovulación para obtener una mayor eficacia y eficiencia a la hora de practicar cada una de las técnicas (MOET-OPU-FIV).

Universidad Cooperativa
de Colombia

Bibliografía

1. Díez C, Muñoz M, Caamaño J, Piñeiro E. Estado actual de los sistemas de producción de embriones en ganado bovino. *Tecnol Agroaliment.* 2013;12:35–9.
2. Mogollón Waltero ÉM, Burla Dias AJ. Superovulación de hembras bovinas: de inyecciones de fsh alternativas para reducir el número. *Spei Domus [Internet].* 2013;9(18):38–45. Available from: <https://revistas.ucc.edu.co/index.php/sp/article/view/545/518>
3. Héctor N-T, Hernández-Fonseca H. Aspiración folicular transvaginal [Internet]. *Manual de Ganadería Doble Propósito.* Maracaibo-Venezuela; 2005. Available from: http://www.avpa.ula.ve/docuPDFs/libros_online/manual-ganaderia/seccion8/articulo3-s8.pdf
4. López SR. ovum pick up (opu) en bovinos: Aplicaciones en Biotecnología de la reproducción [Internet]. Murcia, España; 2009. Available from: [http://axonveterinaria.net/web_axoncomunicacion/criaysalud/31/cys_31_58-63_ovum_pick_up_opu\)_bovinos.pdf](http://axonveterinaria.net/web_axoncomunicacion/criaysalud/31/cys_31_58-63_ovum_pick_up_opu)_bovinos.pdf)
5. Bolívar P, Maldonado J. Racionalidad de los esquemas de superovulación y sincronización en la transferencia de embriones en bovinos: ¿terapéutica basada en la evidencia o ausencia de ética? Racionalidad de los esquemas de superovulación y sincronización en la transferencia de emb. *Rev Colomb Ciencias Pecu [Internet].* 2008;21:436–50. Available from: <http://www.scielo.org.co/pdf/rccp/v21n3/v21n3a13.pdf>
6. Bolívar PA, Maldonado Estrada JG. Análisis de costos de esquemas de transferencia de embriones bovinos utilizados en Colombia. *Rev Colomb Ciencias Pecu [Internet].* 2009;21(3):351–64. Available from: <https://revistas.udea.edu.co/index.php/rccp/article/view/324306>
7. Cordova Salinas A. Protocolos de sincronización y superovulación para transferencia de embriones en bovinos. [Internet]. universidad de cuenca facultad de ciencias agropecuarias escuela de medicina veterinaria y zootecnia. universidad de cuenca; 2011. Available from: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/3050/1/mv167.pdf>
8. Rodríguez M, Vallejo A, Batista P, Espasandin AC. Biotecnologías reproductivas aplicadas a la mejora genética animal [Internet]. *NOTA TÉCNICA: Biotecnologías reproductivas aplicadas a la mejora genética animal.* 2011 [cited 2021 Feb 17]. p. 44–50. Available from: http://www.eemac.edu.uy/canguel/joomdocs/canguel031_rodriguez.pdf
9. Medrano R. J, Evangelista V. S, Sandoval M. R, Ruiz G. L, Delgado C. A, Santiani A. A. Aplicación De La Técnica No Quirúrgica De Transferencia De Embriones Bovinos En Un Establo De La Cuenca Lechera De Lima. *Rev*

- Investig Vet del Perú. 2014;25(1):95–102.
10. Motta PA, Cuéllar NR, Sánchez CM, Rojas ECC. Dinámica folicular en la vida reproductiva de la hembra bovina. *Anim Reprod Sci.* 2004;82–83(2):431–46.
 11. D'Enjoy D, Cabrera P, Vivas I, Díaz T. Dinámica Folicular ovárica Durante el ciclo estral en vacas Brahman. *Vet Med Int.* 2011;2011(1):39–47.
 12. Viana J. Statistics of embryo production and transfer in domestic farm animals. *Embryo Technol Newsletter-IETS.* 2019;36(4):1–26.
 13. Machaty Z, Peippo J, Peter A. Production and manipulation of bovine embryos: Techniques and terminology. *Theriogenology* [Internet]. 2012;78(5):937–50. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.04.003>
 14. Sirard* M-A, Grand F-X, Labrecque R, Vigneault C, Blondin P. triennial reproduction symposium: looking back and moving forward – how reproductive physiology has evolved. 2019;(1):1–26.
 15. Ponce N. Transferencia de embriones en ganado bovino [Internet]. Universidad Cardena Herrera; 2015. Available from: http://dspace.ceu.es/bitstream/10637/7574/1/Transferencia de embriones en ganado bovino_TFG_Nuria Ponce Palau.pdf
 16. Gutiérrez C, Cifuentes E, Pérez V R, Romero Y L, Martínez H N, González T M. Transferencia de embriones fecundados *in vitro* en ganado bovino de doble propósito. *Rev MVZ Córdoba.* 2017;(1):52–7.
 17. Peippo J, Vartia K, Kananen-Anttila K, Rätty M, Korhonen K, Hurme T, et al. Embryo production from superovulated Holstein-Friesian dairy heifers and cows after insemination with frozen-thawed sex-sorted X spermatozoa or unsorted semen. *Anim Reprod Sci.* 2009;111(1):80–92.
 18. González-Maldonado J, Rangel-Santos R, Rodríguez-de Lara R. Superovulatory response and embryo quality of Holstein heifers treated with one or two injections of somatotropin. *Rev Colomb Ciencias Pecu.* 2015;28(4):339–46.
 19. Mazzoni G, Salleh SM, Freude K, Pedersen HS, Stroebech L, Callesen H, et al. Identification of potential biomarkers in donor cows for *in vitro* embryo production by granulosa cell transcriptomics. *PLoS One.* 2017;12(4):1–27.
 20. Del Rosal J. Factores de manejo que impactan en la producción de ganado bovino de carne [Internet]. universidad autónoma agraria antonio narro unidad laguna división regional de ciencia animal; 2003. Available from: <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/42585/gil-eduardo-benitez-meza.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
 21. Deb GK, Jin JI, Kwon TH, Choi BH, Bang JI, Dey SR, et al. Improved blastocyst development of single cow OPU-derived presumptive zygotes by

- group culture with agarose-embedded helper embryos. *Reprod Biol Endocrinol.* 2011;9:1–11.
22. Muller J. Utilización de la inseminación artificial y la superovulación con transferencia de embriones en el mejoramiento genético de ovinos. *Comunicación Técnica del INTA Producción Animal* 323; 1993. Citados por: Gibbons A, Cueto M. manual de transferencia de embriones en ovinos y caprinos. 2nd ed. INTA EEA Bariloche Centro Regional Patagonia Norte; 2013.
 23. Tervit H, Peterson A, Thompson J. Development in domestic animal embryo manipulation technology which support the application of molecular biology to animal production. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production*; 1990. Citados por: Wakchaure R, Ganguly S. Multiple Ovulation Embryo Transfer (MOET) - Nucleus Breeding Scheme: A Review. *International Journal of Engineering and Innovative Technology (IJEIT)*; 2015.
 24. Seidel G, Seidel S. The embryo transfer industry. New York: In *New Technologies in Animal Breeding* Eds; 1981. Citados por: Wakchaure R, Ganguly S. Multiple Ovulation Embryo Transfer (MOET) - Nucleus Breeding Scheme: A Review. *International Journal of Engineering and Innovative Technology (IJEIT)*; 2015.
 25. Wakchaure R, Ganguly S. Multiple Ovulation Embryo Transfer (MOET) - Nucleus Breeding Scheme: A Review. *International Journal of Engineering and Innovative Technology (IJEIT)*; 2015.
 26. Capallejas S, Cabodevila S, Palma G, Albeiro R, Torquati S, Butler H. Grupo de Biotecnología de la Reproducción Superovulación y transferencia de embriones bovinos. INTA; 2009.
 27. Stringfellow D, Siedel S. Manual de la Sociedad Internacional de Transferencia de Embriones I.E.T.S. 3rd ed. *Internacional Embryon Transfer Society*; 2000.
 28. Mapletof. *Transfer en CIA de Embriones en Bovinos*. 2006.
 29. Catteeuw M, Wydooghe E, Mullaart E, Knijn H, Soom A. *In vitro* production of bovine embryos derived from individual donors in the Corral® dish. *Acta Veterinaria Scandinavica*; 2017.
 30. Cope E, Voy B, Staton M, Lane T, Davitt J, Mulliniks J. Effect of β -hydroxybutyrate on gene expression in the hypothalamus and pituitary of sheep. University of Tennessee, Knoxville; 2017.
 31. Wenzinger B, Bleul U. Effect of a prostaglandin F₂ α analogue on the cyclic corpus luteum during its refractory period in cows. Wenzinger and Bleul *BMC Veterinary Research*; 2012.
 32. Hirsbrunner G, Burkhardt H, Steiner A. Effects of a single administration of prostaglandin F₂ α , or a combination of prostaglandin F₂ α and prostaglandin E₂, or placebo on fertility variables in dairy cows 3–5 weeks post

- partum, a randomized, double-blind clinical trial. *BioMed Central*; 2006.
33. Tang K, Li S, Yang W, Yu J, Han L, Li X et al. An Mspl polymorphism in the inhibin alpha gene and its associations with superovulation traits in Chinese Holstein cows. *Mol Biol Rep*; 2011.
 34. Bolivar P, Maldonado J. Análisis de costos de esquemas de transferencia de embriones bovinos utilizados en Colombia. *Revista Colombiana de ciencias pecuarias*; 2007.
 35. Saint M, Olivier S, Ployart S, Chebrout M, Constant F. Expression of nuclear progesterone receptor and progesterone receptor membrane components 1 and 2 in the oviduct of cyclic and pregnant cows during the post-ovulation period. *Reproductive Biology and Endocrinology*; 2012.
 36. Sintex. manejo farmacológico del ciclo estral del bovino. Sitio Argentino de Producción Animal; 2005.
 37. Noseir W. Ovarian follicular activity and hormonal profile during estrous cycle in cows: the development of 2 versus 3 waves. *BioMed Central*; 2003.
 38. Patterson D, Kojima F, Smith M. A review of methods to synchronize estrus in replacement beef heifers and postpartum cows. *Journal of Animal Science*; 2003.
 39. Sagbay C, Garnica P. “efecto de la gonadotropina corionica equina (ecg) aplicada al momento de retirar el dispositivo de progesterona (p4) sobre el porcentaje de preñez en vacas holstein post-parto”. universidad politécnica salesiana; 2012.
 40. Senger, P.L. The estrus detection problem: new concepts, technologies, and possibilities. *J. Dairy Sci.* 1994. Citado por: Guaqueta Munar H., En: Cambios en las estructuras ovaricas y perfiles hormonales durante el ciclo estral. Seminario Internacional de Reproduccion Bovina y Salud de Hato.
 41. Henao RG. Algunos factores relacionados con la dinámica folicular en *Bos indicus*. *Rev Fac Nac Agron.* 2010;63(2):5577–86.
 42. Motta PA, Cuéllar NR, Sánchez CM, Rojas ECC. Dinámica folicular en la vida reproductiva de la hembra bovina. *Anim Reprod Sci.* 2004;82–83(2):431–46.
 43. Arthur, G.H. *Veterinary reproduction and obstetrics.* Fourth edition. London: BaillièreTindall, 1975. 616p.
 44. Van Wagtendonk-de Leeuw AM. Ovum Pick Up and *In vitro* Production in the bovine after use in several generations: A 2005 status. *Theriogenology.* 65: 914-925. 2006.
 45. Blondin P, Guilbault LA, Sirard MA. The time interval between FSH administration and slaughter can influence the developmental competence of beef heifer oocytes. *Theriogenology.* 48: 803-13. 1997.

46. Chaubal SA, Molina JA, Ohlrichs CL, Ferre LB, Faber DC, Bols PEJ, Riesen JW, Tian X, Yang X. Comparison of different transvaginal ovum pick-up protocols to optimise oocyte retrieval and embryo production over a 10-week period in cows. *Theriogenology*. 65: 1631-48. 2006.



Universidad Cooperativa
de Colombia