

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO
NARRO**

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



**EXPERIENCIA PROFESIONAL EN LA EMPRESA
NEEK BIOTECNOLOGÍA REPRODUCTIVA,
UBICADA EN EL MUNICIPIO DE TORREÓN,
ESTADO DE COAHUILA.**

POR

PERICLES CAZAREZ MENDOZA

TESINA

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER
EL TÍTULO DE:**

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO.

SEPTIEMBRE DE 2011

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO
NARRO**

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



**EXPERIENCIA PROFESIONAL EN LA EMPRESA
NEEK BIOTECNOLOGÍA REPRODUCTIVA,
UBICADA EN EL MUNICIPIO DE TORREÓN,
ESTADO DE COAHUILA.**

TESINA

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER
EL TÍTULO DE:**

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

POR

PERICLES CAZAREZ MENDOZA

ASESOR PRINCIPAL

MVZ EPAB CARLOS RAMÍREZ FERNÁNDEZ

TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO.

SEPTIEMBRE DE 2011

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



TESINA

**EXPERIENCIA PROFESIONAL EN LA EMPRESA NEEK
BIOTECNOLOGÍA REPRODUCTIVA, UBICADA EN EL
MUNICIPIO DE TORREÓN, ESTADO DE COAHUILA.**

APROBADO POR EL COMITÉ

PRESIDENTE DEL JURADO


M.V.Z. CARLOS RAMÍREZ FERNÁNDEZ

**COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA
ANIMAL**


M.V.Z. RODRIGO ISIDRO SIMÓN ALONSO


Coordinación de la División
Regional de Ciencia Animal

TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO

SEPTIEMBRE 2011

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

**EXPERIENCIA PROFESIONAL EN LA EMPRESA NEEK
BIOTECNOLOGÍA REPRODUCTIVA, UBICADA EN EL
MUNICIPIO DE TORREÓN, ESTADO DE COAHUILA.**

TESINA

**POR:
PERICLES CAZAREZ MENDOZA**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER
EL TÍTULO DE:**

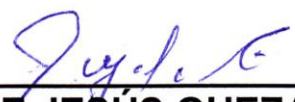
MÉDICO VETERINARIO ZOOTÉCNISTA



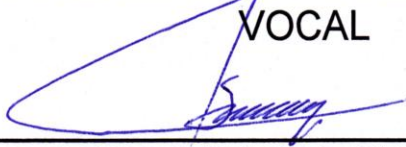
**M.V.Z. CARLOS RAMÍREZ FERNÁNDEZ
PRESIDENTE**



**M.C. MARÍA HORTENSIA CEPEDA ELIZALDE
VOCAL**



**M.C. JOSÉ DE JESÚS QUEZADA AGUIRRE
VOCAL**



**M.V.Z. RODRIGO ISIDRO SIMÓN ALONSO
VOCAL SUPLENTE**

TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO

SEPTIEMBRE 2011

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por todas las oportunidades que me ha brindado a lo largo de mi vida, por la bendición de haber sido beneficiado con mis estudios y de rodearme de las personas precisas para la contribución de mi crecimiento personal.

Agradezco a mis padres Estela Mendoza Jiménez y Benito Cázares Ortega por sus enseñanzas, consejos y el gran apoyo incondicional que a lo largo de mi vida me han brindado ya que sin ellos no hubiera tenido la fortuna de terminar una licenciatura, como hasta ahora lo he logrado.

A mis profesores y asesores que durante esta etapa de mi vida lograron enseñarme y darme las armas necesarias para salir al campo laboral y poder confrontar lo nuevo retos que me depara la vida y aún más porque aparte de ser nuestros maestros, son nuestros amigos, que solo a su lado pudimos adquirir los conocimientos necesarios para formarnos como profesionistas.

A mis compañeros y amigos que me acompañaron durante estos largos 5 años de mi preparación, fungiendo el rol de mi familia y hermanos, ya que sin ellos no hubiera podido soportar la ausencia del núcleo familiar del cual me desprendía al iniciar esta travesía.

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna, por aceptarme y hacer de mi un profesionista, una persona con carácter y principios.

DEDICATORIAS

A mis padres Estela Mendoza Jiménez y Benito Cazares Ortega por sus ánimos, consejos y el apoyo incondicional mismo que me permitieron terminar mis estudios satisfactoriamente.

A mis amigos, por acompañarme en el camino del estudio y compartir las preocupaciones, los triunfos, las derrotas, la felicidad, la tristeza y cuando más los necesite estuvieron ahí para apoyarme.

A mis profesores, por su dedicación y por creer en mí, sabiendo que podía superarme con su apoyo.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.	7
OBJETIVOS.	8
I. TÉCNICAS DE MANEJO REPRODUCTIVO.	11
1.1 Detección de celos.	11
1.1.1 Métodos y características de la detección de celo.	11
1.2 Palpación del aparato reproductor de la vaca.	18
1.2.1 Diagnóstico de gestación.	24
II. SELECCIÓN DE DONADORAS DE EMBRIONES.	30
III. SELECCIÓN DE RECEPTORAS.	33
IV. ASPIRACIÓN FOLICULAR “OVUM PICK-UP” (OPU).	34
5.1 Antecedentes históricos (OPU).	35
5.2 Descripción de la técnica de (OPU).	35
5.3 Clasificación del material colectado de la (OPU).	38
V. CONCLUSIONES.	41
VI. RECOMENDACIONES.	42
VII. RESUMEN.	46
VIII. BIBLIOGRAFÍA.	47

ÍNDICE DE CUADROS.

I. Tipos de animales marcadores para detección de celos	14
II. Ayudas para detección visual de celos	16
III. Características de las diferentes etapas de la gestación	28
IV. Selección de donantes	32

INTRODUCCIÓN

Las herramientas y procesos tecnológicos que el hombre aplica de manera directa o indirecta a la reproducción, en este caso animal, se conocen como biotecnologías reproductivas, o técnicas de reproducción asistida. En la transferencia de embriones, los embriones para un programa de mejoramiento genético de un hato se pueden obtener a partir de donadoras *in vivo* y la técnica más actualizada puede obtener oocitos inmaduros de vacas vivas y fertilización *in vitro*, esto oocitos se pueden recolectar a partir de aspiración folicular guiada por ultrasonido o directamente de ovarios colectados en rastros. Durante mis prácticas realizadas en la empresa Neek Biotecnología Reproductiva correspondientes al periodo comprendido de enero a mayo fui capacitado tanto teórico - prácticamente en diversos establos con los diferentes encargados del área de reproducción donde me enfocaron a los temas de más relevancia que son la detección de celos y la palpación donde pude conocer los diferentes sistemas de detección de celo y palpación por un lapso de un mes antes de entrar a trabajar en la empresa ya que el Sr. Pablo Rosillo Billasuso dueño de la misma, quería que reforzáramos los conocimientos adquiridos en la universidad y posteriormente nosotros hacer nuestras comparaciones y poder sacar nuestras propias conclusiones y, a la vez poder hacer recomendaciones a los productores, si fuese necesario y así mismo capacitar a más Médicos Veterinarios en el área ya que esta misma empresa ofrece este servicio, después de mi capacitación iniciamos los trabajos en la empresa antes mencionada donde al igual que en el establo tuve la oportunidad de aprender nuevas técnicas de manejo reproductivo y nuevas biotecnologías como lo que es las aspiración folicular que describiré más adelante, al concluir mis practicas resumí que el tiempo que duran éstas no es suficiente ya que hay mucho que aprender, pero que con ellas nos damos cuenta de la importancia que tiene nuestra carrera, en la sociedad y que solo con la perseverancia y esfuerzo podemos llagar a obtener una calidad de vida mejor, ejerciendo la profesionalmente.

OBJETIVOS

1. Realizar el mejor diagnóstico de gestación, mediante la palpación y el reconocimiento de los signos positivos, que solo se encuentran en vacas en esta etapa.
2. Selección de vacas donadoras de embriones, con los mejores criterios que además de producir un beneficio genético, asegurando un alto nivel de éxito.

MACROLOCALIZACIÓN Y MICROLOCALIZACIÓN DEL LABORATORIO NEEK BIOTECNOLOGÍA REPRODUCTIVA UBICADO EN CIUDAD DE TORREÓN COAHUILA

Demografía La población de la ciudad de Torreón al 2005 es de 677,157 habitantes.

Geografía Tiene una superficie de 1,947.7 kilómetros cuadrados, equivalente al 1.29% de la superficie total del estado de Coahuila. Limita al oriente con la ciudad de Matamoros, y al sureste con el estado de Durango.

Orografía Ubicado a 1140 metros sobre el nivel del mar, Torreón se encuentra formado por una extensa planicie semidesértica con escasas, pero importantes prominencias rocosas de la edad Mesozoica. Al este del municipio podemos encontrar la Sierra de Jimulco y La Sierra de la Candelaria.

Como principal elevación encontramos al Cerro de las Noas alberga al Cristo de las Noas, principal atractivo de la ciudad. Sin embargo, el Cerro del Centinela con más de 3000 metros de altura sobre el nivel del mar, es el de mayor altitud.

Hidrografía Al sur se encuentra el Río Agua naval y al norte y oeste el Río Nazas, ambos desembocando en diversas lagunas. El caudal de estos ríos sólo llega a esta ciudad en temporada de lluvias y es utilizado para la irrigación de plantaciones.

Clima La región es de clima estepario, con escasas lluvias, apenas entre 100 y 300 mm como media anual; la mayoría de estas precipitaciones van desde abril hasta octubre. La temperatura promedio fluctúa entre los 0 y 40 grados centígrados, pero puede alcanzar hasta 44 °C (2008) en verano y -8 °C (1997) en invierno (INEGI, 2010).

En algunos casos ha llegado a nevar, en las últimas décadas tan sólo en 1997 y 2004; aunque se han dado distintos tipos de precipitación de aguanieve y hielo. Sin embargo, la nieve es común en Ceballos, Durango. Ubicado apenas a 65 km de la Zona.

Los vientos generalmente provenientes del sur varían desde 20 hasta 44 kilómetros por hora y generalmente provocan tolvaneras que cubren la visibilidad hasta algunos metros de distancia (INEGI, 2010).

Economía

Industria Actualmente las dos industrias más importantes en la ciudad son por un lado la metalúrgica, ya que aquí se encuentran localizadas tanto la principal fundición de plomo, como la refinera de plata y la instalación electrolítica de zinc más importantes de México y de América Latina, en estas instalaciones, propiedad de Met-Mex Peñoles, se producen metales preciosos como la plata y el oro; y metales industriales como el plomo, el zinc, el cadmio, así como algunos subproductos químicos (INEGI,2010).

MAPA DE MACROLOCALIZACION



MAPA DE MACROLOCALIZACION



I. TÉCNICAS DE MANEJO REPRODUCTIVO

Detección de celos

La detección de celos es uno de los puntos fundamentales en un programa de transferencia de embriones. Hay muchos factores que pueden contribuir a la no detección del celo. Muchas veces la persona encargada de la detección de celos no pasa el tiempo adecuado observando los animales o combina la detección de celos con otras actividades como dar la ración al ganado (IRAC, 2009).

MÉTODOS Y CARACTERÍSTICAS DE LA DETECCIÓN DE CELOS

Observación.

La observación directa de los animales para detectar el estro es el método más ampliamente usado en ganado bovino. Sin embargo, no siempre se realiza en forma correcta, lo que ocasiona que tenga baja precisión y eficiencia. Se pierden muchos celos si no se hace la detección en los mejores momentos del día. La recomendación tradicional es observar a las vacas durante 30 minutos al amanecer y otros 30 minutos al atardecer. Se ha determinado que aproximadamente 28% de los celos solo se manifiesta durante las horas de oscuridad. De las 6 A. M. a medio día se manifiestan el 22% de los celos, solo 10% de medio día a las 6 P. M., de las 6 P. M. a media noche 25% y de media noche a las 6 a. m. 43%.

Se ha demostrado que si se invierte más tiempo en la detección, la eficiencia mejora mucho. La nueva recomendación de la "detección intensiva de calores" requiere dedicar dos horas a la observación al amanecer y otras dos al atardecer, además de una hora extra a medio día. Con esta rutina se obtiene una eficiencia similar a la de los métodos electrónicos de detección (85 - 100% de celos detectados correctamente) (IVIS, 2004).

Los signos de celo son la clave para identificar correctamente a las vacas en estro. Aunque el único signo definitivo de estro es el reflejo de inmovilidad cuando el animal es montado por otro, se presentan otros signos que pueden ayudar al observador para encontrar a los animales a los que debe prestar más

atención para detectarlos en calor. Los signos secundarios de estro son: escurrimiento de moco cristalino por la vulva, moco pegado en miembros posteriores o cola, tratar de montar a otras vacas, seguirlas, colocar su cabeza sobre el dorso, lomo o anca de otra vaca, bramidos, inquietud, caminar a lo largo de los límites del corral o potrero y caminar más en búsqueda del toro.



Uso de animales celadores

A fin de facilitar la detección de celos y mejorar su eficiencia se han desarrollado varios métodos auxiliares para la detección de calores. Una de las primeras medidas tomadas para favorecer la detección de celos fue el uso de animales celadores, como los toros marcadores imposibilitados para la cópula con el pene desviado, con dispositivos como el Pen-o-Block, vasectomizados, con epididimectomía caudal, vasectomía, penectomía, resección del músculo retractor del pene o con mandiles para lograr una marca en la grupa de las hembras que se dejaban montar como consecuencia del estro. En algunos hatos se han utilizado vacas machorras (con quistes ováricos crónicos o androgenizadas mediante inyecciones de testosterona) (IVIS, 2004).



Cuadro 1. Tipos de Animales Marcadores para Detección de Celos

Animal	Procedimiento	Ventajas	Desventajas
Toro con Pen-o-Block	Colocación quirúrgica de un dispositivo que evita la exteriorización del pene	<ul style="list-style-type: none"> - Permite la monta normal - Evita la extensión del pene y no hay penetración ni eyaculado - Ayuda a prevenir enfermedades venéreas 	- Efectivo solo durante un año ya que el toro tiende a perder la libido
Toro con vasectomía	Remoción quirúrgica de una parte de los conductos deferentes causando esterilidad	<ul style="list-style-type: none"> - Libido normal - Los estímulos de la cópula mejoran la tasa de concepción con I.A. 	- Disemina enfermedades venéreas
Toro con prepucio o pene desviado	Redirección quirúrgica del prepucio y el pene hacia un lado evitando que el pene pueda entrar por la vulva	<ul style="list-style-type: none"> - Mejor detección que con pene bloqueado o vasectomía - Evita enfermedades venéreas - No se pierde libido rápidamente 	- No se han notado
Toro con epididimectomía caudal	Remoción quirúrgica de cola del epidídimo, el semen no llegan al pene	<ul style="list-style-type: none"> - Cirugía relativamente sencilla - Método económico 	- Disemina enfermedades venéreas
Hembra androgenizada	Inyecciones o implantes con testosterona antes del empadre	<ul style="list-style-type: none"> - Duradera - Más segura que los toros - Más barata que cirugía - No se mantienen animales extra fuera del empadre 	- No se han notado

Uso de dispositivos

Otra forma de buscar eficientizar la detección de celos es el empleo de dispositivos en los animales, que tienen la finalidad de ayudar en la observación de animales en celo, aunque no sustituyen esta observación. Existen dispositivos que se colocan en los animales celadores. Uno de los más usados es el marcador de barbilla (Chin ball), que deja marcada a la vaca en calor con pintura en el lomo y grupa pues se coloca bajo la quijada del animal que monta. Es una ayuda muy efectiva, aunque el costo de la tinta usada puede ser elevado.

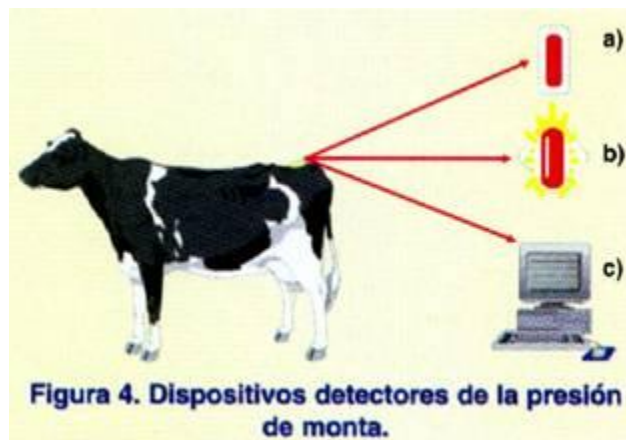
De manera similar se emplea la aplicación de crayón o pintura en la línea media sobre el sacro y la base de la cola. Aquí la desaparición del colorante es lo que nos indica que la vaca se ha dejado montar (IVIS, 2004).



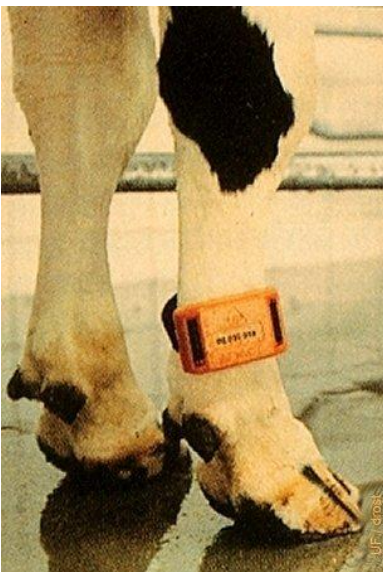
Foto 7. Hembra con pintura en la base de la cola como ayuda a la detección de celo.

Cuadro 2. Ayudas para Detección Visual de Celos			
Tipo	Aplicación	Método de detección	Costo aproximado ¹
Detector Kamar	Con adhesivo entre base de la cola y hueso de la cadera sobre el sacro	Cambia de blanco a rojo por el peso de la vaca que monta	\$ 15 - 20/vaca
Detector Bovine Beacon	Con adhesivo sobre la base de la cola	Colorante fluorescente que brilla en la oscuridad liberado por el peso de la vaca que monta	\$ 15 - 20/vaca
Pintura/crayón en base de la cola	Línea de crayón o pintura a lo largo del sacro y la base de la cola	Se borra cuando otra vaca monta	Menos de \$ 10/vaca
Marcador Chin-Ball	Dispositivo debajo de la cabeza del animal celador	Al montar deja pintura en el lomo de la vaca montada	\$ 2,000 más la tinta

También se pueden colocar sobre la grupa dispositivos electrónicos sensible a la presión, que emiten una señal de radio cuando la vaca está en estro y es montada por una compañera de hato. Esta señal de radio es capturada por un receptor y traducida a una computadora que tiene un programa que proporciona la identidad de la vaca que estuvo en calor, cuándo fue montada y la duración de cada monta. El programa clasifica la información e indica si la vaca está en celo, sospechosa de estarlo, no retorno a celo de vacas previamente inseminadas, inactividad o ciclos estrales cortos. El sistema se conoce como "Heat Watch" y empezó a usarse en 1994 (IVIS, 2004).



Otro dispositivo electrónico es el podómetro. Este dispositivo se coloca en una de las patas de la vaca y registra el número de pasos que da el animal, lo que es de utilidad pues la actividad de la vaca aumenta cuando está en celo o disminuye cuando está enferma. Los datos recopilados son leídos cuando la vaca entra a la sala de ordeña, donde se tiene un lector, que envía esa información a la computadora, cuyo programa categoriza los datos y clasifica a las vacas como en celo, sospechosas, inactivas, con ciclos cortos o largos y sin retorno a celo. Esto nos da dos o tres lecturas al día para tomar la decisión para la inseminación artificial (I.A.) (IVIS, 2004).



Conclusión

La mala detección de celos es el principal problema que afecta la eficacia reproductiva en hatos bovinos que usan I.A. Generalmente se usa el porcentaje de preñez para evaluar la eficiencia del programa, pero este parámetro está determinado por una combinación de factores: detección correcta de estros, eficiencia del inseminador y fertilidad de las hembras y del semen, de los cuales la detección de celos es el más importante.

Recomendaciones.

Es recomendable la combinación de varios sistemas de detección de estro ya que aumenta la eficiencia de la identificación de calores, así mismo los registros reproductivos bien llevados son también una ayuda para mejorar la eficacia de la detección de celos, pues podemos predecir qué vacas deben observarse con mayor atención si sabemos cuándo fue su calor anterior.

Palpación del aparato reproductor de la vaca

Esta práctica fue una de las importantes de mi preparación ya que como lo mencione antes en al inicio en la introducción, el adiestrarme en el reconocimiento de las estructuras ováricas y el diagnóstico de gestación, ya que esta práctica sería la que se utilizara durante toda mi estancia en la empresa ya antes mencionada, debido a que con ella teníamos que evaluar a las donadoras y receptoras de embriones, a continuación describiré de que consta esta práctica.

En el proceso reproductivo se da mucha atención a la hembra debido a que es la unidad productora y hay mayor proporción de hembras que de machos. Al examinar a la vaca no solo lo hacemos usando la palpación vía rectal, sino que debemos conocer su historial reproductivo (partos, servicios, abortos, infecciones), condición general (mediante inspección visual y palpación externa), comportamiento y su historia de vacunaciones y desparasitaciones.

El examen vaginal no se emplea rutinariamente pero es un buen complemento de la palpación trans-rectal, así que habrá de considerarse en algunas condiciones específicas (IVIS, 2004).

La palpación de los genitales internos a través de la pared rectal es una de las herramientas más valiosas que se emplean en los programas de manejo

reproductivo en el ganado bovino, ya que proporciona información útil y es muy práctico y económico (IVIS, 2004).

El equipo esencial es el guante de palpación, que cubre la mano y el brazo del profesionalista que realiza el examen reproductivo a fin de protegerlo del contacto directo con la materia fecal de la vaca, donde pueden existir microorganismos causantes de zoonosis. Se recomienda entrenar ambas manos para la palpación. La anotación de los hallazgos es tan importante como el examen mismo. El profesionalista puede protegerse con overol, botas de hule y mandil para evitar manchas con las heces de la vaca. La lubricación facilita la dilatación del esfínter anal y el paso del brazo al recto, reduciendo el riesgo de dañar la mucosa rectal.



La mano enguantada y lubricada debe cerrarse en forma de cono para dilatar el ano y penetrar al recto. Esto estimula el reflejo de defecación y deben suspenderse los movimientos de la mano durante la onda peristáltica. Si la materia fecal estorba para el examen debe retirarse para que solo quede la pared rectal entre la mano y el aparato reproductor. Esto debe hacerse sin sacar la mano del recto pues de lo contrario entra aire y distiende la ampolla que hace imposible la palpación. Debe evitarse la manipulación brusca que daña la mucosa rectal.

La palpación depende del tacto y requiere puntos de referencia para la orientación en la cavidad pélvico-abdominal, como los huesos de la pelvis y el cérvix, de consistencia dura y posición uniforme. Para hacer la palpación primero se identifica el cérvix y se rodea colocando la mano debajo de él. Las dimensiones y ubicación del órgano son muy variables debido principalmente al número de partos del animal. Su forma es cilíndrica a semi cónica y su soporte por los ligamentos anchos y la vagina permite gran libertad de movimiento.



A continuación deben identificarse los cuernos uterinos, que pueden estar en posición pélvica o abdominal. En este último caso es necesario realizar la retracción del útero, a menos que el estado de gestación ya no lo permita. Esta maniobra se realiza jalando hacia atrás el ligamento uterino intercornual ventral con el dedo medio hasta colocar el útero en la cavidad pelviana. La retracción puede hacerse por dos métodos.



En el método indirecto se jala el cérvix lo más atrás posible, deteniéndolo con el pulgar y el ligamento ancho se toma con los otros dedos, que están cerca de la punta del cuerno y el ovario de ese lado. Con movimiento hacia la línea media se sostiene el cuerno en la palma de la mano y siguiendo en esa dirección se localiza el ligamento intercornual, dirigiendo el órgano hacia atrás, flexionándolo sobre el cérvix. La retracción completa permite ubicar los cuernos uterinos totalmente en la cavidad pelviana.

Para la retracción por el método directo se toma el cérvix y se lleva hacia atrás, deteniéndolo con el pulgar. Se dirigen los dedos sobre los cuernos y se identifica su bifurcación externa y el ligamento intercornual, que se jala hacia atrás como se describió en el método indirecto. Este método es el indicado en caso de que el útero no se encuentre muy profundo en la cavidad abdominal. Muchos animales presentan el aparato reproductor localizado en su totalidad en la cavidad pelviana, no siendo necesario hacer retracción en ellos.



El peristaltismo rectal puede interferir la retracción. En caso de contracción el útero se debe soltar y reiniciar la retracción al pasar la onda peristáltica a fin de evitar lesiones y hemorragias del recto. Terminado el examen se retira la mano del recto sin ser necesario regresar el útero a su posición original, que es recuperada en cuanto el animal se mueve.

La palpación de los ovarios debe hacerse en el examen rutinario de los animales no gestantes. Para revisarlos no es necesario hacer retracción, basta con localizar el ligamento ancho y ubicar el ovario, tomándolo en la palma y girando la mano de tal forma que el ovario quede encima de la palma y el ligamento ovárico entre los dedos anular y medio dejando libres pulgar e índice que se pasan por la superficie ovárica para sentir las estructuras presentes, como folículos, cuerpo lúteo o quistes ováricos.



El folículo se caracteriza por su forma redondeada, con diámetro de 1.0 a 2.5 cm, y su consistencia suave y fluctuante debido al líquido que contiene en su cavidad. Un día después de la ovulación se puede palpar la depresión presente en el lugar donde estuvo el folículo. Durante los siguientes 5 a 7 días se palpa el cuerpo hemorrágico, que generalmente tiene una parte que sobresale de la superficie ovárica y es de consistencia crepitante debido al coágulo que lo forma.

El cuerpo lúteo se presenta del día 7 al 19 en un ciclo de 21 días y tiene diámetro de 2.5 a 3.5 cm, distorsionando el ovario, con consistencia no fluctuante y menos firme que el resto del ovario, generalmente con una parte que sobresale del ovario, conocida como corona, y con una línea que lo limita del resto del ovario, la cual puede sentirse si se ejerce ligera presión con la punta del pulgar. En muchas ocasiones el CL puede presentar una cavidad interna llena de líquido que le da sensación fluctuante. Después de la involución del CL se puede sentir el cuerpo albicans como un pequeño gránulo de consistencia similar al ovario.



La palpación de estructuras ováricas permite determinar el estadio funcional del ovario, la fase del ciclo estral, anomalías anatómicas, inflamación, quistes, tumores y abscesos. Los quistes ováricos pueden ser de dos tipos: 1) Folicular, que puede ser único o múltiple, similar a un folículo pero de mayor tamaño, a veces de 7 ó más cm de diámetro, por lo general acompañado de ninfomanía o androgenización. 2) Luteínico, similar al folicular pero con pared algo engrosada debido a la luteinización parcial de las células, generalmente únicos, con fluctuación menos aparente y acompañados normalmente de anestro.



El oviducto y la bolsa ovárica no se palpan en el examen rutinario pero es importante revisarlos en casos de infertilidad. Se toma el ovario entre los dedos extendidos, que se tocan en las puntas, y sin girar la mano como se hace en la

palpación ovárica, se abren los dedos dejando libre el ovario y la bolsa ovárica (formada por mesovario y mesosálpinx) queda alrededor de los dedos. El oviducto se reconoce como una estructura acordonada, de 2 a 4 mm de diámetro, que se une a la punta del cuerno uterino. El oviducto y la bolsa deben estar libres de adherencias, quistes (conocidos como para ováricos) e inflamación.



Ovario cortado



Infundibulo



Ampolla



Istmo

DIAGNÓSTICO DE GESTACIÓN

La palpación es el principal método para hacer el diagnóstico de gestación en el ganado bovino con base en la identificación de cambios asociados con la preñez que solo se encuentran en los animales gestantes, conocidos como signos positivos de gestación, y cambios que se presentan también en animales no gestantes.

En mi estancia en el establo el rosario ubicado en el municipio de Torreón Coahuila fui capacitado por el Médico Veterinario Zootecnista Horacio, el cual está encargado del diagnóstico de preñes y de las becerras recién destetadas.

El médico Horacio me comentó que la técnica para hacer el examen de preñez se inicia localizando el órgano de referencia usual, el cérvix, determinando su situación y movilidad. Se intenta hacer la retracción (posible en animales vacíos o en gestantes en los primeros dos meses y medio de preñez) y se lleva el útero a la cavidad pelviana. Se revisan ambos cuernos uterinos en su totalidad, sin ejercer presión excesiva ni hacer movimientos bruscos, comparando su tamaño y características. En caso de determinar que el útero no es retraíble deberá introducirse más profundo el brazo para palpar el útero delante del cérvix y determinar su tamaño y características.

Entre los signos auxiliares tenemos la presencia de cuerpo lúteo en un ovario, por lo general el del lado del cuerno grávido, aumento de tamaño del útero que causa asimetría de los cuernos uterinos, presencia de líquidos que fluctúan en el útero, adelgazamiento de la pared uterina ocasionado por la distensión del órgano por acúmulo de líquidos, flacidez del órgano por acción de la progesterona, cambio de posición del útero debido al aumento gradual de peso e hipertrofia de la arteria uterina media al aumentar las necesidades de aporte sanguíneo del útero, acompañada de frémito o aumento en la presión sanguínea local en cada pulsación de la arteria. Estos signos se palpan en animales gestantes pero no son

suficientes para el diagnóstico pues están también en otras condiciones normales o patológicas.

Para hacer el diagnóstico definitivo es necesario determinar la presencia de alguno o varios de los signos positivos en el animal preñado o la ausencia total de ellos en la vaca vacía. Los cuatro signos positivos se encuentran únicamente en animales gestantes y son 1) deslizamiento de la membrana corioalantoidea, que se detecta desde los 32 días de gestación comprimiendo el cuerno y dejándolo resbalar entre los dedos a fin de sentir el paso de la banda fibrosa longitudinal de la membrana donde están contenidos sus vasos sanguíneos, 2) vesícula amniótica, que contiene al embrión y el líquido amniótico, palpable como una estructura fluctuante, turgente y ovalada, entre los 30 y 60 días de preñez, ejerciendo presión suave a lo largo del cuerno, 3) placentomas, formados por las carúnculas endometriales y los cotiledones placentarios, se sienten desde los 65 días como estructuras ovaladas múltiples en la pared uterina y 4) el feto, palpable desde los 50 días cuando la vesícula amniótica empieza a perder turgencia; puede palparse directamente o mediante peloteo haciendo movimientos repetidos de la mano contra el útero que provocan el rebote del feto hacia la mano (IVIS, 2004).

El cálculo de la edad de la preñez es de utilidad cuando se utiliza la monta natural en condiciones extensivas, cuando no se cuenta con registros precisos de eventos reproductivos o cuando la vaca ha sido inseminada cuando ya estaba gestante y se requiere determinar cuál fue el servicio efectivo. Se realiza mediante la determinación del tamaño de algunas estructuras tanto del útero como del feto y sus membranas, que sufren cambios paulatinos a lo largo de la gestación.

Después de que me explicó todo el proceso y la importancia del diagnóstico el medico Horacio me dio una lista de las vacas que debería identificar y macar para que el posteriormente, mediante la técnica de palpación fuera haciendo el diagnostico de gestación en estas vacas ya marcadas.

Nosotros llevábamos un bitácora en la cual aparece el número de la vaca, día de inseminada y la producción que tiene como media, las vacas gestantes a delante del número de registro esta una casilla en la cual marcaba con una (P) si es que está preñada y con una (V) de vacía.

Terminado el diagnostico de las vacas grandes, se fue hacer este mismo proceso pero en las vaquillas inseminadas por primera vez en las que el medico me dio la gran oportunidad de meterle la mano a estas vacas las cuales tenían 45 y 50 días de preñadas y donde me pregunto qué es lo que sentía, le comente que un cuerno estaba aumentado de tamaño y en la parte de en medio se encontraba una bolita y me dijo ya con eso no la sigas manipulando más, después me puso a prueba me dijo que era otra vaca preñada que le metiéramos la mano y la verdad no sentí nada pues los 2 cuernos tenían el mismo tamaño y después me dijo esta vaca está vacía quería que notaras la diferencia entre una y otra, después me llevó a palpar vacas que tenían 7 meses de gestación donde me dijo mete la mano y dígame que toca, se sentía el útero caído y un arteria que pulsa con fuerza(frenito) me dijo eso significa que está preñada y toda va bien, después me puso una vaca y me dijo también está preñada mete la mano y la verdad no sentí nada de eso nomas el útero caído y sin frenito y me comentó que esa vaca estaba vacía y que avía abortado y así mismo me puso a palpar 30 vacas mas donde cada vez se facilitaba reconocer las estructuras y la etapa fisiológica en la se encuentra.



Cuadro 3. Características de las Diferentes Etapas de la Gestación

Días	Diámetro (cm) cuerno grávido	Longitud (cm) vesícula amniótica	Longitud (cm) placentomas	Presencia frémito arterial	Posición útero
28		1.0		-	Cérvix pélvico
35	3.0	1.5		-	
42	5.0	2.5		-	
49	6.0	5.0		-	
60	7.5			-	
70	10.0		0.75	-	Comienza descenso
80	12.0		1.0	+	Descenso
90	14.0		1.5	+	
100	17.0		2	+	
120			2.5	+	Piso abdomen
150			3.0	+	
180			4.0	+	
210			5.0	+	Ascenso
240			6.0	+	
270			8.0	+	

Conclusión

Existen algunas condiciones patológicas que requieren un diagnóstico diferencial de la gestación, ya que presentan algunos de los signos auxiliares, pero los positivos están ausentes. Algunos ejemplos son piometra, mucometra, hidrometra, linfoma uterino, momificación y maceración fetal, aborto, tumores uterinos y ováricos.

Recomendaciones generales relacionadas con la palpación:

- El diagnóstico de gestación debe ser el primer paso en cualquier examen genital.
- Tener la certeza de estar palpando las estructuras correctas del aparato reproductor o del feto y sus membranas y no otro órgano, como la vejiga, rumen o intestino, o confundir ovarios con placentomas.
- Manipular con delicadeza la pared rectal y los órganos reproductivos para evitar lesiones en ellos o en el embrión o feto y sus membranas.
- No debe indicarse ningún tratamiento en caso de duda de existencia de gestación.
- No se puede asegurar que la vaca está vacía si no se palparon ambos cuernos uterinos en su totalidad.
- No se puede diagnosticar como gestante a un animal si no se detectó alguno de los cuatro signos positivos de preñez.
- Al estimar la edad de la gestación deberá tenerse en cuenta que es solo aproximada pues hay variaciones individuales en el tamaño de las estructuras utilizadas.

- La historia reproductiva del animal debe usarse como información adicional.
- Registrar los hallazgos y tratamientos de cada animal identificado en forma individual e inequívoca.
- En caso de no poder hacer un diagnóstico definitivo por las características del aparato reproductor en ese momento, recomendar la reexaminación en fecha posterior.

II. SELECCIÓN DE DONADORAS DE EMBRIONES

Cada productor tiene sus propias razones para la selección de sus donantes, las cuales son a menudo más económicas que genéticas. En realidad el factor económico es el más importante en el programa de transferencia embrionaria. Óptimos resultados reducirán costos por lo cual la selección de la vaca donante es un evento crítico del cual depende el éxito del programa (IRAC, 2009).

Los criterios generales para la selección de donantes son los siguientes:

- Ciclos estrales regulares y que hayan comenzado a temprana edad.
- Dos o menos servicios por concepción en años anteriores.
- Comportamiento individual superior en características de importancia económica.
- Crías superiores a la media del rodeo. Especialmente comparado con sus medio hermanos (hijos del mismo toro).

- Ningún problema al parto o irregularidades reproductivas.
- Ningún defecto genético o de conformación detectable.
- Entre 3 y 10 años de edad.
- Historia de buena respuesta en súper ovulaciones anteriores.

Estos criterios además de producir un beneficio genético, aseguraran un alto nivel de éxito.

Una vez ya bien capacitado en el arte de palpación, el dueño de la Empresa Pablo Rosillos Billasuso me llevo al campo de acción donde fuimos a un establo llamado San Felipe ubicado en Gómez Palacio Durango, en el cual se fue a evaluar vaquillas que iban a ser parte de un trabajo de transferencia de embriones in vitro.

Ya en el establo se procedió a la localización y el entrampe de las vaquillas que avía seleccionado el productor y que serían las donadoras de ovocitos para maduración y fertilización in vitro.

Una vez identificadas las vaquillas se procedió al diagnóstico por medio del uso de la técnica de palpación rectal y el reconocimiento de las estructuras anatómicas del aparato reproductor de la vaquilla a las cuales se les revisaron las características de los ovarios que estuvieran activos y no presentaran quistes, el útero de buen tamaño y sin anomalías o procesos infecciosos, los resultados se iban registrando en una hoja de datos, donde se registraba el número de vaca, diagnostico, características del ovario derecho(OD), características del ovario izquierdo(OI) y las observaciones.

En las gráficas se utilizan abreviaturas como:

(CL) cuerpo lúteo.

(Fo) folículo

(E) estático

(Cc) condición corporal

Ejemplo :

N. vaca.	Diagnóstico.	OD	OI	Observaciones.
3409	Cc 2	E	E	Muy pequeña.
3489	Cc 3	CL	F	√
3478	Cc 2	E	CL	√
3474	Cc 2	E	E	Falta de desarrollo del útero

COMENTARIOS.

Todas las becerras que tenían ovarios estáticos tenían una condición corporal mala puesto que su alimentación se basa únicamente en silo y esto no favorece a la reproducción.

RECOMENDACIONES

Mi recomendación sería hacer una dieta que cuente con los requerimientos de acuerdo con la etapa productiva en la que se encuentre, pero al mismo tiempo que no perjudique el bolsillo del propietario ya que si se pretende establecer un protocolo de transferencia de embriones es justo y necesario aplicar una suplementación que favorezca la reproducción, ya que la madre de la reproducción es la nutrición, de igual manera es importante que el técnico, así como el veterinario local conozcan los criterios de selección ya antes mencionados y no se basen solo en el diagnóstico de las estructuras anatómicas de la vaca o la producción y ayuden al productor a elegir sus donantes, ya que se traducirá en un beneficio económico para todos. Mas preñeces significan más terneros y a su vez mas honorarios y prestigio personal.

III. SELECCIÓN DE RECEPTORAS

Las vacas receptoras deben ser seleccionadas en el día 7 del ciclo estral (d 0 = estro). Las vacas deben ser seleccionadas en base a detección de estro (con o sin sincronización) o después de la sincronización de la ovulación sin la detección del estro.

Una forma para sincronizar receptoras es: dando una inyección de GnRH (100, microgramos i.m.) seguido a los siete días por una inyección de PGF (25 mg/ml) seguido por la detección del estro. Las vacas detectadas en estro (la mayoría dentro de 48-96 h después de PGF) se programan para recibir un embrión el día 7 del ciclo estral. La transferencia sin la detección de estro puede también ser realizada usando el programa OvSynch usado típicamente para la inseminación artificial sincronizada. Este procedimiento de sincronización de transferencia de embriones (TE), todavía está en desarrollo, puede ser útil cuando la detección del estro es difícil por ejemplo durante el estrés calórico (IRAC, 2009).

Para la selección de las donadoras se realizaba la misma técnica de selección de donadoras, las cuales eran sincronizadas con una dosis de PGF_2 y transferidas el día 10 del ciclo estral después del día cero, según criterios del el dueño de la Empresa Pablo Rosillos Billasuso el realiza la transferencia el día 10 del ciclo estral ya que le da más confianza de que la vaca quede preñada porque el cuerpo lúteo es de mejor tamaño este día.

COMENTARIOS

Las vacas receptoras no solo deben ser seleccionadas solo por a ver entrado en calor en cierta fecha ya que si no se le hacen otra pruebas no podrán asegurar la preñes.

RECOMENDACIONES

Se deben utilizar vacas que hayan parido una o dos veces y que no hayan tenido complicaciones en el parto y que hayan tenido crías de buen peso, de igual manera se les debe hacer el diagnostico por medio de la palpación y de esta manera saber las condiciones en las que se encuentra el aparato reproductor de la vaca y si es apta para mantener la una gestación.

Al tener vacas seleccionadas con dichos criterios, podremos sincronizarlas y hacer la detección de celos para que con más confianza de que las vacas son las más aptas para el procedimiento, pero sin dejar de lado la nutrición ya que sin ella todos los procesos tienen importantes fallas, lo cual puede causar pérdidas de dinero importantes y material genético.

IV. ASPIRACIÓN FOLICULAR “OVUM PICK-UP” (OPU)

ANTECEDENTES HISTÓRICOS

La técnica de punción folicular *in vivo* conocida como OPU por sus siglas en inglés (Ovum pick up) comenzó a utilizarse en la mujer en la década de 1980 y se describe por primera vez en bovinos por Pieterse *et al.* (1988). A finales de los años 1990 la técnica se había extendido vertiginosamente a numerosos países, ya que sin dudas abre nuevos horizontes en el campo de las biotecnologías de la reproducción. Actualmente se utiliza por la mayoría de los centros dedicados a la producción de embriones *in vitro* (Argov et al., 2004).

Así mismo si hicieron trabajos con ovarios de rastro, pero esta metodología presenta grandes limitaciones puesto que no permite ser reproducido, disminuyendo la producción de embriones y por tanto está limitada la posibilidad de descendencia de las hembras sacrificadas. En cambio la técnica de OPU permite la obtención de ovocitos de calidad de forma estable a partir de animales previamente seleccionados y controlados. Este procedimiento no invasivo y repetible no afecta el estado productivo y/o reproductivo ni compromete la fertilidad futura de las donantes (Adams et al., 2004).

DESCRIPCIÓN DE LA TÉCNICA

Para la realización de OPU, resulta indispensable disponer de tres componentes: Un equipo de ultrasonido (ecógrafo) con su respectivo transductor, una bomba de aspiración y un sistema de guía de aguja conectado a un tubo colector. A una presión entre 50 y 85 mm de Hg (Aerts et al., 2004).

Antes de iniciar el acto de la punción algunos equipos de trabajo prefieren sedar las hembras con hidrocloreto de detomidina (Domocedan) vía endovenosa, a razón de 1 mg/100 kg de peso vivo y/o (Buscopan) hyoscine-N-butylbromide o xilacina, utilizado como relajante intestinal antes de aplicar la anestesia epidural.

Sin embargo, en Francia y otros países OPU se realiza de modo habitual sólo con la aplicación de anestesia epidural (5 ml de lidocaína al 2 %), de modo que, se produzca la insensibilización del aparato genital y una disminución de los movimientos peristálticos a nivel del recto, lo cual facilita tanto la localización como la manipulación de los ovarios.

Posteriormente se extraen las heces fecales del recto y se procede a la limpieza, desinfección y secado de la vulva y la región perineal con agua, desinfectante y papel higiénico.

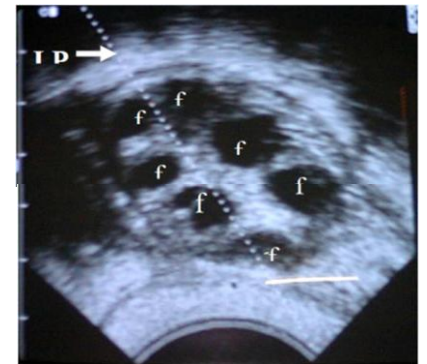


Una vez colocada la aguja en la guía del transductor se introduce este a través de la vagina, la mano libre del operador se introduce por el recto para proceder a la localización y acercamiento del ovario al transductor, que se coloca a la derecha o izquierda del cérvix según el ovario seleccionado, para iniciar la punción (Aerts et al., 2004).



Los folículos se observan como imágenes anecogénicas (color negro) en el ovario, es necesario hacer coincidir estos con la línea discontinua que aparece en la pantalla del ecógrafo.

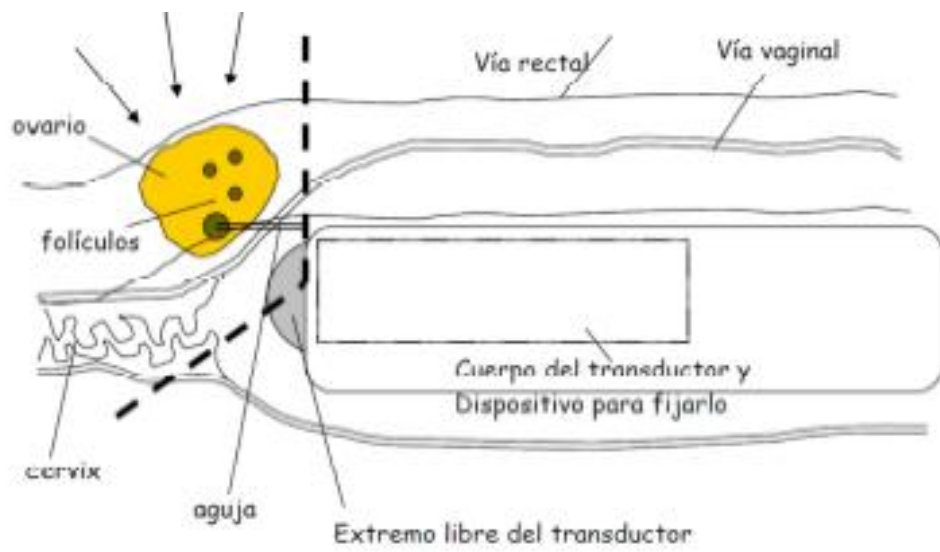
Esto se logra a través de la manipulación sobre el ovario, posteriormente se inicia la presión negativa y se hace avanzar la aguja, es posible visualizar la aspiración al desaparecer de la pantalla la imagen del folículo.



Antes de iniciar la operación, se hace pasar por la aguja una solución de solución fosfatada buferada (PBS) a la cual se le adiciona 0,4 % de suero de albúmina bovino (SAB) o 1 % de suero fetal (SFV) y 10 UI /ml de heparina sódica para evitar la coagulación de la sangre, que es abundante en el tubo de recolección.

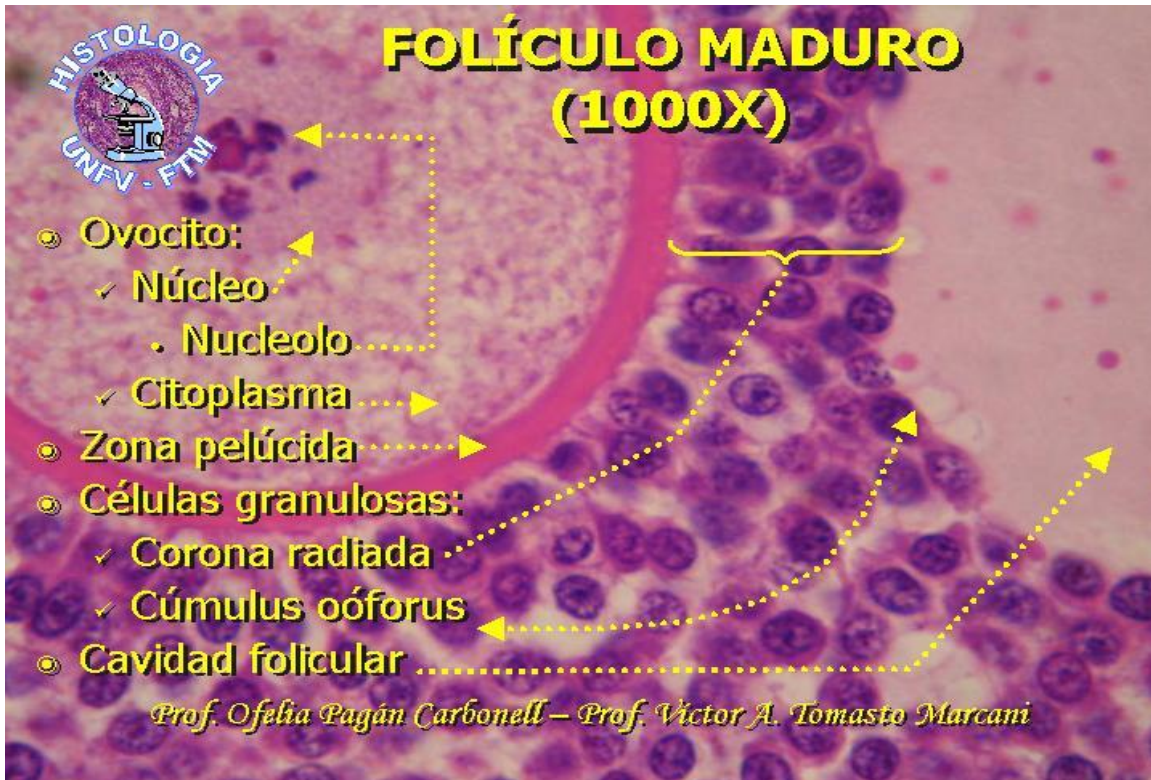


El contenido de la punción cae directamente a un filtro o a un tubo de recolección, el cual se mantiene a 37° C hasta el momento en que se procede a la búsqueda y clasificación de los ovocitos colectados (Bage et al., 2003).

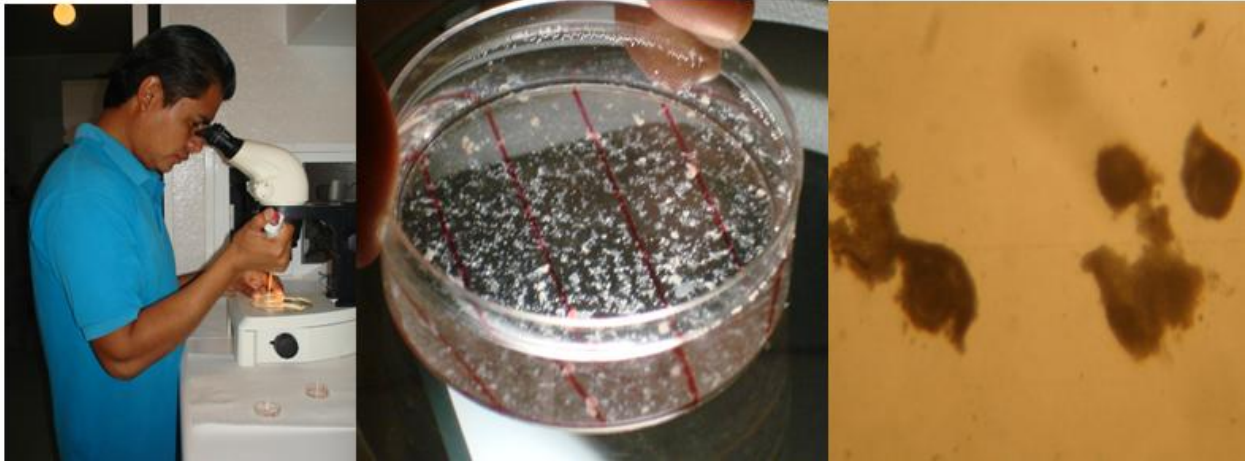


Recuperación de los complejos cúmulo-ovocitarios (COCs) de los ovarios.

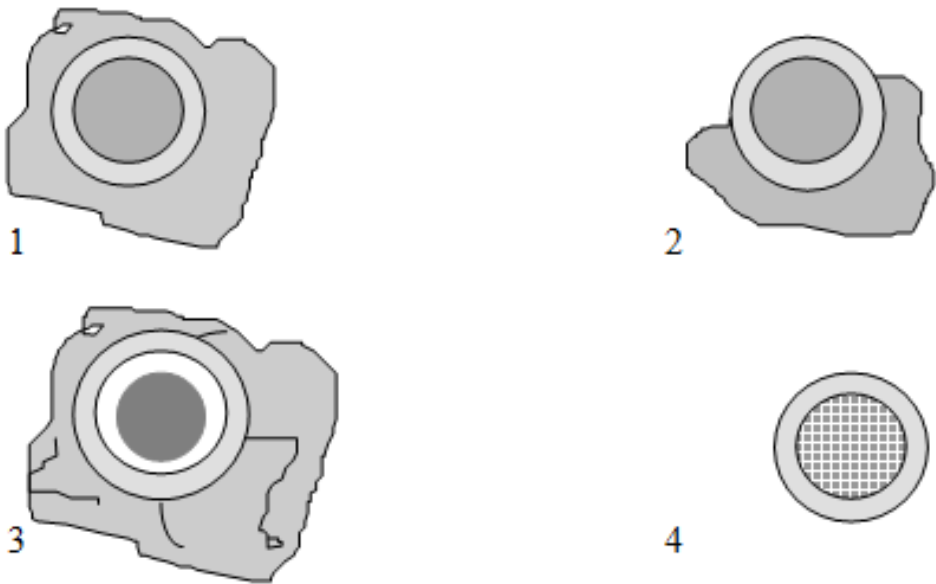
Morfológicamente el complejo cúmulo-ovocitario comprende el ovocito, la zona pelúcida y las células que rodean la zona pelúcida denominadas cumulus ooforus (Argov et al., 2004)



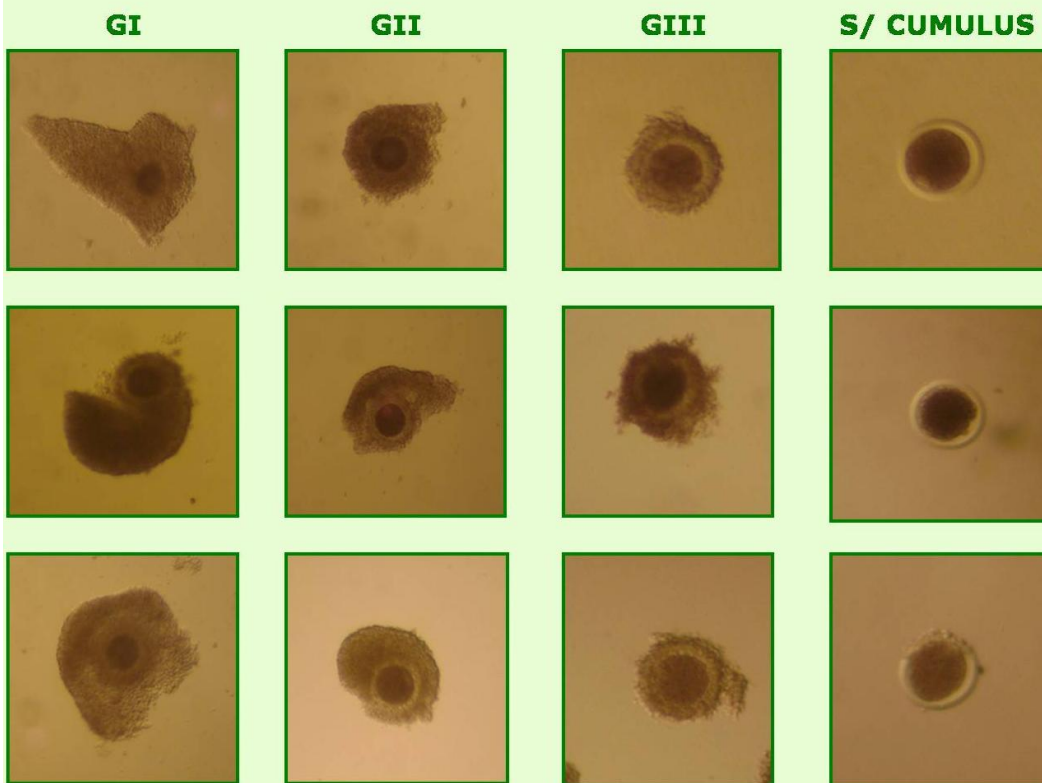
Básicamente podemos obtener los COCs de dos formas: de material de matadero o de hembras vivas. Los COCs provenientes de ovarios de matadero se obtienen por aspiración del líquido folicular, ya sea con una bomba aspiradora o con una jeringa (folículos 2 a 6 mm), o por desmenuzamiento del ovario (folículos >2 mm). De hembras vivas se pueden obtener por aspiración folicular transvaginal con ayuda de la ultrasonografía, con aguja y endoscopio o por laparotomía.



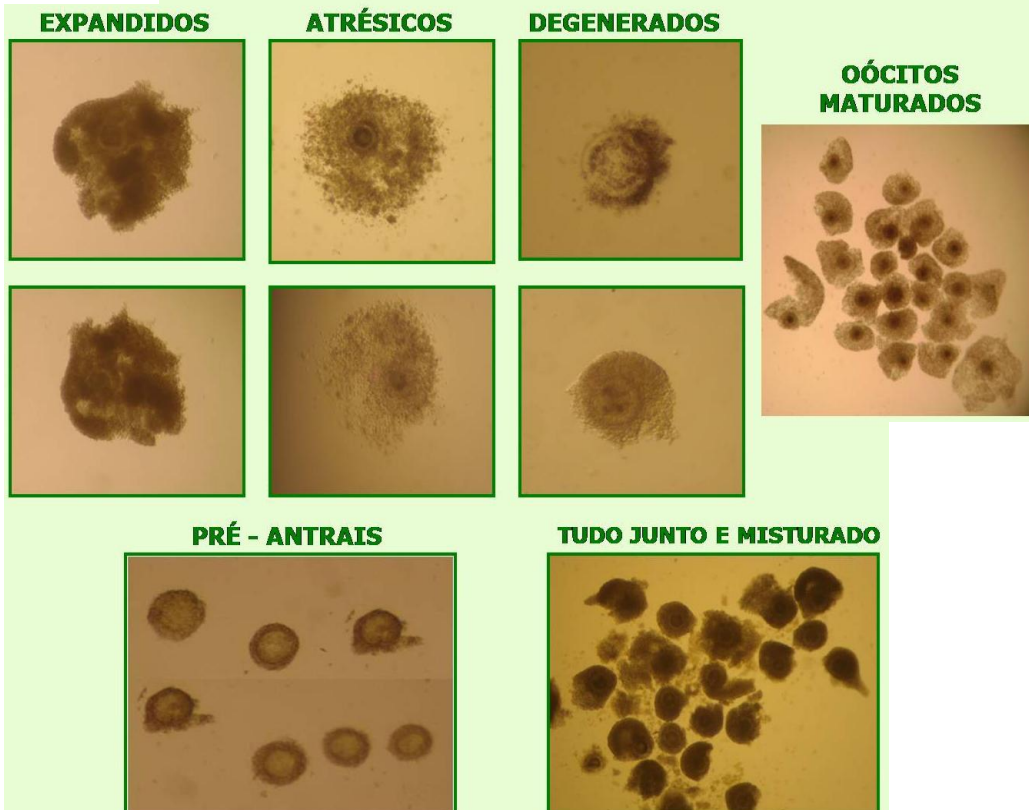
Una vez obtenido el líquido folicular se realiza la búsqueda de los COCs bajo la lupa, y se los lava en PBS. Luego se hace la selección y clasificación y se los coloca en Medio de Maduración (IRAC, 2009).



Clasificación de oocitos



Clasificación de oocitos



V. Conclusiones generales.

En conclusión, las prácticas profesionales, son una herramienta muy importante que nos permite como estudiantes, adquirir habilidades que respalden los conocimientos teóricos que nos brinda la Universidad, además de aprender cosas nuevas que solo la experiencia laboral puede darnos.

El tiempo que duran estas no es suficiente ya que hay mucho que aprender, pero que con ellas nos damos cuenta de la importancia que tiene nuestra carrera ante la sociedad y que solo con la perseverancia y esfuerzo podemos llegar a obtener una calidad de vida mejor, ejerciendo nuestra profesión.

La aspiración folicular transvaginal permite incrementar de forma significativa, el número de embriones transferibles y de preñeces por vaca al año, dada la posibilidad de reutilizar las vacas donantes de ovocitos a intervalos mucho más cortos en comparación con la técnica de súper ovulación y en comparación con la utilización de ovarios de matadero.

La revisión reproductiva periódica de los animales mediante la palpación es de vital importancia pues permite determinar la funcionalidad ovárica, la fase del ciclo estral, infecciones uterinas o problemas ováricos, como los quistes.

VI. Recomendaciones generales.

Siempre que hacemos uso de una biotecnología como lo que es la transferencia de embriones debemos tener un buen criterio al seleccionar nuestras vacas y no solo irnos del lado de la producción, sino que también por el de la eficiencia reproductiva, debido a que muchos de los productores les importa más la economía al seleccionar sus donaras y dejan de lado la reproducción sin darse cuenta que las crías que pueden llegar a obtener, tendrán problemas al reproducirse y por consecuencia más días abiertos y más perdidas económicas, por eso se deben tomar más en cuenta los criterios reproductivos antes mencionados en la selección de estas mismas, ya que se traducirá en un beneficio económico para todos. Mas preñeces significan más terneros y a su vez mas honorarios y prestigio personal.

Dentro de la selección de receptoras se deben utilizar vacas con facilidad de parto y que dieron crías de buen peso, de igual manera se les debe hacer el diagnostico por medio de la palpación y de esta manera saber las condiciones en las que se encuentra el aparato reproductor de la vaca y si es apto para sostener una gestación.

VII.RESUMEN

Durante mis prácticas realizadas en la empresa Neek Biotecnología Reproductiva correspondientes al periodo comprendido de enero a mayo fui capacitado tanto teórico - prácticamente en diversos establos con los diferentes encargados del área de reproducción donde me enfocaron a los temas de más relevancia que son la detección de celos y la palpación donde pude conocer los diferentes sistemas de detección de celo y palpación por un lapso de un mes antes de entrar a trabajar en la empresa ya que el Sr. Pablo Rosillo Billasuso dueño de la misma, quería que reforzáramos los conocimientos adquiridos en la universidad y posteriormente nosotros hacer nuestras comparaciones y poder sacar nuestras propias conclusiones y, a la vez poder hacer recomendaciones a los productores, si fuese necesario y así mismo capacitar a más Médicos Veterinarios en el área ya que esta misma empresa ofrece este servicio, después de mi capacitación iniciamos los trabajos en la empresa antes mencionada donde al igual que en el establo tuve la oportunidad de aprender nuevas técnicas de manejo reproductivo y nuevas biotecnologías como lo que es las aspiración folicular. La técnica de punción folicular *in vivo* conocida como OPU por sus siglas en inglés (Ovum pick up) comenzó a utilizarse en la mujer en la década de 1980 y se describe por primera vez en bovinos por Pieterse *et al.* (1988).A finales de los años1990 la técnica se había extendido vertiginosamente a numerosos países, ya que sin dudas abre nuevos horizontes en el campo de las biotecnologías de la reproducción. Actualmente se utiliza por la mayoría de los centros dedicados a la producción de embriones *in vitro*.

PALABRAS CLAVES: Transferencias, empresa, ovocitos, donantes, receptoras, palpación.

VIII. BIBLIOGRAFIA

1. Aguilar, A.F., Denis, R.G., Bernal, A.S., Fuentes, D.S., González, A.P., Maura, R., Dihigo, E.L., Machado, A., Ramos, B., Hayes O. 2005. Comparison of bovine embryo development using oocytes from Ovum Pick Up and from slaughterhouse ovaries. En: Memorias Congreso Biotecnología Habana. p.117.
2. Argov, N., Arav, A., Sklan, D. 2004. Number of oocytes obtained from cows by OPU in early, but not late lactation increased with plasma insulin and estradiol concentrations and expression of mRNA of the FSH receptor in granulosa cells. *Theriogenology* 61: 947-962.
3. Adams, G.P., Kot, K., Smith, C.A., Ginther, O.J. 2004. Effect of the dominant follicle on regression of its subordinates. *Can J. Anim. Sci.* 73:267-275, 1993. Aerts, J.M.J., Oste, M., Bols, P.E.J. Development and practical applications of a method for repeated transvaginal, ultrasound-guided biopsy collection of the bovine ovary. En: Proceedings of the 15th ICAR, Porto Seguro, Brasil, Abstract 2: 435.
4. Aguilar, A.F., Denis, R.G., Bernal, A.S., Fuentes, D.S., González, A.P., Maura, R., Dihigo, E.L., Machado, A., Ramos, B., Hayes O. 2005. Comparison of bovine embryodevelopment using oocytes from Ovum Pick Up and from slaughterhouse ovaries. En: Memorias Congreso Biotecnología Habana. p.117.
5. Argov, N., Arav, A., Sklan, D. 2004. Number of oocytes obtained from cows by OPU in early, but not late lactation increased with plasma insulin and estradiol concentrations and expression of mRNA of the FSH receptor in granulosa cells. *Theriogenology* 61: 947-962.

6. Aerts, J.M.J., Oste, M., Bols, P.E.J. 2004. Development and practical applications of a method for repeated transvaginal, ultrasound-guide biopsy collection of the bovine ovary. En: Proceedings of the 15th ICAR, Porto Seguro, Brasil, Abstract 2: 435.
7. Bage, Renée, Petyim, Sudsajjai, Larsson, Birgitta, Hallap, Triin, Bergqvist, Ann- Sofi, Gustafsson, Hans, Rodríguez-Martínez, Heriberto. 2003. Oocyte competence in repeat-breeder heifers: effects on optimized ovum pick-up schedule on expression of oestrus, follicular development and fertility. *Reproduction Fertility and Development* (15):115-123.
8. Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) INFORMACIÓN NACIONAL, POR ENTIDAD FEDERATIVA Y MUNICIPIOS 2010. <http://www.inegi.org.mx/sistemas/mexicocifras/MexicoCifras.aspx?e=0&m=0&sec>
9. IRAC, FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS ESCUELA PARA GRADUADOS, UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA. 2009. Especialidad en reproducción bovinos. Súper ovulación Y Transferencia de Embriones.
10. International Veterinary Information Service (www.ivis.org), Ithaca, New York, USA 2004. Curso de Actualización - Manejo Reproductivo del Ganado Bovino, M.A. Asprón (Ed.) www.ivis.org/continuing_education/short_courses/...bovine/.../IVIS.pdf.