

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MÉDICO VETERINARIAS



Colección y fertilización *in vitro* de ovocitos en bovinos

Por:

Sinuhe Castillo Garcia

MONOGRAFÍA

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Torreón, Coahuila, México
Febrero 2025

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MÉDICO VETERINARIAS
Colección y fertilización *in vitro* de ovocitos en bovinos

Por:

Sinuhe Castillo Garcia

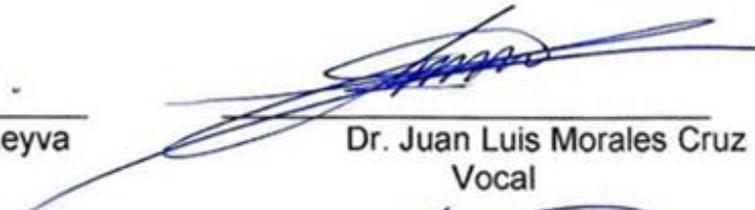
MONOGRAFÍA

Que se somete a la consideración del H. Jurado Examinador como
requisito parcial para obtener el título de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Aprobada por:


Dra. Ma. Guadalupe Calderón Leyva
Presidente


Dr. Juan Luis Morales Cruz
Vocal


M.C. Juan Roberto Esteban Andres
Vocal externo


Dr. Hugo Zuriel Guerrero Gallego
Vocal Suplente


MC. José Luis Francisco Sandoval Elias
Coordinador de la División Regional de Ciencia Animal



Torreón, Coahuila, México
Febrero 2025

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MÉDICO VETERINARIAS

Colección y fertilización *in vitro* de ovocitos en bovinos

Por:

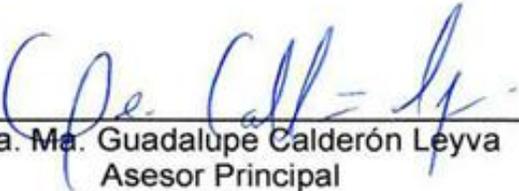
Sinuhe Castillo Garcia

MONOGRAFÍA

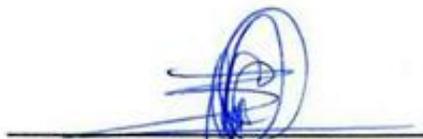
Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

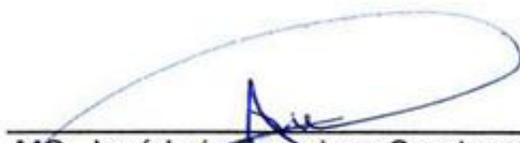
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Aprobada por el Comité de Asesoría:


Dra. Ma. Guadalupe Calderón Leyva
Asesor Principal


Dr. Juan Luis Morales Cruz
Coasesor


M.C Juan Roberto Esteban Andrés
Coaseor externo


MC. José Luis Francisco Sandoval Elías
Coordinador de la División Regional de Ciencia Animal



Torreón, Coahuila, México
Febrero 2025

Agradecimientos

A DIOS por acompañarme en todo momento por darme la iluminación de tomar las mejores decisiones, así como la fortaleza para seguir el camino que decidí tomar en la vida.

Quiero agradecer a mi padre J. Guadalupe por hacer posible este sueño, por todas sus palabras de aliento, así como toda la motivación durante los momentos más difíciles, a luchar por los sueños aun por muy difíciles que parezcan, a mi madre que aunque ya no está en este plano terrenal siempre la llevare en mi corazón y en mi día a día, a mis hermanos Aaron y Omar por darme el apoyo así como muchos consejos durante mi vida, A mis amigos Cristian, Alonso, Máximo, Manuel por compartir tantas aventuras, por el apoyo brindado, consejos durante estos 5 años que pasamos juntos, a mi Alma mater que fue la pieza importante para poder cumplir este sueño, gracias por darme tantos momentos inolvidables en mi vida, alegría, enojo, frustración, superación así como darme todos los conocimientos necesarios para salir al mundo y ser cada día mejor persona, A mi asesor principal la Dr. Ma Guadalupe por tenerme la paciencia para realizar este trabajo a sus consejos y guiarme durante todo este proceso de corazón muchas gracias.

Dedicatoria

A mi madre, padre y hermanos por apoyarme en todo momento de mi educación y por darme ánimos a seguir mis sueños aun por muy complicado que pareciese, a mis amigos por estar en cada momento durante esta travesía y parte del camino para cumplir nuestros sueños y a mis profesores por nutrirme cada día de conocimientos y aliento para seguir mejorando como estudiante y ser humano.

CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN	1
2. OBJETIVO	3
3. REVISIÓN DE LITERATURA	4
3.1 Importancia de la producción de bovinos en México	4
3.2 Antecedentes de la producción de embriones	4
3.3 Selección de la vaca donadora	7
3.4 Recolección y selección de ovocitos	8
3.4.1 Aspiración de ovarios de rastro	8
3.4.2 OPU o Aspiración folicular	9
3.6.1 Maduración	12
3.6.2 Capacitación de semen.....	14
3.6.3Fertilización	15
3.6 Cultivo	15
4 CONCLUSIONES	17
5 LITERATURA CITADA	18

Índice de cuadros

Cuadro 1 Clasificación de ovocitos (Filipiak et al., 2012).	11
Cuadro 2 Composición de los medios de maduración(Palma, 2008)	14

Índice de figuras

Figura 1 Porcentaje de embriones frescos producidos a través del tiempo in vivo (MOET) y producidos in vitro (IVP) de Bos indicus y Bos taurus transferidos en todo el mundo registrados por la IETS (Ferré et al., 2020).	7
Figura 2 Elementos para realizar aspiración folicular (ABS MEXICO, 2024).....	9
Figura 3 Maduración y fertilización del ovocito en el laboratorio (Filipiak et al., 2012).	12
Figura 4 Maduración de ovocitos in vitro(Baruselli et al., 2002).	13
Figura 5 Embriones en diferentes etapas de desarrollo (Filipiak et al., 2012)	16

Resumen

El uso de las nuevas biotecnologías como la producción de embriones *in vitro* en el ganado bovino, es una herramienta necesaria ante las nuevas exigencias que el mundo globalizado demanda, siendo esta una solución al mejoramiento genético en menor tiempo posible, que nos favorece en la productividad cárnica o láctea, desarrollando las características necesarias que el hato ganadero desee. Este procedimiento parte desde la selección de los mejores individuos por merito genético o alto valor genético, para después pasar al procedimiento de recolección de ovocitos por medio de punción folicular, ya sea directamente de ovarios postmortem o por medio de aspiración folicular en animales vivos utilizando la técnica de Ovum Pick-Up (OPU). Una vez obtenidos los ovocitos, son llevados al laboratorio donde pasan el proceso de fertilización *in vitro*, y son sometidos a procesos que mimetizan las condiciones naturales del desarrollo embrionario dentro del útero de la vaca.

Palabras clave: In vitro, Fecundación, Pick up, Transferencia de embriones

1. INTRODUCCIÓN

El incremento potencial que tiene la demanda de producción de alimentos a nivel mundial, tiene una gran relevancia para todos los sectores agropecuarios y ganaderos expuesto por Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, dicha institución estima que para el año 2050 la población a nivel mundial llegue aproximadamente a 9,700 millones de personas (FAO, 2013). En el año 2024 se llegó a la cantidad de 8,200 millones de personas a nivel mundial (ONU, 2024) de las cuales en México hay un total de 129.5 millones de personas (INEGI, 2024).

La ganadería en México es de suma importancia puesto que hasta el año 2024 representó el 38.6% del Producto Interno Bruto (PIB) de la producción agropecuaria y pesquera, siendo esto un punto de partida para determinar que México tiene una gran parte de sus ingresos de la ganadería (SADER, 2023).

El uso de las nuevas técnicas de biotecnología en el mundo, así como en México, han crecido a pasos agigantados dando un avance bastante considerable en el desarrollo de la ganadería, desde mejores controles reproductivos, generación de ganado que de cierta manera es difícil encontrar en el mismo país, hasta la generación de nuevas razas a nivel mundial. Una de las nuevas tecnologías utilizadas en el mundo de la ganadería es la producción de embriones por medio de fecundación *in vitro*.

La producción de embriones *in vitro* es una herramienta que nos sirve para mejorar el desarrollo genético bovino, acortar el intervalo intergeneracional, obteniendo crías de mejor calidad en menor tiempo posible, tratar problemas de infertilidad del hato que puede ser aplicado en ganado productor de carne y de leche, así como la selección de caracteres que pueden ser cualitativos.

El mejoramiento genético se puede definir, como el uso de herramientas biológicas donde se pretende aumentar la probabilidad numérica de que se presenten aquellos genes que nosotros consideramos favorables en una especie animal domesticada por el hombre (Montaldo,1998). La genética es una de las ramas más importantes

dentro la producción ganadera, así como lo es la nutrición, sanidad animal que son la base para el progreso en producción, dando como resultado un individuo adaptado a los entornos donde se encuentran localizados, conforme a esto, la selección de los individuos más adaptados al entorno pueden ser seleccionados dando origen al mejoramiento genético (FAO, 2009).

2. OBJETIVO

Describir el proceso de la recolección y fertilización *in vitro* de ovocitos en bovinos para la producción de embriones, herramienta utilizada para disminuir las brechas de los intervalos generacionales y obtener una mejora genética.

3. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1 Importancia de la producción de bovinos en México

La ganadería en México genera alrededor de 841 mil empleos al año, siendo considerado a nivel mundial como el décimo país en producción primaria (SADER, 2024). La producción de carne es de suma importancia puesto que, a nivel internacional, es el sexto país productor de carne con un total de 2,175,577 toneladas, según la Asociación Mexicana de productores de Carne (AMEG, 2024).

El ganado productor de carne en México, cuenta con una población de 33,661,327 cabezas en toda la república mexicana siendo los principales estados productores Jalisco, Veracruz y Chihuahua (SADER, 2022).

La carne de res es una de las principales fuentes de proteína animal consumidas en México con aproximadamente 15.2 kilogramos por persona, siendo un mercado de 587 millones de pesos anuales, así mismos se constituye como el 38% del PIB, en sector agropecuaria y pesquera esto lleva a que el país realice exportaciones de ganado con una cifra que se eleva a un monto 555 millones de dólares (SADER, 2024).

En México se utiliza en promedio alrededor de 30 razas de las cuales las más comunes son Herford, Charoláis, Brahman, Nelore, Pardo suizo europeo, Beefmaster, Simmental, Limousin, Brangus y Angus (SADER, 2016).

En el sector de producción de leche México produjo en el segundo trimestre del año 2024 un total de 3 mil 184 millones de litros de leche siendo los estados principales productores Jalisco, Coahuila, Durango y Chihuahua (SADER, 2024).

3.2 Antecedentes de la producción de embriones

Las diferentes ramas de la biotecnología han tenido un crecimiento durante los últimos 60 años, gracias a los avances que se realizan paulatinamente, sin embargo, siempre se busca aumentar la productividad, mejores resultados reproductivos y aumentar la genética en el menor tiempo posible, todo esto se ha

podido lograr gracias a las nuevas tecnologías y la investigación genética. En este sentido, las tecnologías utilizadas hasta el momento son: criopreservación de semen, inseminación artificial (IA), transferencia de embriones *in vivo* e *in vitro* y por ultimo la transgenesis (Thibier, 2005).

La criopreservación de semen bovino y la IA han sido un factor importante para el desarrollo de la producción de embriones, debido a que se han complementado para obtener un mejor resultado en cuanto al mejoramiento genético (Thibier, 2005).

La producción de embriones *in vivo* se desarrolló en los años 70, esta tecnología se centra en el uso de la super ovulación, con aplicación de hormonas exógenas y de la IA en las hembras donantes. Una vez que los embriones se desarrollan en el útero, llegando al estadio de morula o blastocisto, se extraen por medio de un lavado uterino el día 7 post inseminación artificial, y están listos para poder transferirse a una hembra receptora de manera *in vivo* o se pueden utilizar métodos de criopreservación (Machaty et al., 2012)

La producción de embriones *in vitro* (PIV), se define como la técnica de reproducción asistida que involucra fecundación extracorpórea, es decir, fuera del organismo animal, y se realiza dentro de un laboratorio, donde se fertiliza el óvulo con el espermatozoide de manera artificial. Para lograr la obtención de los ovocitos bovinos, nos puede favorecer el uso de otra biotecnología, como es la aspiración folicular transvaginal guiada por ecografía para la recolección de óvulos (OPU), que se realiza en animales vivos de alto mérito genético, este proceso puede ser con el uso de la super ovulación o sin uso de la misma (Machaty et al., 2012).

La primera transferencia de embriones (TE) en bovinos registrada data del año 1949, sin embargo, no fue hasta el año 1951 que nació el primer ternero por transferencia de embriones y la relevancia de dicha técnica surgió hasta los años 70 cuando las razas carnicas europeas de bovinos se popularizaron por diversos países como Estados Unidos de América, Canadá y Nueva Zelanda. Dicha tecnología se implementó como una medida de evitar los altos costos de los animales importados desde Europa y el tiempo de la cuarentena para impedir propagación de enfermedades (FAO, 1991).

De las principales ventajas que se tienen al realizar transferencia de embriones en el ganado es transmitir rasgos deseables así como aumentar la descendencia con alto valor genético utilizando los vientres de hembras de bajo valor genético, a través de esta técnica disminuyen las brechas intergeneracionales para así tener bovinos con características genéticas seleccionadas de acuerdo a las necesidades que se desean cubrir (FAO, 1991).

Durante las últimas décadas se han logrado una gran cantidad de avances científicos en la rama de la reproducción animal a través de la reproducción asistida que tiene como fin maximizar el número de crías con características genéticas superiores así como la capacidad de distribuir el germoplasma por todo el globo terráqueo (María et al., 2013).

La producción de embriones *in vitro* ha incrementado significativamente desde el año 2004, puesto que las empresas productoras de embriones comerciales han aumentado considerablemente su producción, tan solo en Brasil ese mismo año se produjo un 40% más de embriones *in vitro* del total de embriones transferidos, siendo un punto de referencia para años venideros en el aumento porcentual de la producción de embriones (Camargo et al., 2006).

La producción de embriones *in vitro* es una biotecnología muy innovadora con relación al mejoramiento genético sumado con algunas otras herramientas de la rama de la genética como lo son la selección genómica uso de semen sexado, logrando una gran aceptación en América del norte, América del sur y Europa, provocando que para el año 2016 la producción de embriones *in vitro* superara a la de *in vivo* conocida también como transferencia de embriones de ovulación múltiple (MOET) por sus siglas en inglés (Ferré et al., 2020).

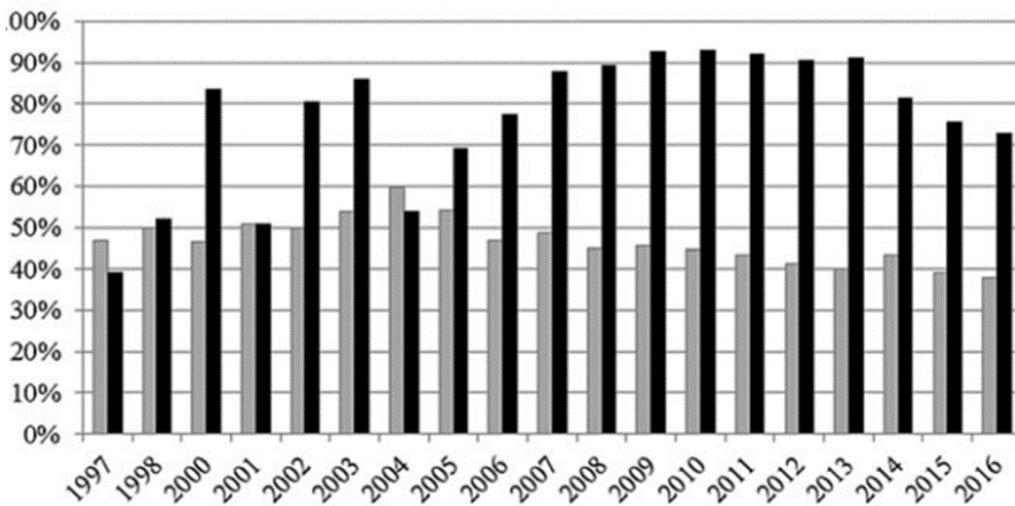


Figura 1 Porcentaje de embriones frescos producidos a través del tiempo in vivo (MOET) y producidos in vitro (IVP) de *Bos indicus* y *Bos taurus* transferidos en todo el mundo registrados por la IETS (Ferré et al., 2020).

La producción de embriones *in vitro* se extraen los ovocitos y se fecundan en el laboratorio pasando por una serie de procesos que se pueden simplificar la obtención de los ovocitos, selección de los ovocitos, maduración de los ovocitos in vitro, fecundación de los ovocitos (FIV), cultivo de los cigotos resultantes ya convertidos en blastocitos (CIV) (Tamassia et al., 2003).

3.3 Selección de la vaca donadora

El fin del mejoramiento genético es aumentar la cantidad de caracteres deseables, así como también una variación genómica, para determinar esas características al momento de seleccionar un animal debe ser por medio de mérito genético, lo cual Cardellio y Rovira (1987), mencionan que “es la suma de los efectos promedio de todos los genes que posee un individuo”, siendo esto expresado de manera tangible con número y cifras obtenidas por medio de bases de datos que se fueron almacenando para después ser utilizadas en un grupo específico, donde la variación de un individuo puede ser un factor determinante (Leibfried-Rutledge et al., 1987). Dando como consiguiente la base genética que define Wattiaux (2000) “La base genética es el punto de referencia utilizado para expresar la habilidad de transmisión predicha de un animal para un rasgo”, para ello debe determinar un grupo específico donde el punto de probabilidad sea cero y este se evaluará en un determinado

tiempo donde los resultados serán reflejados con forme a la variación del individuo en el grupo seleccionado.

3.4 Recolección y selección de ovocitos

Existen diferentes métodos de recolección de ovocitos dentro de los más utilizados se encuentran la aspiración folicular guiada por ecografía en animales vivos, este procedimiento cuenta con una gran ventaja puesto que se puede observar los cuatro planos del ovario así como también la capacidad de hacer recolección una vez por semana (Brogliatti & Adams, s/f) ; la aspiración folicular post mortem se realiza en ovarios recuperados en el matadero que cuentan con un periodo de tiempo determinado después del sacrificio (Ferré et al., 2020); así como la obtención de ovarios por medio quirúrgico donde se extirpan los ovarios para poder ser aspirados por medio de agujas hipodérmicas, para poder llevar a cabo el procedimiento quirúrgico las vacas deberán estar estimuladas con hormonas previamente para tener mejores resultados aunque también se puede realizar sin el uso de ellas dependiendo el caso, puesto que se busca que la vaca produzca el folículo dominante donde se libere un ovocito de la ovulación con un crecimiento folicular de 4 a 15 mm que por lo general seda en el séptimo día (Machaty et al., 2012).

3.4.1 Aspiración de ovarios de rastro

Para la aspiración en ovarios de rastro o colección de ovocitos en hembras sacrificadas, se deben recolectar los ovarios y colocarlos en suero isotónico a una temperatura de 35 a 37 °C, para poderlos transportar al laboratorio donde se llevará a cabo la aspiración dentro de las primeras 4 a 6 horas después del sacrificio, antes de iniciar la aspiración folicular se debe tomar en cuenta factores patológicos como quistes, que los folículos no se encuentren en estado atrésico, y que tengan un tamaño folicular de 2 a 8 mm de diámetro (Filipiak et al., 2012).

3.4.2 OPU o Aspiración folicular

La aspiración folicular tiene su origen de la palabra Ovum Pick Up (OPU) y en español conocido como técnica de punción transvaginal guiada por ultrasonografía, es una metodología poco invasiva, este procedimiento se realiza utilizando una bomba de aspiración, aguja, sistema de guía unida a un recipiente de recolección independiente del traductor (Camargo et al., 2012).



Figura 2 Elementos para realizar aspiración folicular (ABS MEXICO, 2024).

El proceso de aspiración debe contar con ciertas medidas higiénicas que son de vital importancia para evitar la contaminación cruzada, los materiales utilizados son toallas de papel desechables, alcohol etílico, de la misma manera previo al proceso

de aspiración se deberá proceder con un bloqueo epidural administrando un anestésico en el primer espacio Intercoxígeo entre la Co1 y la Co2 con una aguja de 4 cm de longitud y un calibre 18G (Filipiak et al., 2012).

La metodología para realizar la aspiración propiamente dicha es colocar el transductor en el ovario a puncionar, el transductor en la punta cuenta con una aguja y es manipulado desde el exterior con una la mano, mientras que el ovario es fijado por la mano contraria por medio de palpación transrectal. Una vez fijado el ovario y observado a través de ultrasonografía se realizan movimientos suaves que perforaran la vagina con la aguja y procederá a succionar los folículos por la bomba de vacío que los transportará a un contenedor con solución fisiológica y un anticoagulante principalmente heparina previamente calentado (Camargo et al., 2012).

El proceso de aspiración se lleva a cabo como un método donde tanto las vacas seleccionadas como las donadoras sufren de menos estrés, de igual manera permite recolectar ovocitos más pequeños de 2 a 3 mm con o sin super ovulación permitiendo la aspiración en las hembras hasta dos veces por semana (Machaty et al., 2012).

3.5 Clasificación de ovocitos

Existen diversas formas de clasificación de los ovocitos, este es uno de los pasos de suma importancia para llevar a cabo correctamente la Fertilización *in vitro* (FIV), debido a que de este procedimiento va depender el desarrollo embrionario, para esto se deben evaluar las siguientes características: el estado nuclear y citoplasmático, aspectos de la corona radiada, así como la expansión o distribución de las células del cumulus. Las cuales puede llegar a obtener un diámetro de hasta 110 μm al momento de la maduración (Martínez, 2013). Los cúmulus son el número uno de los criterios para determinar entre los ovocitos que son óptimos o incompetentes para llevar a cabo un desarrollo embrionario ya que la apariencia de dichas células determinan la posibilidad de éxito o fracaso de madurar y fecundar por método *in vitro*, ya que las células que están el en cúmulus son nutrientes que ayudan al crecimiento y al desarrollo de la zona pelúcida, además de que son los

encargados de la receptividad del espermatozoide para poder ser fertilizado (Hawk & Wall, 1994).

La existencia de métodos para evaluación de la calidad de los ovocitos es indispensable para poder llevar a cabo una maduración exitosa, primeramente se debe considerar que el ovocito tenga un cumulus con más de 4 capas compactadas, pero también se debe de tomar en cuenta que el citoplasma sea homogéneo y transparente (Younis et al., 1989), algunos otros autores toman en cuenta tres categorías donde incluyen las capas del cumulus calificadas en una escala de 1 a 3 donde y también se consideran aspectos de citoplasma homogéneo (Watson et al., 2000).

Cuadro 1 Clasificación de ovocitos (Filipiak et al., 2012).

Clasificación de los COCs:		
Clasificación	Calidad	Características a evaluar
A	Bueno	Completamente rodeado por más de 3 capas de células del cúmulus y citoplasma homogéneo
B	Regular	Rodeado parcialmente por células del cúmulus o con citoplasma irregular.
C	Malo	Desnudo.
D	Degenerado	Rodeado por fibrina (con aspecto de tela de araña)

Aún con la existencia de métodos de selección es difícil seguir un parámetro estandarizado puesto que la variabilidad de las condiciones morfológicas bajo el microscopio (Figura 4) puede ser diferente desde el punto vista del técnico seleccionador al tener que escoger al tener que seleccionar un gran numero para categorizar cada uno(Filipiak et al., 2012).

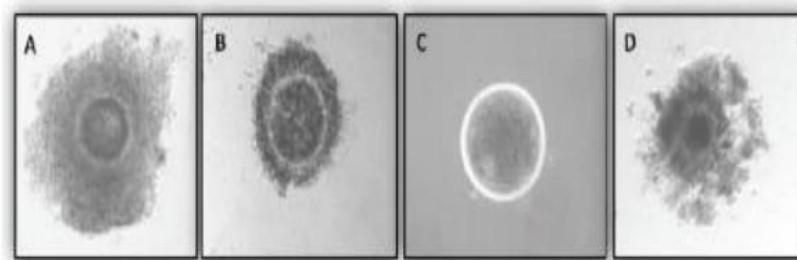


Figura 3 Maduración y fertilización del ovocito en el laboratorio (Filipiak et al., 2012).

3.6.1 Maduración

Durante el proceso de maduración el principal objetivo es replicar lo que pasaría en el cuerno uterinos después de la ovulación, puesto que en esta fase los ovocitos adquieren la competencia para ser fecundados (Salgado-Cruz & Lopera-Vásquez, 2020).

Para poder llevar a cabo la maduración en condiciones normales el ovocito debe pasar por el proceso de cambios nucleares así como también citoplasmáticos en el gameto, siendo un punto de referencia la maduración nuclear que pasa en profase esto sucede en la primera etapa de la división meiótica de la progresión de meiosis hasta llegar a la segunda fase momento donde se da la ovulación siendo un punto donde se detiene el proceso hasta la fecundación, una vez que este sucede se mantiene el proceso con la aparición de cuerpos polares en el proceso reproductivo normal fuera de laboratorio (Hyttel'et al., 1997).

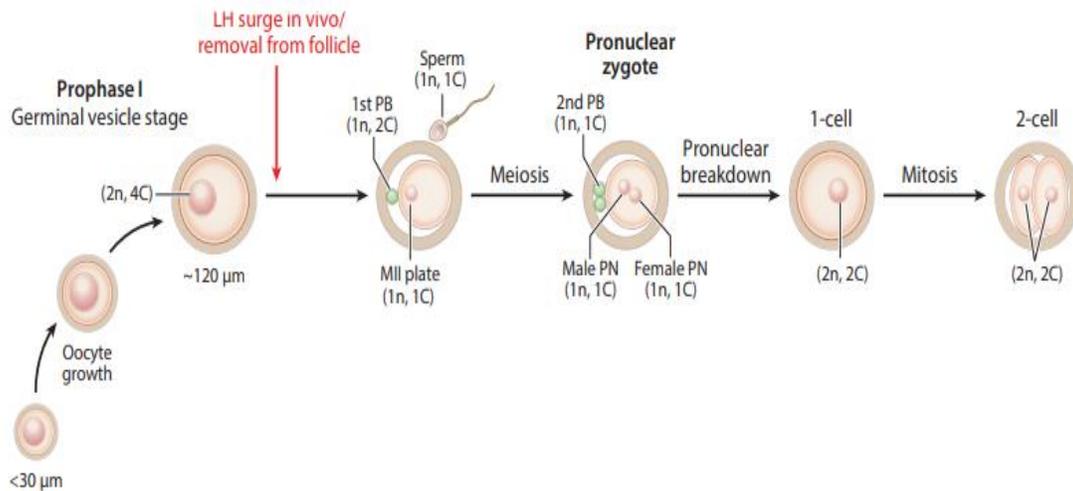


Figura 4 Maduración de ovocitos in vitro (Baruselli et al., 2002).

La maduración *in vitro* tiene como objetivo la producción de embriones de alta calidad con el fin de poder llevar a cabo de manera normal la gestación y que los productos de dicha transferencia nazcan vivos (Santa Cruz P. et al., 2014), para que esto se lleve a cabo de la manera adecuada debe pasar una serie de evaluaciones y una serie de parámetros como lo son el uso de los medios de maduración que pueden ser diferentes según la empresa y el país, pero están compuestos principalmente por suero sanguíneo, proteínas o ácidos grasos, vitaminas y hormonas, además de cualquier elemento esencial como pueden ser fuentes de energía como glucosa, lactatos y piruvato (Báez-Contreras et al., 2010).

Para poder llevar correctamente la maduración se deben tomar factores como osmolaridad, PH, hormonas; algunas de las hormonas más comúnmente utilizadas son las folicúlo estimulantes como FSH, esta afecta directamente el desarrollo; la hormona luteinizante LH y estradiol, las cuales permiten la maduración nuclear y la expansión de cumulus cuando se agrega FSH (Gordon & Lul, 1990), los medios de

cultivo donde deben contener condiciones similares a la que el ovocito necesita para madurar de manera natural, uno de los factores a contemplar en ese momento es el oxígeno ambiental así como otros aspectos, se debe cumplir con las siguientes condiciones cuya concentración debe ser CO₂ al 5%, la humedad relativa que puede variar de 95 a 100 % así como una osmolaridad en los medios de 290 mOsm con un PH de 7.4 y con una temperatura de 38.5 (Watson et al., 2000).

Componente	Rango óptimo	Observación
Osmolaridad	280 ± 20 mOsm/Kg	Del mismo modo valores que se encuentren alrededor de 245 mOsm/Kg podrían favorecer el desarrollo embrionario.
pH	7,2 y 7,6	Mayoría de los embriones de mamíferos que son cultivados en condiciones <i>in vitro</i> pueden desarrollarse a un pH neutro, o bien, ligeramente alcalino
CO ₂ y O ₂	5% O ₂ , 90% N ₂ y 5% CO ₂ para maduración ovocitaria y fertilización 5% CO ₂ en aire para desarrollo embrionario	La fase gaseosa, que es la más utilizada, es la que se encuentra constituida por 5% CO ₂ .
Fluido oviductal	Bajos niveles de Na y altos niveles de K (bovinos) en comparación con los niveles plasmáticos.	Tanto el Na como el K son balanceados a la hora de formular los medios de cultivo.
Agua	Obtenida por sucesivas destilaciones, o bien, las producidas por sistemas de purificación que hacen uso del principio de ósmosis reversa.	Este es el componente que interviene en mayor proporción en cuanto a la formulación del medio de cultivo; su grado de pureza se encuentra relacionado con el desarrollo embrionario.

Cuadro 2 Composición de los medios de maduración(Palma, 2008)

En condiciones de laboratorio en el proceso *in vitro* la llegada del ovocito a la maduración tardaría un periodo de 20 a 24 h antes de poder llegar al periodo de fertilización(Leibfried-Rutledge et al., 1987).

3.6.2 Capacitación de semen

La capacitación espermática es uno de los procedimientos de suma importancia en los procedimientos relacionados con la reproducción y aún más en fecundación *in vitro*, en este paso se busca seleccionar los espermatozoides de mejor calidad, sin

ninguna mutación fisiológica puesto que de esto dependerá completamente el éxito de la fecundación (C. Sánchez, 2009).

Para la fecundación *in vitro* donde principalmente se realiza con espermatozoides congelados, se utilizan protocolos para poder determinar la viabilidad por medio de la selección, para diferenciar los espermatozoides vivos y muertos principalmente se realiza por métodos de gradientes de densidad como es el método percoll (Sánchez, 2009).

La importancia de que el espermatozoide pase por el proceso de capacitación permite que una vez que pierde las glucoproteínas de la membrana espermática es que se adquiere la capacidad de hipomotilidad progresiva que es la capacidad de penetrar la cumulus (Filipiak et al., 2012).

3.6.3 Fertilización

Después de que los ovocitos llegaron al proceso de maduración necesarios se realiza la fecundación o inseminación, este proceso se realiza en conjunto donde interactúan grupos de aproximadamente 30 ovocitos con los espermatozoides previamente capacitados por medio de estimulación enzimática, cuando entran en contacto se origina el proceso de penetración de los espermatozoides dando origen a la unión de gametos y resultando en la generación de pronúcleos

una vez que todo el proceso de la meiosis fue completado cuando el ovulo fue fecundado dando como resultado el cigoto (Salgado-Cruz & Lopera-Vásquez, 2020).

3.6 Cultivo

Este proceso inicia una vez que se terminó el proceso de fertilización, y se procede a retirar las células de *cumulus* que están pegados a los presuntos cigotos para después entrar en un proceso de clasificación. El proceso de cultivo es el periodo donde se lleva a cabo el desarrollo de las estructuras, desde los cigotos hasta llegar

a blastocitos, este proceso tiene una duración de 7 días que es lo que con lleva el desarrollo embrionario(Arlotto et al., 1996).

El desarrollo embrionario se debe hacer en cultivos de fluido sintético similar a fluido oviductal, para los medios de cultivo es necesario dar soporte a las necesidades requeridas en la mayoría de los casos se utilizan fluidos SOF, que asemejan las condiciones fisiológicas (Filipiak et al., 2012).

La evaluación del desarrollo embrionario en cuanto a calidad, son puntos referentes para comprender la eficiencia de la producción embrionaria, esta se realiza al día 2 y 3 donde el estadio debe estar entre 2 o 4 células, este proceso es conocido como el clivaje; al día quinto o sexto se deben presentar mórulas o mórulas compactadas denominado la previsión; y al día 7 los blastocitos donde se seleccionan los embriones de mejor calidad (Salgado-Cruz & Lopera-Vásquez, 2020).

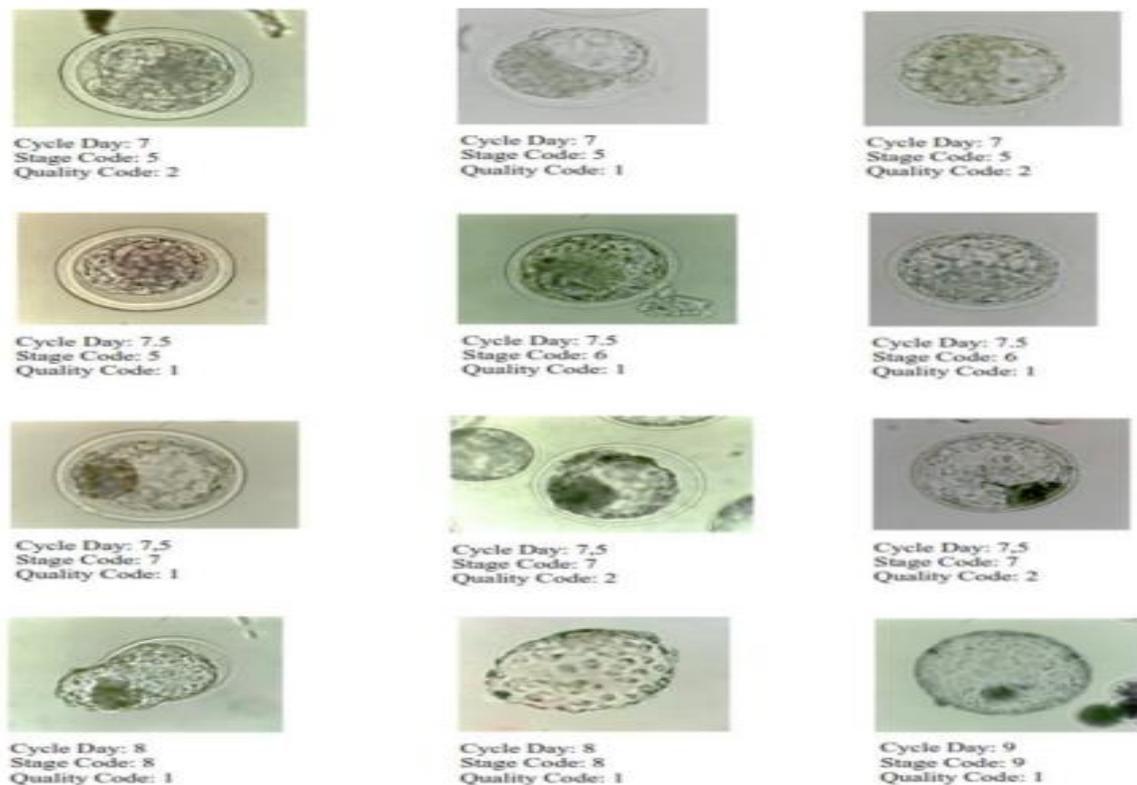


Figura 5 Embriones en diferentes etapas de desarrollo (Filipiak et al., 2012)

4 CONCLUSIONES

Se puede considerar la producción de embriones por medio de fecundación *in vitro* como una herramienta, que aunque no nueva, aún muy innovadora en el mejoramiento genético, el cual se ha vuelto de suma importancia en las explotaciones ganaderas que buscan la productividad o características específicas en su ganado, puesto que las practicas comunes de mejoramiento genético llegan a ser paulatinas llagando a tardar hasta décadas para llegar a un objetivo, mientras que con el uso de las técnicas *in vitro* se puede llegar al mismo resultado con un periodo intergeneracional menor con una mayor eficiencia.

5 LITERATURA CITADA

SADER, (2024), La Ganadería en Cifras, consulta 18/08/2024.URL:
<https://www.gob.mx/siap/es/articulos/la-ganaderia-mexicana-en-cifras?idiom=es>

Carne Mexicana (AMEG), (2024), “Portal veterinario: México se consolida como el sexto mayor productor mundial de carne de bovino”, Consulta 15/04/2024.URL:
[15/04/2024. Portal veterinario: México se consolida como el sexto mayor productor mundial de carne de bovino – Asociación Mexicana de Productores de Carne AMEG](https://www.ameg.org.mx/portal-veterinario-mexico-se-consolida-como-el-sexto-mayor-productor-mundial-de-carne-de-bovino)

Thibier, M. (2005). The zootechnical applications of biotechnology in animal reproduction: current methods and perspectives. *Reproduction Nutrition Development*, 45(3),p235–242.

Seidel, G.E Jr., Seidel, (2024), Training manual for embryo transfer in cattle, consulta 01/09/2024. URL: <https://www.fao.org/4/T0117E/T0117E00.htm#TOC>

SADER, (2023), Destaca Agricultura solidez de la industria cárnica nacional y crecimiento del consumo, consulta 23/08/2024, URL:
<https://www.gob.mx/agricultura/prensa/destaca-agricultura-solidez-de-la-industria-carnica-nacional-y-crecimiento-del-consumo>

SADER,(2023), ¡Muuuuuy sabrosa! Carne de res, consulta 23/08/24, URL:
<https://www.gob.mx/profeco/documentos/muuuuuy-sabrosa-carne-de-res?state=published#:~:text=En%20M%C3%A9xico%20su%20consumo%20anual,producci%C3%B3n%20pecuaria%20fue%20de%208.8%25>.

SADER, (2024), Exportación de ganado bovino en pie a los Estados Unidos de América, consultado 02/09/2024, URL:
<https://www.gob.mx/siap/prensa/exportacion-de-ganado-bovino-103649>

INEGI, (2024), ENCUESTA NACIONAL DE LA DINÁMICA DEMOGRÁFICA (ENADID) 2023, consultado 04/09/2024, URL:
<https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/boletines/2024/ENADID/ENADID2023.pdf>

ONU, (2024), La población mundial llegará a un máximo de 10.300 millones en este siglo, consultado 05/09/2024; URL: <https://news.un.org/es/story/2024/07/1531126#:~:text=La%20poblaci%C3%B3n%20mundial%20alcanz%C3%B3%20casi,segunda%20mitad%20de%20este%20siglo>

SADER, (2024), Escenario mensual de productos agroalimentarios, consultado 06/08/2024; URL: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/921666/Leche_d_e_Bovino_Abril.pdf

SADER,(2016), El volumen de producción de carne de bovino en México presenta sus niveles más altos entre octubre y diciembre, consultado 04/08/24; URL: <https://www.gob.mx/siap/articulos/el-volumen-de-produccion-de-carne-de-bovino-en-mexico-presenta-sus-niveles-mas-altos-entre-octubre-y-diciembre#:~:text=Existen%20aproximadamente%2030%20razas%20utilizadas,Brangus%2C%20Angus%2C%20entre%20otras>.

Hyttel, P., Fair, T., Callesen, H., & Greve, T. (1997). Oocyte growth, capacitation and final maturation in cattle. *Theriogenology*, 47(1), 23–32

Lonergan P, Rizos D, Kanka J, Nemcova L, Mbaye AM, Kingston M, Wade M, Duffy P, Boland MP. Temporal sensitivity of bovine embryos to culture environment after fertilization and the implications for blastocyst quality. *Reproduction*. 2003 Sep;126(3):337-46. doi: 10.1530/rep.0.1260337. PMID: 12968941.

C. Sánchez, K.J. Mar, M. Castilla, I. Marcos, A. Martín, A. Galán, “Técnicas para la preparación de semen en reproducción asistida”, Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular, España, 2009. En: https://www.researchgate.net/publication/281448798_Tecnicas_para_la_preparacion_de_semen_en_reproduccion_asistida.

Arlotto, T., Schwartz, J.-L., First, N. L., & Leibfried-Rutledge, M. L. (1996). *ASPECTS OF FOLLICLE AND OOCYTE STAGE THAT AFFECT IN VITRO MATURATION AND DEVELOPMENT OF BOVINE OOCYTES*.

- Baruselli, P. S., Mucciolo, R. G., Visintin, J. A., Viana, W. G., Arruda, R. P., Madureira, E. H., Oliveiras, C. A., & Molero-Filhof, J. R. (s/f). *OVARIAN FOLLICULAR DYNAMICS DURING THE ESTROUS CYCLE IN BUFFALO (Bubalus bubalis)*.
- Brogliatti, G. M., & Adams, G. P. (s/f). *ULTRASOUND-GUIDED TRANSVAGINAL OOCYTE COLLECTION IN PREPUBERTAL CALVES*.
- C. Sánchez, K. J. M. M. C. I. M. A. M. G. (2009). *Seminologa-2009-C-Tcnicasparalapreparacindesemenenreproduccinasistida*.
- Camargo, C. C., Sofía, E., Barón, P., & Manuel, E. (2012). *Ciencia y Agricultura*. 9(2), 29–37. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=560058655004>
- Camargo, L. S. A., Viana, J. H. M., Sá, W. F., Ferreira, A. M., Ramos, A. A., & Filho, V. R. V. (s/f). Factors influencing in vitro embryo production. En *Anim. Reprod* (Número 1).
- Ferré, L. B., Kjelland, M. E., Strøbech, L. B., Hyttel, P., Mermillod, P., & Ross, P. J. (2020a). Review: Recent advances in bovine in vitro embryo production: reproductive biotechnology history and methods. En *Animal* (Vol. 14, Número 5, pp. 991–1004). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1017/S1751731119002775>
- Ferré, L. B., Kjelland, M. E., Strøbech, L. B., Hyttel, P., Mermillod, P., & Ross, P. J. (2020b). Review: Recent advances in bovine in vitro embryo production: reproductive biotechnology history and methods. En *Animal* (Vol. 14, Número 5, pp. 991–1004). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1017/S1751731119002775>
- Filipiak, D. Y., Larocca, C., & Proyecto Apoyado Por Meaap-Udelar, M. (2012). *BIOTECNOLOGÍA EN REPRODUCCIÓN BOVINA MANUAL TEÓRICO-PRÁCTICO*.
- Gordon, I., & Lul, K. H. (1990). *PRODUCTION OF EHBRYOS IN VITRO AND ITS IMPACT ON LIVESTOCK PRODUCTION*.
- Hyttel', P., Fair', T., Callesen', H., & Greve', T. (s/f). *OOCYTE GROWTH, CAPACITATION AND FINAL MATURATION IN CATTLE*.
- Leibfried-Rutledge, M. L., Critser, E. S., Eyestone, W. H., Northey, D. L., & First2, N. L. (1987). Development Potential of Bovine Oocytes Matured In Vitro or In Vivo1. En *BIOLOGY OF REPRODUCTION* (Vol. 36).
- Machaty, Z., Peippo, J., & Peter, A. (2012). Production and manipulation of bovine embryos: Techniques and terminology. En *Theriogenology* (Vol. 78, Número 5, pp. 937–950). <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.04.003>
- María, Á., Díaz, G., Atuesta Bustos, J. E., Bernal Ulloa, S. M., & Jaramillo, L. C. (2013). *Generalidades de la producción de embriones bovinos in vitro Overview of the production of bovine embryos in vitro Panorâmica da produção de embriões bovinos in vitro*.
- Palma, G. A. (2008). *BIOTECNOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN CIENCIA, TECNOLOGÍA Y SOCIEDAD*. <https://www.researchgate.net/publication/281841588>

- Salgado-Cruz, E., & Lopera-Vásquez, R. (2020). Essential aspects on in vitro fertilization techniques in cattle. En *Revista de Investigaciones Veterinarias del Peru* (Vol. 31, Número 3). Universidad Nacional Mayor de San Marcos. <https://doi.org/10.15381/RIVEP.V31I3.17138>
- Santa Cruz P., C., Huanca L., W., Condori P., R., & Ampuero B., A. (2014). Use of macromolecules on the rate of in vitro maturation and embryonic development of bovine oocytes. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Peru*, 25(4), 487–493. <https://doi.org/10.15381/rivep.v25i4.10799>
- Tamassia, M., Heyman, Y., Lavergne, Y., Richard, C., Gelin, V., Renard, J. P., & Chastant-Maillard, S. (2003). Evidence of oocyte donor cow effect over oocyte production and embryo development in vitro. En *Reproduction* (Vol. 126).
- Thibier, M. (2005). The zootechnical applications of biotechnology in animal reproduction: Current methods and perspectives. En *Reproduction Nutrition Development* (Vol. 45, Número 3, pp. 235–242). <https://doi.org/10.1051/rnd:2005016>
- Watson, A. J., De Sousa, P., Caveney, A., Barcroft, L. C., Natale, D., Urquhart, J., & Westhusin, M. E. (2000). Impact of Bovine Oocyte Maturation Media on Oocyte Transcript Levels, Blastocyst Development, Cell Number, and Apoptosis 1. En *BIOLOGY OF REPRODUCTION* (Vol. 62). <http://www.biolreprod.org>