

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
“ANTONIO NARRO”**

**UNIDAD LAGUNA**

**DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**



**“EVALUACIÓN DE TRANSFERENCIA DE EMBRIONES EN  
BOVINOS EN EL TRÓPICO”.**

**PRESENTA:**

**LUIS ENRIQUE HERNÁNDEZ CHÉ**

**MONOGRAFIA:**

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

**MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

Torreón, Coahuila, México.

Junio del 2012.

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
“ANTONIO NARRO”**

**UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

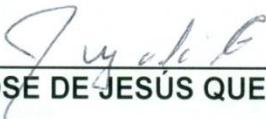


**“EVALUACIÓN DE TRANSFERENCIA DE EMBRIONES EN  
BOVINOS EN EL TRÓPICO”.**

**PRESENTA:**

**LUIS ENRIQUE HERNÁNDEZ CHÉ**

**ASESOR PRINCIPAL**

  
M.C. JOSÉ DE JESÚS QUEZADA AGUIRRE

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
“ANTONIO NARRO”  
UNIDAD LAGUNA**

**DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**



**“EVALUACIÓN DE TRANSFERENCIA DE EMBRIONES EN  
BOVINOS EN EL TRÓPICO”**

**PRESENTA:**

**LUIS ENRIQUE HERNÁNDEZ CHÉ**

**ASESOR PRINCIPAL**

---

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

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

---

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



**Coordinación de la División  
Regional de Ciencia Animal**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
“ANTONIO NARRO”**

**UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



**PRESIDENTE DE JURADO**

---

**M.C. JOSE DE JESUS QUEZADA AGUIRRE**

**VOCAL**

---

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

**VOCAL**

---

**M.V.Z. CUAUHTÉMOC FÉLIX ZORRILLA**

**VOCAL SUPLENTE**

---

**I.Z. JORGE HORACIO BORUNDA RAMOS**

## **DEDICATORIAS.**

### **A DIOS**

Por darme la oportunidad de estar en este lindo y hermoso mundo. Así mismo por darme fuerza y salud para seguir adelante y enfrentar cualquier obstáculo que se me presenté.

### **A MIS PADRES**

#### **LUIS Y WILMA.**

Por haberme guiado por el buen camino de la vida, con una linda y hermosa motivación, y haberme enseñado a vencer obstáculos que en la vida se presentan, con sus buenos consejos, cariño, y los grandes valores que me han dado hasta hoy en día. Todo esto con la finalidad de que en mi naciera el ámbito profesional.

“ GRACIAS ”

### **A MIS HERMANOS**

Por haberme mostrado su apoyo incondicional durante el transcurso de mis estudios profesionales. Además por la paciencia y los buenos consejos en los momentos más difíciles que vivía durante mi preparación como BUITRE.  
Muchas gracias.

## **A MIS FAMILIARES Y AMIGOS**

Por sus consejos y apoyo que siempre necesite y así mismo por comprenderme en los momentos de angustia y de felicidad.

De todo corazón muchas gracias.

## **A MIS MAESTROS**

Quienes me orientaron, me dieron la sabiduría, y las herramientas básicas para obtener una formación profesional en el área de la Medicina Veterinaria.

## **A MI NOVIA**

Gracias a Dios por haberme dado la oportunidad de conocer una gran mujer con la que he compartido gran parte de mi vida y gracias a sus alientos de ánimo, comprensión, paciencia, cariño, tolerancia, dedicación, ternura y mucho AMOR, gracias NANCY GABRIELA BECERRA DELGADO por existir y estar conmigo en las buenas y malas, TE QUIERO!!!!!!

## **AGRADECIMIENTOS.**

Al M.C. José de Jesús Quezada Aguirre, M.V.Z Rodrigo Isidro Simón Alonso, M.V.Z. Cuauhtémoc Félix Zorrilla, IZ. Jorge Borunda Ramos por la asesoría, y por los conocimientos que me brindaron durante la realización de este proyecto de investigación.

A la Coordinación de la División Regional de Ciencia Animal  
Y al Departamento de Ciencias Médico Veterinarias  
Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro  
**UNIDAD LAGUNA.**

<b>DEDICATORIAS</b> .....	<b>i</b>
<b>AGRADECIMIENTO</b> .....	<b>iii</b>
<b>RESUMEN</b> .....	<b>vi</b>
<b>I. INTRODUCCION</b> .....	<b>1</b>
<b>II. JUSTIFICACION</b> .....	<b>4</b>
2.1. Científico .....	4
2.2. Académico .....	4
2.3. Institucional .....	5
2.4. Personal.....	5
2.5. Regional.....	5
<b>III. OBJETIVOS</b> .....	<b>6</b>
3.1. Generales .....	6
3.2. Específicos .....	6
<b>IV. CARACTERISTICAS DEL AREA EN QUE PARTICIPO</b> .....	<b>7</b>
4.1. Información sobre la empresa o institución donde se realizó el proyecto .....	7
<b>V. PROBLEMAS A RESOLVER PRIORIZANDOLOS</b> .....	<b>8</b>
<b>VI. ALCANCES Y LIMITACIONES</b> .....	<b>8</b>
6.1. Alcances .....	8
6.2. Limitaciones .....	8
<b>VII. FUNDAMENTO TEORICO</b> .....	<b>9</b>
7.1. Técnica de transferencia de embriones. ....	9
7.2. Selección de donadoras.....	11
7.2.1. Manejo de las vacas donadoras.....	11
7.2.3. Superovulación de la vaca donante. ....	12
<b>7.3. Selección de receptoras</b> .....	<b>13</b>
7.3.1. Manejo de vacas receptoras. ....	14
7.3.2. Preparación de las vacas para la transferencia. ....	14
7.3.3. Nutrición e intervalo de postparto. ....	14
7.3.4. Sincronización de receptoras. ....	15
<b>7.4. Superovulación</b> . ....	<b>16</b>
7.4.1. Importancia clínica antes de comenzar un programa de superovulación.....	18
<b>7.5 . Sincronización de estros</b> . ....	<b>19</b>
<b>7.6. Método adecuado para el manejo de celo</b> . ....	<b>21</b>
7.6.1. Detección de celos.....	22
7.6.2. Índices de eficiencia en detección de celos.....	23
<b>7.7. Conservación de embriones</b> . ....	<b>23</b>
7.7.1. Crioprotectores. ....	24

7.7.2. Vitrificación de embriones. ....	25
7.7.3. Congelación de embriones.....	26
7.7.4. Descongelación de embriones. ....	27
7.7.5. Aspiración folicular transvaginal. ....	28
7.7.6. Inseminación. ....	29
7.7.7. Inseminación a tiempo fijo. ....	30
7.7.8. Finalidad de la aplicación de la técnica de OMTE. ....	31
7.7.9. Grado de clasificación de embriones.....	32
7.8.1. Obtención o colección de embriones.....	33
7.8.2. Método quirúrgico. ....	34
7.8.3. Método no quirúrgico.....	35
7.8.4. Sincronía donante-receptora o estadio del embrión y receptora. ....	36
<b>VIII. PROCEDIMIENTO Y DESCRIPCION DE LAS ACTIVIDADES REALIZADAS. ....</b>	<b>37</b>
8.1. Actividades desarrolladas. ....	37
8.2. Descripción detallada de actividades ....	38
<b>IX. RESULTADOS, PLANOS, GRAFICAS Y PROGRAMAS .....</b>	<b>39</b>
<b>X. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....</b>	<b>51</b>
10.1. Conclusiones .....	51
10.2. Recomendaciones .....	51
<b>XI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>53</b>

## RESUMEN

Este trabajo se realizó con el propósito de evaluar los resultados obtenidos dentro de un periodo de cuatro años y tener información sobre la Ovulación Múltiple y Transferencia de Embriones (OMTE) en el Trópico Húmedo de Campeche. Con la finalidad de establecer una cuenca lechera obteniendo una raza sintética AFS (50% HolsteinFriesian y 50% Sahiwal).

La técnica consiste en provocar la ovulación múltiple, mediante el empleo de hormonas durante un lapso que oscila entre los 4 y 5 días un una o varias hembras seleccionadas. Posteriormente se procede a inseminarlas artificialmente para obtener embriones mediante la colecta y luego transferirlos a las vacas denominas receptoras cuyo objetivo es gestar, parir y amamantar el neonato.

Los programas de transferencia de embriones (T.E.) tienen la capacidad de diseminar la riqueza de la genética superior en el ganado y acortar los intervalos generacionales en los programas de selección. El éxito económico depende de la genética utilizada, el manejo del ganado y de la habilidad en mercadotecnia y ventas. La selección de donadoras, el manejo de las receptoras, la educación y capacitación técnica del personal de campo para atender el manejo y la crianza de animales superiores, son los factores que afectan el resultado, costo y beneficios de los programas de T.E.

La inseminación artificial (IA), la técnica de transferencia de embriones (TE) ha sido desarrollada con el objetivo de aumentar el potencial reproductivo de animales genéticamente superiores. Mediante la T.E. podemos obtener mayor número de crías de hembras seleccionadas en base a su potencial genético, a sus características fenotípicas, y registros de producción.

En condiciones naturales de reproducción, anualmente podemos obtener una cría por vaca en servicio.

Con la técnica de superovulación y T.E. podemos obtener un promedio de 8 a 10 terneros por año, de 4 o 5 padres diferentes, correspondiéndose con diferentes combinaciones genéticas. Con frecuencia, después de un solo trabajo obtenemos la cantidad de crías que una vaca puede producir durante toda su vida útil en condiciones de manejo naturales.

Además de aumentar la progenie, es posible disminuir el intervalo entre generaciones a 21 meses y aumentar la presión de selección para obtener un gran número de crías provenientes del 2% al 5% de los animales jóvenes y adultos sobresalientes de un lote o raza. De esta manera, aceleramos el progreso genético hacia el biotipo seleccionado, para producir machos para la I.A., nuevas generaciones de donadoras para la T.E., hembras de reemplazo, además de producir los toros que vamos a utilizar para padrear el ganado comercial sin necesidad de compra.

**PALABRAS CLAVE:** Ovulación Múltiple, Transferencia de Embriones, Selección de donadoras, Inseminación artificial, Superovulación, Progenie.

## I. INTRODUCCION

Durante varios años se han implementado en el trópico mexicano programas de transferencia de embriones en el ganado bovino, la mayoría han sido iniciados por instituciones de investigación en forma experimental, por iniciativa de programas gubernamentales o bien, realizados esporádicamente por asesores eventuales en los ranchos ganaderos (Àrevalo., 2007).

Desde que es posible certificar mediante procedimientos de lavado que un embrión bovino con la zona pelúcida intacta está libre de patógenos, miles de embriones congelados se venden y transfieren de un país a otro con toda normalidad. Aproximadamente un 15% de los embriones bovinos generados en el mundo se obtienen empleando técnicas *in vitro*. Hoy en día, a pequeña escala, se utiliza la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para elegir el sexo de los embriones, y es probable que en el futuro se extienda este procedimiento al 'diagnóstico de embriones'. La elección del sexo en muestras de semen es una técnica bien descrita que seguramente va a aplicarse a pequeña escala en un futuro próximo, sobre todo en sistemas de producción de embriones *in vitro*. Técnicamente ya es posible clonar bovinos adultos por transferencia nuclear y generar animales clonados transgénicos. Se trata sin embargo de un procedimiento caro y poco eficiente, utilizado sobre todo por la industria farmacéutica. No cabe prever que resulte de gran utilidad para la producción agropecuaria en un futuro próximo (Mapletoft. y Hasler., 2005).

No obstante, lograr una eficiencia reproductiva adecuada va estar determinada por una gran variedad de factores, que podrían estar relacionados tanto con los animales y su entorno, como aquellos relacionados con la toma de decisiones de los dueños o administradores de los ranchos. La aplicación de técnicas reproductivas, en la producción de ganado bovino, son imprescindibles en los programas de mejora genética para optimizar la

producción láctea y cárnica. Permite contratar personal capacitado por periodos cortos para realizar la sincronización de celos, la inseminación artificial o transferencia de embriones efectiva y eficazmente, ya que reduce el tiempo invertido en la detección de celos, uso y aprovechamiento racional de la inseminación artificial y la transferencia de embriones para el mejoramiento genético, épocas definidas de empadre y en consecuencia de partos, producción de lotes homogéneos en cuanto a cruza, edad y peso, lo cual facilita el manejo, la alimentación y la comercialización (Morales, 2005).

Con relación a esto, al nivel de producción de animales de interés económico, es necesario idear algunas técnicas, como la inseminación artificial o transferencia de embriones, con el propósito de aumentar la productividad referente a la conservación o mejoramiento de las características de cada especie (Rodríguez. y Fernández., 2001).

Las biotecnologías reproductivas más utilizadas en los sistemas de producción son la inseminación artificial (IA) y la transferencia de embriones (TE). A pesar de la IA y TE han demostrado gran utilidad en los programas de mejoramiento genético, el porcentaje de los bovinos incluidos en estas tecnologías continúan siendo muy bajo en todos los países de Latinoamérica. La sincronización del celo y recientemente la sincronización de la ovulación, son biotecnologías que están haciendo un importante aporte en la aplicación de la IA y TE. Cumplir con la premisa de producir un ternero por año es el objetivo principal de cada ganadero. Esto exige que en 80-90 días la vaca recupere su actividad cíclica después del parto y quede preñada nuevamente. El éxito de los programas de sincronización de celo para la IA o SE TE sustenta en el conocimiento de tres áreas fundamentales: 1) fisiología del ciclo estral de la vaca, 2) productos farmacológicos y sus efectos sobre el ciclo estral de la vaca, y 3) factores de manejo del rebaño que reducen el anestro e incrementan las tasas de preñez (Galina. y Valencia., 2006).

La Agropecuaria Santa Genoveva decidió desarrollar una raza productora de leche y carne en un ambiente de trópico húmedo del estado de Campeche. La raza fue elegida la AustralianFriesianSahiwal (AFS), de origen Australiano.

La AFS es una raza sintética desarrollada por el Gobierno de Queensland, en Australia, después de 10 años de selección. La raza una vez estandarizada consistió en 50% HolsteinFriesian y 50% Sahiwal.

La raza fue desarrollada en base a la eficiencia en producción de leche y carne en condiciones tropicales y sub-tropicales.

## **II. JUSTIFICACION.**

La importancia del trabajo puede considerarse, como el dominio de la aplicación de una técnica moderna que contribuya el mejoramiento genético de la ganadería bovina de la entidad; también como una alternativa para la consolidación profesional de la población estudiantil del instituto, por la oportunidad que brinda la residencia profesional de poner al futuro profesionista en el campo productivo para desenvolver la capacidad teórica percibida durante su desarrollo estudiantil en el plantel, con el fin de ser apto, capaz y honesto para ejercer sus conocimientos y así reflejarlo con resultados productivos donde realice la residencia profesional para poner una imagen competitiva de su personalidad como futuro profesionista.

El proyecto se llevóa cabo con la finalidad de evaluar los resultados obtenidos a lo largo del periodo de cuatro años, así como obtener información para deducir si la aplicación de la técnica Ovulación Múltiple y Transferencia de Embriones en el trópico húmedo del estado de Campeche es rentable.

### **2.1. Científico**

Debido a los resultados y conocimientos técnicos que la técnica requiere para enfrentar los problemas productivos que conlleva al alumno; debe aplicar todos los conocimientos técnicos y científicos que han adquirido en su formación profesional.

### **2.2. Académico**

Una de las características de la residencia profesional, lo que nos permite al alumno y futuro profesionista hace acercarse a su campo de trabajo, ya que es necesario aplicar todos los conocimientos obtenidos en la etapa de formación, nos brinda además tener experiencia o ideas sobre la OMTE.

### **2.3. Institucional**

La presencia de la Universidad es de vital importancia debido a que esta institución debe ser el puente entre el productor y la tecnología; solucionar así los problemas que presenten sobre la producción y que con esto aumenta el área de influencia de la institución.

### **2.4. Personal**

El actual proyecto servirá al profesionalista tener conocimientos de acuerdo a los resultados obtenidos y poder deducir si la aplicación de la técnica es recomendable o rentable para el mejoramiento genético de los animales en los ranchos ganaderos.

### **2.5. Regional**

La importancia del trabajo se realiza con el propósito de evaluar los resultados obtenidos y tener información sobre la Ovulación Múltiple Y transferencia de Embriones (OMTE) en el Trópico húmedo de Campeche, basados en los registros de cinco años de desempeño del programa.

### **III. OBJETIVOS**

#### **3.1. Generales**

Evaluar los resultados de la base de datos obtenidos de OMTE en ganado AFS que fueron realizados en el Laboratorio Biotecnológico de la Agropecuaria Santa Genoveva a partir de Junio de 2002 e Abril 2005.

#### **3.2. Específicos**

Elaborar a base del banco de información de transferencias, colectas y nacimientos de embriones una serie de resultados productivos con el fin de aclarar lo eficiente que es la OMTE y elegir a base de resultados si es rentable y los beneficios que le brinden a la explotación ganadera o al productor.

Obtener resultados a través de las colectas para la identificación de los problemas productivos que se presenten a las empresas agropecuarias.

Identificar posibles factores que puedan estar incidiendo en los resultados.

Evaluar los indicadores de eficiencia de la técnica como son embriones colectados viables, hembras gestantes, número de donadoras por año, embriones producidos por donadora, número de receptoras, números de toros utilizados, tipos de embriones nacidos según su calidad, número de superovulaciones por donadora, número de embriones transplantados y cuantas crías nacieron por toro.

#### **IV. CARACTERISTICAS DEL AREA EN QUE PARTICIPO**

El presente trabajo se llevó a cabo en el Laboratorio de Ciencia y Genética Animal ubicada en el Instituto Tecnológico de China, Campeche. El actual proyecto estuvo bajo la revisión de la Dra. AnaMaría Ortiz de Montellano Nolasco y el MC. Carlos García Acedo.

El estado de Campeche se localiza en la región sureste del territorio nacional. Ocupa la región poniente y sur de la península de Yucatán. La entidad se encuentra ubicada al norte con 20°51', al sur con 17°49' de latitud norte, al este con 89°09', al oeste con 92°28' de longitud oeste. Ocupa el 18° lugar en extensión territorial del país con 56,858 km<sup>2</sup> y en la parte sur limita con 195 Km. de frontera con la república de Guatemala, al oriente se encuentra el estado de Quintana Roo, y limita en una pequeña porción con Belice, al noroeste limita con el estado de Yucatán.

El clima predominante es de tipo AW1, es decir cálido-subhúmedo con lluvias en verano. La precipitación pluvial es de 2000mm anuales y una temperatura promedio anual que oscila entre los 25°C dependiendo del mes del año.

##### **4.1. Información sobre la empresa o institución donde se realizó el proyecto**

La institución está integrada con diversos sistemas de producción en áreas diferentes, en agrícolas, pecuario, forestal y administrativas. El instituto cuenta con instalaciones de invernadero, laboratorio de genética, granja porcina, explotación ovina y además cuenta con el rancho que está dividida en tres áreas agrícolas, ganadería y forestal, también se integra del laboratorio de biotecnología, talleres procesadoras de carnes y alimento; el cual beneficiara para realizar prácticas de residencia profesional, servicio social y administrativas.

## **V. PROBLEMAS A RESOLVER PRIORIZANDOLOS**

Evaluación de la base de datos de cuatro años de registros de Transferencia de Embriones que se obtuvieron en la Agropecuaria Santa Genoveva. El análisis de la base de datos fue a partir de los registros que se llevaron en cada uno de los programas de Transferencia de Embriones, que a su vez servirá para comprender si la aplicación de la técnica es favorable en el Trópico Húmedo de Campeche y así poder realizar una buena selección de mejores donadoras, receptoras y buenos toros tomando en cuenta ciertas características de cada animal, por ejemplo los parámetros reproductivos que han tenido en el hato durante su establecimiento del rancho.

## **VI. ALCANCES Y LIMITACIONES**

### **6.1. Alcances**

Se evaluaron los resultados del banco de información de colecta de transferencias de embriones, nacimientos, toros utilizados, embriones recolectados por donadora, embriones que llegaron al parto por receptora, pesos promedios de crías al nacer, embriones al parto según su calidad, tipo de embrión que se usaron de acuerdo a su característica. De igual forma se evaluó el número de superovulaciones por donadoras, y el número de superovulaciones en total, por el número de donadoras utilizadas durante los cuatro años que se recopiló la información de la aplicación de la técnica de Transferencias de Embriones en el Trópico Húmedo de Campeche.

### **6.2. Limitaciones**

Las limitaciones más importantes fueron algunos datos incorrectos e incompletos, por lo tanto solo se evaluaron cuatro años (2002—2005), debido a la falta de información de los siguientes años. Ya que la información que se

evaluó fue recolectado de las libretas de los vaqueros, en los registros escritos y en las libretas de campo.

Esa evaluación fue el primer intento de análisis del proceso de Transferencia de Embriones, de manera que se puede considerarse un pequeño margen de error, debido a la falta de algunos datos.

La toma de datos en campo se le hizo difícil a la residente Dania Rodríguez Hernández por el mismo manejo que se le dio al ganado, los vaqueros solo apuntaban todos los datos del corral de receptoras, mientras el técnico manipulaba los animales y a veces ocasionaba errores de lectura en los aretes o se les escapaba los animales.

## **VII. FUNDAMENTO TEORICO**

### **7.1. Técnica de transferencia de embriones.**

La transferencia de embriones es un procedimiento en el cual los embriones son recuperados de donantes superovuladas y transferidos dentro del tracto reproductivo de hembras receptoras que servirían como madre sustituta. Mediante estímulos hormonales es posible modificar la tasa de ovulación de una hembra y aumentar la cantidad de óvulos fértiles producidos en un ciclo estral(López., 2005).

La técnica de la transferencia de embriones consiste en recolectar del útero de la hembra donadora él o los embriones, clasificarlos, empacarlos y congelarlos o pasarlos en fresco al útero de una o más hembras receptoras que servirán de incubadoras exclusivamente de ese embrión y que se encuentra con los mismos días de ciclo sexual que la donadora para que coincidan la edad del embrión con los días de haber ovulado y se pueda llevar a cabo el reconocimiento materno fetal (Rodríguez. y Fernández., 2001).

La calidad del embrión y el estado de desarrollo embrionario. Cuando se congelan embriones de calidades muy buena y buena se obtienen mejores resultados que cuando se congelan aquellos de calidad regular. La etapa del desarrollo más apropiada para la vitrificación de embriones es mórula compacta a blastocisto expandido, siendo más sensibles a las bajas temperaturas los embriones producidos *in Vitro* (Celestinos. y Gatica., 2002).

La necesidad de disponer de un gran número de embriones en estadios tempranos, y el desarrollo de la producción *in vitro* de embriones. Por tal razón, se evalúan diferentes condiciones y medios de cultivo *in vitro* de los oocitos buscando optimizar el proceso de maduración, ya que estos pueden afectar la correcta formación del huso acromático, generando alteraciones cromosómicas; lo cual es contraproducente en la producción *in vitro* de embriones (Urrego. *et al.*, 2005).

Para la aplicación de la técnica de transferencia de embriones es necesario la utilización de algunos procedimientos fisiológicos que se han clasificados de la siguiente forma:

- Selección de la donante.
- La superovulación.
- Detección del celo e inseminación artificial (de la donante).
- Obtención (colección de embriones).
- Lavado, búsqueda y manipulación de embriones.
- Selección de embriones y sincronización de las receptoras.
- Transferencias de embriones.
- Evaluación de los resultados de la transferencia.

## 7.2. Selección de donadoras.

La elección de hembras donadoras se realizara teniendo en cuenta su valor genético y en base de las aptitudes productivas de cada raza. Las hembras deben al menos de haber tenido una cría (Gibbons. y Cueto., 1995).

El valor de la donadora puede ser definido de acuerdo a diferentes criterios según los beneficiarios. Sin embargo, en el caso de la aplicación práctica de la técnica para el mejoramiento genético del ganado, debemos escoger a las vacas más productivas como donadoras. Además, estas vacas, deben de cumplir con los siguientes requisitos (Àvila., 2007):

- No presentar enfermedades hereditarias.
- Tener excelente historial reproductivo y salud.
- Alto valor en el mercado.
- Ciclos estrales regulares.
- No tener enfermedades que afecten la fertilidad.
- No ser demasiado viejas.

### 7.2.1. Manejo de las vacas donadoras.

La alimentación adecuada de su donante es fundamental si se van a producir embriones. Antes de que tenga lugar la reproducción, debe haber un mantenimiento y producción efectivo. Una donante gorda es un problema tan grande como una donante flaca. Recomienda vacunar contra agentes virales y bacteriológicos, como así también contra gusanos, por lo menos un mes antes de la superovulación. La provisión de minerales de libre elección también es una buena idea. Las hembras donantes se separan del resto del rodeo 30 días antes del flushing para centrarse en niveles de energía y suplementación especial de minerales. Luego de que se realiza el flushing, se les otorga un tiempo de descanso de 45-60 días, en donde los niveles de energía disminuyen, para asegurarse de que la vaca no ingrese muy gorda al próximo ciclo de flushing. La vaca potencialmente donante, debe ser reproductivamente

sana para producir los mejores resultados. Deberá tener un tracto reproductivo normal en palpación rectal y deberá tener una historia post parto normal, especialmente relacionada con la duración de 18 a 24 días del ciclo del estro(D. Walenciak Hereford, 2005).

### **7.2.3.Superovulación de la vaca donante.**

Las vacas o vaquillonas tratadas adecuadamente, pueden liberar 10 o más óvulos viables en un solo celo. Aproximadamente el 85 % de todas las donantes fértiles responderán al tratamiento de superovulación con un promedio de 5 embriones transferibles. El principio básico de la superovulación es la estimulación del desarrollo folicular a través de una preparación hormonal, que se introduce de manera intramuscular o subcutánea, con actividad hormonal de estimulación folicular (FSH). Se recomienda que un veterinario local palpe las vacas donantes antes del comienzo del FSH, para asegurarse de que tenga un luteum corpus activo y de que no haya quistes. El tratamiento de FSH comienza entre ocho y catorce días luego de que se observó el celo. El FSH se aplica dos veces por día durante cuatro días.

El proceso de TE es un trabajo intensivo y requiere instalaciones adecuadas para el manejo del ganado. Las instalaciones son fundamentales, hay un gran manejo de las vacas y es necesario que sea fácil agarrarlas. No es bueno que corran o se estresen durante ese período (D. Walenciak Hereford, 2005).

Las vacas con  $> 3$  ng/ml de progesterona al iniciar el tratamiento superovulatorio, tienen más cuerpos lúteos (18.7 vs 10.3) total de óvulos y embriones (16.4 vs 8.1) y embriones transferibles (8.3 vs 2.4) que las donadoras con  $< 3$ ng/ml de progesterona. Las vacas que tienen una concentración plasmática de progesterona inferior a 3ng/ml al iniciar el tratamiento superovulatorio, presentan una menor respuesta al estímulo superovulatorio. La evaluación de la concentración plasmática de

progesterona el día del inicio del tratamiento superovulatorio puede ser utilizado como una herramienta de gran utilidad para seleccionar las mejores donadoras, o bien su aplicación puede ayudar a identificar y excluir a animales que se puedan considerar como donadoras de mala calidad, por supuesto es importante considerar el costo-beneficio y la variabilidad de los resultados (López. *et al.*, 1999).

### **7.3. 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 (Rivera. y Hansen., 2007).

La administración oral de propilenglicol mejora la calidad del cuerpo lúteo y los niveles séricos de progesterona, también permite seleccionar una mayor proporción de receptoras para la transferencia y aumenta los índices de gestación y parto, por lo que su empleo puede mejorar el beneficio económico en el campo y en la industria de la transferencia de embriones (Ordoñez. *et al.*, 2007).

La receptora ideal es la siguiente:

1. Cruzada; preferible cruce de lechero con cárnico (*Bostaurus*).
2. Vaca de talla mediana a grande o vaquilla con buen desarrollo.
3. Vaca que ya haya parido una vez es la más adecuada.
4. Saludable.
5. Libre de tuberculosis, brucelosis y leptospirosis.
6. Que no sea repetidora.
7. Que no esté cebada (condición corporal ideal de 3-4 (escala de 1-5)).

### **7.3.1. Manejo de vacas receptoras.**

El manejo de las hembras receptoras hace al éxito o fracaso de la transferencia embrionaria (TE). Se recomienda seleccionar como receptoras a las hembras que tengan buenas ubres, grandes pelvis y de buen carácter. "También es necesario que las receptoras tengan un buen plan nutricional. Su dieta debe tener entre dos y tres libras de proteína total, dependiendo de los requerimientos de tamaño y lactancia. No se debe subestimar la nutrición adecuada de los animales que se encuentran en el programa de transferencia embrionaria (D. Walenciak Hereford, 2005).

### **7.3.2. Preparación de las vacas para la transferencia.**

- a) Inmovilice la vaca en la trampa (chute).
- b) Las vacas receptoras se Palpan (o utilizar ultrasonido) para identificar presencia de cuerpo lúteo (CL), si no hay presencia de CL, no utilizar esa receptora.
- c) Se marca con tiza, crayón o marcador del lado que el CL está presente.
- d) Afeitar el área de anestesia.
- e) Preparar zona de anestesia epidural limpiando con benzol o yodo tallar con alcohol (etanol al 70%).
- f) aplicar anestesia epidural inyectando 5 ml de lidocaína en el espacio epidural. Cuando se relaja la cola, la receptora está lista para transferirle el embrión.

### **7.3.3. Nutrición e intervalo de postparto.**

Dos factores de manejo que determinan el éxito o fracaso de un programa de sincronización del celo son la nutrición y el intervalo de postparto. La iniciación de los ciclos estrales después del parto se demora si la vaca pierde peso durante la preñez. Cuando las vacas son alimentadas

adecuadamente durante la preñez, pero no ganan peso en el periodo parto-servicio, presentaran celo, pero tendrán tasas reducidas de concepción y de preñez en caso de recibir un embrión viable por transferencia. Por lo tanto, es importante evaluar el estado nutricional de las receptoras antes de incorporarlas a un programa de transferencia de embriones. Para ser incorporadas a un programa de sincronización, las vacas deben tener al menos 50 días de paridas, o más de 50 días si se trata de vacas de primera parición. Como la pubertad es principalmente una función del peso corporal, las novillas deberían haber alcanzado los dos tercios de su peso adulto esperado a los 14 meses de edad. Tanto las novillas vírgenes como las vacas, deben haber presentado tres ciclos normales. Todas las receptoras deben ser examinadas antes de la sincronización, para constatar la normalidad del tracto reproductivo. Otro aspecto importante de la nutrición está constituido por el fósforo y los minerales traza (Galina. y Valencia., 2006).

#### **7.3.4. Sincronización de receptoras.**

Para sincronizar receptoras es: aplicando una inyección de GnRH (100, microgramos I.M) seguido a los siete días por una inyección de PGF2 " (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 Ovysynch 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 porejemplo durante el estrés calórico.

Las vacas usadas para TE, recibirán una inyección intramuscular de 100 de microgramos de GnRH (Cystorelin) el día 0 seguido por 25 mg de PGF2 " el día 7 y 100 microgramos de GnRH el día 9. Los embriones se transfieren 8 días después de la inyección de GnRH(Rivera. y Hansen., 2007).

Las receptoras pueden ser seleccionadas mediante un programa de detección del celo o del celo inducido cuando se utilizan tratamientos de sincronización. Las receptoras sincronizadas con PGF deben ser tratadas entre 12 y 24 horas antes que las donantes, porque el celo inducido por la PGF ocurrirá a las 60-70 horas en las receptoras, pero entre 36-48 horas después de la PGF en las donantes superovuladas. Las tasas preñez no parecen ser diferentes entre receptoras con celo natural y receptoras con celo inducido con PGF. Si se decide utilizar PGF, el tratamiento más usual es el de dosis de PGF con 11 a 14 días de intervalo y detección por 5-7 días después de la segunda aplicación de PGF, cuando se trabaja con novillas o vacas secas (Galina. y Valencia., 2006).

#### **7.4. Superovulación.**

Desde hace años se emplean en el país, métodos para concentrar el celo en vacas y vaquillonas a fin de acortar el periodo de detección de celo e inseminación artificial. Controlado el aspecto sanitario y atendido los requerimientos de la nutrición, es posible aumentar de forma significativa y eficiente la producción de carne /leche con la incorporación de material genético con mayor potencial de producción a través de la IA. La utilización de prostaglandinas (como agente luteolítico), es la más frecuente, por su efectividad, bajo costo y facilidad de uso. (López., 2005).

Se usa en general en vaquillonas y vacas sin cría al pie, con algunas variantes como por ejemplo:

- ◆ Inyección I de Prostaglandina:
- ◆ Detección de celos e inseminación por cinco días.
- ◆ Inyección II de Prostaglandina en la mañana del 6º día.
- ◆ Detección de celos e inseminación de acuerdo al estro inducido en los próximos cinco días.

Se ha demostrado que la monitorización del folículo dominante y el control del inicio de su atresia o la inducción de su rotura en el momento de comenzar el tratamiento superovulatorio, puede permitir un incremento importante en el número de embriones transferibles obtenidos y, aunque no da lugar a una disminución en la variabilidad de los resultados, si permite que un mayor número de animales tengan un mayor número de ovulaciones (Quintela. *et al.*, 1999).

La técnica de la superovulación consiste en administrar durante el crecimiento folicular hormonas que provoquen el desarrollo de más folículos, no solamente de uno como normalmente sucede, el ciclo sexual de la vaca dura 21 días (variando de 21 a 23) y se inicia el primer día del predominio de los estrógenos en sangre y un folículo maduro en el ovario (etapa del estro que dura aproximadamente un día), después viene la ovulación y formación del cuerpo hemorrágico con caída de los niveles de estrógenos (etapa del metaestro con una duración de cinco días), continúa el predominio del cuerpo lúteo y reposo sexual por la influencia de la progesterona (etapa del diestro que dura 11 días), y finalmente la regresión del cuerpo lúteo e inicio del desarrollo del nuevo folículo de otro ciclo (etapa del proestro que dura cuatro días), (Rodríguez. y Fernández., 2001).

Uno de los factores que limitan a la técnica de un programa de ovulación múltiple de transferencia de embriones (OMTE) es la gran variación en la respuesta que sigue el tratamiento superovulatorio.

La especie, raza, edad, y el tipo de dosis de gonadotropinas que se manejen son algunos de los factores que influyen sobre la respuesta superovulatoria(López. *et al.*, 1999).

El objetivo principal de los tratamientos de superovulación en vacas es producir un gran número de ovulaciones y obtener la máxima cantidad de embriones transferibles, que den como resultado una alta probabilidad de

preñez. La respuesta superovulatoria y la producción de embriones viables de una vaca donante, son resultados de un gran número de factores, entre ellos los relacionados con el tratamiento superovulador, factores individuales y ligados al ambiente. La superovulación se comienza con tratamientos de gonadotropinas entre los días 8 y 10 después que se observa el celo, aproximadamente cuando comienza la segunda onda de crecimiento folicular. (Galina. y Valencia., 2006).

Las gonadotropinas más utilizadas son extractos de pituitarias porcina u ovina o gonadotropina coriónica equina (eCG). Estos extractos contienen altas cantidades de FSH y cantidades variables de LH. La vida media de la FSH es de 5 h y por lo tanto se debe administrar cada 12 h por vía intramuscular (IM). Los tratamientos consisten en dosis decrecientes o constantes durante 4 o 5 días, y se prefieren los extractos con bajo contenido de LH por que producen embriones de baja calidad. La eCG es una glicoproteína compleja con actividad de FSH y LH. Tiene una vida media aproximada de 40 h en la vaca y persiste más de 10 días en la circulación sanguínea. Por esta razón, se administra en una sola dosis IM, seguida por antisuero anti-eCG o anticuerpos monoclonales anti-eCG en el momento de la primera inseminación. Además de la administración de la gonadotropinas, la donante recibe una dosis luteolítica de PGF a las 48 h de comenzado el tratamiento superovulador, y regularmente presenta celo a las 36-48 h pos PGF.

#### **7.4.1. Importancia clínica antes de comenzar un programa de superovulación.**

El examen clínico del aparato reproductor es factor clave. La aplicación correcta de los métodos de biotecnología (sincronización de celo, IA, superovulación de transferencia embrionaria, tratamiento de anestro post-parto), dependen del conocimiento y actualización en fisiología reproductiva y farmacología de los agentes terapéuticos. Hay dos factores claves que afectan la respuesta superovulatoria. La disponibilidad de un adecuado número de

folículos antrales sensibles al estímulo gonadotrófico, presentes de en el momento de administrar el tratamiento; y la ausencia de un folículo dominante. Depende de la dinámica de la población folicular, controlada por factores ováricos y por el sistema neuroendocrino. El otro factor es la calidad y la dosificación de gonadotropinas. Para lograr un alto número de embriones transferibles, la dosis de gonadotropinas debe ajustarse a la edad de la donante. La respuesta superovulatoria también puede ser afectada por situaciones climáticas extremas, que las mismas se presentan en verano o invierno, dependerá de la ubicación geográfica del lugar donde se lleva a cabo la aplicación de la transferencia de embriones (Becaluba., 2007).

### **7.5. Sincronización de estros.**

La sincronización de celos se puede emplear únicamente en vaquillonas o en vacas secas para ser fecundadas mediante IA. Consiste en la eliminación del cuerpo lúteo mediante medios manuales (extracción manual por recto) o su lisis por medios hormonales (prostaglandinas inyectables). La sincronización de celos no se puede aplicar en rodeos con bajos porcentajes de celo diario, ya que su única función es agrupar los celos de las hembras que se encuentran en condiciones de producirlos. Su principal y quizá único uso consiste en emplearla cuando se desea inseminar un rodeo de vaquillonas y/o vacas secas en buen estado nutritivo y sanitario, con porcentajes elevados de celo diario y que por razones organizativas, de personal o económicas, no es posible que en el establecimiento permanezcan durante los 2 a 3 meses de servicio el personal y el equipo necesarios para efectuar la misma. En estos casos, se puede realizar la sincronización de celos económicamente, efectuando la IA. y repaso posterior con toros hasta completar el período de servicio, ya que la sincronización no aumenta la fertilidad de los celos ni la efectividad de la I.A.(Bavera, 2005b).

Es una de las herramientas utilizada para modificar la eficiencia de producción. En muchos casos se aplica con el fin de aumentar el % de ternero logrado y en otros como vamos a ver para facilitar la introducción de nueva genética al rodeo a través de la IA, (López., 2005).

La evolución de los métodos para el control del ciclo estral en la vaca, puede ser ordenado en 5 fases distintas. La primera comprende todas investigaciones con el sentido de prolongar la fase lútea a través de la administración de progesterona exógena.

Con el tiempo estos métodos pasaron a contar con una asociación de estrógenos y gonadotropinas. La tercera fase está caracterizada por la utilización de prostaglandinas con el fin de acortar la fase lútea, la cuarta fase sería aquella en la que fueron desarrollados los métodos con la asociación de progestágenos y prostaglandinas. La denominada quinta fase surgió por estudios más recientes de las ondas foliculares que mostraron que el control del ciclo estral en la vaca requiere la manipulación no solo de la fase lútea sino también del crecimiento folicular (Becaluba., 2006).

Dentro de las ventajas de la sincronización de estros en bovinos podemos citar las siguientes:

- ◆ Concentración de animales en estro en un corto periodo
- ◆ Racionalización de la IA principalmente en vacas de carne.
- ◆ Concentración y reducción del periodo de parición.
- ◆ Manejo de los alimentos disponibles de acuerdo con la época del año y las categorías de animales.
- ◆ Facilitar la formación de test de evaluación zootécnica para posibilitar la compra de individuos con intervalos reducidos entre los nacimientos.
- ◆ Registro de los terneros, facilitando las prácticas de manejo y comercialización.

Uno de los tratamientos más comunes de sincronización de celos es mediante el uso de la prostaglandina (PGF). Una de las desventajas es la falta de efectividad en la inducción de la luteolisis en los primeros 5 ó 6 días y la variabilidad en la distribución de presentación de celo en un periodo hasta de 5 días, debida al estado folicular al momento del tratamiento. Otros métodos para sincronizar la presentación de celos y ellos están referidos a sincronizar el desarrollo de las ondas foliculares. La ablación del folículo dominante es un método confiable para sincronizar el Benzoato de Estradiol (1 mg) 24 horas después de la remoción del progestágeno; b) 100 ugGnRH al inicio y 100 ugGnRH al momento de IA y c) 12.5 mg LH al inicio y 12.5 mg LH al momento de la IA, determinó diferencias en la presentación de celo pero no en los porcentajes de preñez (Huanca, 2001).

#### **7.6. Método adecuado para el manejo de celo.**

El celo o estro es el momento culminante del ciclo estral durante el cual la hembra es sexualmente receptiva. En este momento la hembra presenta un conjunto de signos característicos que denotan su receptividad, este es el único momento del ciclo en que la hembra se mantiene quieta al ser montada. El perfil hormonal que puede llevar a la expresión de celo en la vaca es un alto nivel de estrógeno en sangre y la caída de los niveles de progesterona por lisis del cuerpo lúteo. Estos altos niveles de estrógeno y baja concentración de progesterona son considerados prerrequisitos para la expresión de celo, pero no son las que en última instancia inducen el comportamiento clásico de celo (Becaluba. y Becaluba., 2006).

Para llevar acabo una eficiente sincronización en vacas, el productor debe llevar en cuenta ciertas características que los animales presentan al momento del inicio de su ciclo estral, (Becaluba. y Becaluba., 2006). Como son las siguientes:

- 1) La pasividad a la monta es el único indicador de que la vaca se encuentra en celo. Consiste en la inmovilidad de la hembra durante 6 a 8 segundos al ser montada por el toro u otra compañera del grupo
- 2) Durante el periestro las hembras olfatean y lamen los genitales de sus compañeras.
- 3) Se encuentran inquietas, caminan con mayor frecuencia, mugen, se frotan entre ellas, dejan sus crías.
- 4) Descarga de mucus cervical más evidente en vaquillonas que en vacas.
- 5) Como consecuencia de las montas reiteradas, la zona del anca se encuentra depilada.
- 6) Edematización vulvar por acción estrógenica.

#### **7.6.1. Detección de celos.**

En sistemas sujetos a inseminación artificial y servicios a corral, una precisa detección de celos es la llave para una eficiente reproducción. Celos no detectados o falsamente detectados resultan en mayor número de inseminaciones, con la consecuencia de perder leche y terneras de reposición, por aumento de los intervalos entre partos (IPP). Una ineficiente detección de celos es una causa principal que contribuye a que los IPP excedan los 365 días, para los rodeos de partos y servicios casi todo el año. Para los rodeos estacionales una correcta detección de celos permite tener una corta y programada temporada de partos y durante el servicio un alto porcentaje de animales (90%) inseminados en los primeros 28 días de comenzado el mismo (Glauber., 2007).

Según Glauber hay que tener en cuenta los tipos de errores que se pueden presentar en manejo de detección de celos en las vacas.

Tres tipos de errores en la detección podrían identificarse, a saber:

- ◆ Errores por diagnóstico, cuando se falla en el diagnóstico de la vaca o vaquilla en celo y se insemina animales que no están en celo. Esto provoca la existencia de índices de no retorno al celo inferiores a 18 días.
- ◆ Errores por omisión: Cuando vacas en celo no son detectadas. Error de omisión es no actuar ante un problema que si bien existe, no fue detectado.
- ◆ Errores de identificación: Cuando se confunde la identidad de las vacas o vaquillonas. Esto puede ser frecuente en rodeos con más de 200 vacas y en los registros también aparecen vacas con no retorno inferiores a 18 días.

#### **7.6.2. Índices de eficiencia en detección de celos.**

- % Detección de celos (posibles/ detectados)
- % Celos detectados a los 60 días post-parto.
- % de Celos antes de los 60 días luego de paridas.
- % de Eficiencia de Detección: %vacas inseminadas /total de vacas en servicio (en un periodo determinado de 21 o 28 días de duración).
- 

#### **7.7. Conservación de embriones.**

La posibilidad de conservación de embriones permite la difusión de material de alto valor genético. Para un transporte a corta distancia, la refrigeración a 4°C permite su conservación por 24 horas, en medio de cultivo. El calentamiento de embriones se realiza a 0.6°C por minuto o bien se colocan directamente a 37°C. (Gibbons. y Cueto., 1995).

Los embriones pueden ser conservados, *in vitro*, para su posterior transferencia mediante: Cultivo a temperatura ambiente, refrigeraciónentre

0 °C a +4 °C. La congelación a -196 °C. Un paso indispensable en la transferencia de embriones es la conservación temporal de embriones recobrados de una donadora antes de ser transferidos o congelados, ésta se realiza en un medio de Solución Buffer Fosfato (PBS), suplementado con 10% suero, una fuente de proteínas que reduce la tensión superficial favorece la sedimentación, evita que los embriones se adhieran a algún elemento utilizado para su manipulación, incorpora sustancias promotoras del crecimiento que favorecen su desarrollo, absorbe e inhibe metales pesados tóxicos que puedan estar presentes en el medio (Celestinos. y Gatica., 2002).

En la actualidad, la congelación convencional constituye la única metodología utilizable en programas de criopreservación de rutina, principalmente en aquellos que involucran la conservación de embriones producidos in vivo. Esto podría deberse a que la misma ofrece resultados aceptables y repetibles en gestación y nacimientos (kaiser *et al.*, 2006).

#### **7.7.1. Crioprotectores.**

Los embriones, al ser congelados, necesitan ser deshidratados parcialmente a fin de evitar la formación de cristales que lesionan las estructuras citoplasmáticas. Esta deshidratación se logra incorporando un agente crioprotector al medio de congelación (Celestinos. y Gatica., 2002)

El uso de crioprotectores es fundamental para la supervivencia del *conceptus* que se desea criopreservar. Se utilizan crioprotectores permeables como el dimetilsulfóxido (DMSO) o el propanediol (PROH), y no permeables como la sacarosa.

Los crioprotectores permeables disminuyen el punto de congelación intracelular y los no permeables favorecen la deshidratación por efecto osmótico (Ellen Marelo *et al.*, 1996).

Los crioprotectores debido que tienen un peso molecular bajo, son capaces de atravesar la membrana plasmática de forma activa o pasiva, entre

ellos se encuentran los alcoholes como glicerol, el etinleglicol, propilenglicol o el sorbitol. Los crioprotectores no permeables no son capaces de atravesar la membrana plasmática debido a su elevado peso molecular y a su compleja estructura.

Su principal función es elevar la presión osmótica, disminuyendo la cantidad requerida de crioprotector permeable y su toxicidad, y favoreciendo así la deshidratación de la célula (Monje., 2005).

La criopreservación tiene como objetivo el mantenimiento de la viabilidad y funcionabilidad celular a temperaturas bajas. Los periodos críticos para la sobrevivencia celular durante la criopreservación son la fase inicial del congelamiento y el periodo de retorno a condiciones fisiológicas.

Los criopreservantes son sustancias hidrosolubles y de baja toxicidad, que disminuyen el punto eutéctico de una solución dada, (punto en el cual una composición dada de A y B solidifica como un elemento puro), el descenso del punto eutéctico implica que se alcanzará una concentración dada de solutos a una temperatura menor, de forma que la célula estará más deshidratada y el gradiente osmótico al que estará sometido será menor (Portillo. *et al.*, 2006).

### **7.7.2. Vitrificación de embriones.**

La vitrificación es un método de criopreservación extremadamente rápido, en el cual los embriones son incluidos en soluciones altamente concentradas de crioprotectores y sumergidos directamente en el nitrógeno líquido, desde una temperatura superior a los 0°C, demorándose así sólo unos segundos en congelarse.

La vitrificación ha sido utilizada exitosamente como método de congelación de ovocitos y embriones de diversas especies (Silva. y Berland., 2004).

La vitrificación es un proceso físico de solidificación utilizado para conservar órganos, tejidos y embriones. La solución vitrificante (SV) lleva

incorporado crioprotectores en alta concentración. Al ser enfriada no cristaliza, sino que se torna viscosa y pasa del estado líquido a un estado sólido no estructurado similar al vidrio, tomando de ahí su nombre. Esta técnica permite transferir embriones congelados a campo sin necesidad de equipos y laboratorios muy costosos, obteniendo tasas de preñez que oscilan entre el 30 y el 50 % (Celestinos. y Gatica., 2002).

La consecuencia negativa de esta estrategia radia en el incremento de las probabilidades de lesionar las células debido al choque osmótico y a la toxicidad de los crioprotectores. Sin embargo, se han aplicado protocolos para intentar disminuir esos efectos negativos. Como el uso de crioprotectores menos tóxicos o la combinación de crioprotectores (disminuyendo la toxicidad individual de cada uno, pero manteniendo las propiedades osmóticas y crioprotectoras), la utilización de crioprotectores por etapas o la utilización de soluciones concentradas preenfriadas (Monje., 2005).

### **7.7.3. Congelación de embriones.**

Los embriones congelados en una solución salina tamponada fosfato (PBS) suplementada con proteínas o macromoléculas (suero bovino, albúmina bovina [BSA]), a la cual se le adiciona sustancias denominadas crioprotectoras, que modifican el comportamiento físico de la solución y protegen a las células de los daños asociados al descenso térmico. Uno de los efectos de la cristalización en las soluciones acuosas es remover agua de la solución, ya que los cristales que se forman están compuestos por agua pura, por lo cual la solución remanente, que permanece sobre enfriada, se concentra.

Este proceso se repite hasta que a una determinada temperatura, denominada eutéctica o "punto eutéctico". La fase líquida remanente y los solutos solidifican la congelación convencional principalmente en aquellos que involucran la conservación de embriones producidos in vivo. Esto podría deberse a que la misma ofrece resultados aceptables y repetibles en gestación

y nacimientos, observándose sólo una diferencia del orden del 10% entre los transferidos en fresco y los criopreservados(kaiser *et al.*, 2006).

El empleo de embriones congelados posibilita utilizar eficientemente donantes y receptoras; incorporar progreso genético a bajo costo, comparando los valores del embrión y el de su transporte frente a los animales en pie; transferir algunos embriones y conservar el resto hasta poder analizar los registros de producción de la descendencia; controlar enfermedades exóticas, reemplazando la importación de animales en pie por la de embriones congelados libres de ellas, y crear bancos de embriones de valor pecuario (Celestinos. y Gatica., 2002).

#### **7.7.4. Descongelación de embriones.**

El descongelamiento de embriones se realiza en agua a 37C° durante 30 segundos. Posteriormente, se realiza la extracción progresiva del crioprotector en etapas sucesivas (5 a 10 minutos cada uno), sumergiendo los embriones en placas con concentraciones decrecientes de etilenglicol (1 M, 0.5 M), y luego se pasan en una placa con PBS. Otra técnica de remoción del crioprotector del descongelamiento, consiste en el empleo de sucrosa(Gibbons. y Cueto., 1995).

Las condiciones de descongelación son fundamentales para la supervivencia de los embriones criopreservados. El proceso de descongelación y retiro del crioprotector se logra bajando las diluciones de propanediol (PROH) gradualmente en presencia de sacarosa. La sacarosa mantiene el gradiente osmótico extracelular que previene la entrada de agua excesiva durante el retiro del crioprotector. Cuando el crioprotector ha salido completamente, el embrión se coloca en el medio de cultivo y el agua retorna dentro de la célula (Ellen Marelló *et al.*, 1996).

### 7.7.5. Aspiración folicular transvaginal.

La aspiración folicular transvaginal, Ovum Pick-Up (OPU), es una técnica mediante la cual los ovocitos inmaduros son recolectados de los folículos en los ovarios de una vaca viva por aspiración guiada mediante ultrasonografía a través de la pared vaginal. Y aparece como una solución de nuevos intentos previos de aspiración de folículos en vacas vivas mediante técnicas como laparotomía y laparoscopia. Para llevar a cabo esta técnica de aspiración folicular *in vivo* se requiere contar con un equipo de ultrasonografía, un transductor sectorial, una bomba de aspiración y un sistema de guía de la aguja. La aguja está conectada a la bomba de vacío por medio de una tubería plástica o de silicona, lo que permite que el contenido folicular sea vaciado directamente al filtro, que es similar al utilizado para la recolección de embriones.

Una vez ubicado el folículo a aspirar, se impulsa la aguja suavemente para que penetre la pared vaginal y luego la folicular; una vez logrado esto la bomba de vacío aspira el contenido y lo deposita en el filtro de embriones o en el recipiente destinado para tal fin. En cualquiera de los casos estos debe contener medio de aspiración heparinizado (PBS+10% de suero fetal bovino). Posterior a esto los ovocitos son procesados igual que para fertilización *in Vitro* (Trujillo. y Fonseca., 2005). La OPU 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 superovulación. La aspiración folicular transvaginal es un procedimiento que permite la recuperación repetida de ovocitos de donantes vivas, siendo una técnica de alta eficiencia y repetibilidad, lo que permite al combinarla con la fertilización *in Vitro* superar con creces el número de becerros obtenidos por donante en un periodo fijo de tiempo en comparación con la superovulación.

La aplicación de esta técnica puede, además, incrementar el número de donantes de ovocitos entre las cuales se podrá contar con hembras pre-

puberales, lo que permitiría reducir el intervalo generacional y así incrementar el progreso genético.

#### **7.7.6. Inseminación.**

La inseminación artificial (I.A.) es una técnica por la cual el hombre actúa de intermediario entre el macho y la hembra, llevando el semen hasta la cercanía del óvulo. Con esta técnica ha sido posible el mejoramiento genético en forma rápida y masiva de los rodeos de cría, lo que ha contribuido al aumento de la producción animal. La detección del celo y la inseminación en el momento oportuno es uno de los pasos fundamentales para el éxito de la I.A. La inseminación intracervical es la que aconsejamos por su rapidez, seguridad y ausencia de complicaciones. Por otra parte, evita abortos en caso de preñez por robo en la hembra a inseminar. Se introduce 1 ml de semen diluido, proveniente de pastilla, ampolla o pajuela (paillets), en el segundo anillo del cuello uterino. Para ello se emplea una jeringa de 2 ml que funciona sólo como bomba impelente de aire, que se acopla mediante un intermedio de goma a una pipeta, generalmente de plástico descartable o de vidrio esterilizable, en ambos casos esterilizada, que carga 1 ml de semen diluido (Bavera, 2005a).

El semen de alta calidad es un requerimiento absoluto. Son recomendables cuatro dosis de semen adecuadas siempre que se manejen y depositen correctamente. Muchos criadores prefieren la IA antes que el servicio natural, es muy útil inseminar con dos dosis 12 horas luego del comienzo del celo y luego utilizar una dosis más a las 12 horas. La liberación de varios óvulos de los folículos múltiples del ovario aumenta la necesidad de asegurarse que los espermatozoides alcancen el oviducto de las hembras superovuladas. Se ha tenido éxito cuando se inseminan a las 12,14 y 36 horas posteriores al comienzo del celo (D. Walenciak Hereford, 2005).

La posibilidad de obtener crías de toros de alto valor genético a un bajo precio (costo de la dosis de semen), con la aplicación de una técnica

sencilla y sin necesidad de mayores inversiones en infraestructura que las que habitualmente se encuentran en los establecimientos dedicados a la cría han contribuido a la difusión y adopción de la inseminación artificial por parte de los productores. Si bien existen numerosos factores que deben tenerse en cuenta para la implementación de la IA, uno de los más importantes y quizás el menos comentado es la elección de la categoría de animales que van a conformar el futuro rodeo de inseminación (Robson., 2006).

#### **7.7.7. Inseminación a tiempo fijo.**

El desarrollo de programas de control del ciclo estral que posibilitan la inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) ha sido uno de los aportes más importantes realizados por la ciencia para la difusión de esta poderosa biotecnología en la especie bovina. La utilización de la IATF ha simplificado marcadamente la IA de vacas con cría al pie, aumentando de esta manera la base inseminable de los rodeos. Los protocolos modernos se basan en controlar ajustadamente el momento de la ovulación, de manera de permitir realizar inseminaciones en tiempo prefijados. Es decir, permiten realizar inseminaciones en forma simplificada en períodos muy cortos y consisten en utilizar dispositivos intravaginales liberadores de la hormona progesterona que permanecen colocados en el animal durante 7 a 9 días. La IATF es realizada en forma sistemática a las 48 a 56 hrs. posteriores al retiro del dispositivo. Si bien existe cierta flexibilidad en el tiempo de permanencia de los dispositivos (7, 8 o 9 días), una vez retirados se activa "el reloj de la ovulación" y se debe ser sumamente respetuoso de los tiempos. Una gran cantidad de trabajos concluye que los beneficios productivos de la aplicación de la IATF rondan en un 18-20% de aumento en los kilos de ternero destetado. Parte de la diferencia es atribuida a la superioridad genética, y otra parte a que los terneros nacen más temprano en la época de parición.

En definitiva, la utilización de estos protocolos llevará a lograr más kilos de carne (Marcantonio., 2007).

La IA en razas lecheras ha permitido lograr un progreso genético considerable, teniendo en cuenta las pruebas de progenie a grandes escalas. La IATF permite la extensión de esta técnica a todas las categorías de vientres: vaquillonas de primer y segundo servicio y vacas secas adultas y con cría al pie. La aplicación correcta permite obtener un alto índice de preñez en vaquillonas y vacas secas (60-65%) y en vacas con cría al pie (50-60%). Si posteriormente se controla el retorno al primer celo y se insemina, los índices de preñez aumentan a 70-75% para el primer grupo y 60-65% para el segundo (Floretti., 2006).

#### **7.7.8. Finalidad de la aplicación de la técnica de OMTE.**

La finalidad de la aplicación de esta técnica en los animales tiene fundamentos de orden genético, comercial, sanitario, y de conservación de especies. Permite lograr los siguientes objetivos. (Gibbons. y Cueto., 1995)

- Aumentar el progreso genético en la producción, a través del incremento de la intensidad de selección de las madres destinadas a la producción de machos superiores al disponer de un mayor número de crías por hembra.
- Aumentar la eficiencia de los programas de núcleo de producción de leche, carne o lana. A su vez se puede evaluar información complementaria o de alguna característica de producción en particular (valores de grasa o proteínas de leche).
- Introducir o difundir nuevas razas o genotipos de alto valor productivo. Las características deseables y de alta heredabilidad pueden ser rápidamente multiplicadas.
- Incrementar la tasa de mellizos (gemelos idénticos). Al realizar la partición de embriones se logran individuos genéticamente iguales, siendo entonces probar la adaptación de genotipos idénticos, en situaciones ambientales o ambientes diferentes.

- Conservar razas o especies. La conservación de material genético (embriones congelados) permite el reaseguro en bancos de genes que de otra manera desaparecerían con la especie.
- Difundir material genético de alto valor comercial con la finalidad de adaptación ambiental de las crías a diferentes sistemas de reproducción y manejo.
- Reducir riesgos en la transmisión de enfermedades, debido a que los primeros estadios de su desarrollo de embriones presentan una protección natural contra los gérmenes infecciosos.

#### **7.7.9. Grado de clasificación de embriones.**

Grado 1.-excelente, embrión ideal, esférico, simétrico. Con células de tamaño. Olor y textura uniforme. Los blastómeros son claramente visibles y la zona pelúcida está intacta.

Grado 2.-bueno, hay algunas imperfecciones triviales, el embrión tiene muy pocos blastómeros desprendidos de la masa celular y posee una gran cantidad de vesículas. Su forma puede ser irregular.

Grado 3.-regular, el embrión posee defectos definidos: detritus celular, forma irregular, olor muy oscuro o muy claro. Pocas células degeneradas, vesículas y presencia de blastómeros desprendidos.

Grado 4.-malo, el embrión posee severos defectos, sería ruptura de la zona pelúcida, el embrión puede estar parcialmente fuera de la misma, forma muy asimétrica, tendencia a la desintegración con granulación y vacuolización de los blastómeros. No se recomienda transferirla.

### **7.8.1. Obtención o colección de embriones.**

Después de la ovulación, los ovarios liberados son fertilizados (durante la IA) a nivel de la ampolla del oviducto y se convierten en embriones, los cuales 80-90% de ellos descienden del útero a cabo de los 5-7 días después del estro. Los embriones se pueden obtener de los oviductos (4 días después de la inseminación) o del útero (5 días después de la inseminación) o en la exposición del cuerno uterino (a los 6 días post-IA) mediante el sacrificio del animal, también se les puede extraer por la vía quirúrgica o no de esta forma, en un animal intacto a través del proceso conocido como lavado uterino. Los embriones uterinos son los que se recolectan más a menudo porque sus índices de preñez son de los más altos y se les puede congelar con mayor éxito que a embriones más jóvenes en algunas especies. En general pueden recuperarse 40 a 80% de los óvulos que presentan cuerpos lúteos en el animal intacto, pero los índices de recuperación son un poco mayores en vías reproductoras extirpadas, pues es posible que en algunos de los ovocitos no sean captados por la fimbria debido a que están agrandados en el ovario superovulazo.

Si se tiene en cuenta que no todos los animales donantes responden al impulso superovulatorio, es necesario realizar la selección previa a los animales convenientes antes de comenzar la colección, por ejemplo, colecciona solo cuando están presentes más de 4 cuerpos lúteos en el ovario y este diagnóstico lo realiza por vía rectal, inmediatamente antes de la operación (Varisanga., 1993).

Las técnicas de recolección consisten en el lavado interno de los cuernos uterinos. Siete días después de la IA de la donante, los embriones son recolectados con la ayuda de un catéter que es introducido en el útero por la vagina y el cérvix. Los catéteres más utilizados son los Foley de dos y tres vías. Se pueden utilizar una gran variedad de medios de recolección, pero el más popular es el Dulbeco`s Buffer Salino (PSB), debido a que tiene fosfato

como buffer, y su pH cambia en forma mínima al ser expuesto a la atmósfera. Un medio de cultivo de embriones ideal será aquel que se asemeje física y químicamente al medio en que se encontraban los embriones al momento de ser recolectados. Los ovarios de las donantes deben ser palpados (o examinados por ultrasonografía) para estimar la respuesta superovulatorio. Comenzar con las que tiene mayor respuesta para poder organizar la transferencia de los embriones frescos y el congelado. El medio recolectado es volcado en un filtro especial con una malla de 50 m que permita el paso del medio y no de los embriones. Finalizando el filtrado se lava la malla del filtro con PSB utilizando una jeringa y aguja fina; el fluido es recolectado en una caja de Petri y se procede la búsqueda de los embriones (Galina. y Valencia., 2006).

#### **7.8.2. Método quirúrgico.**

Para este método, se incide el animal en la línea media después de haber preparado el animal para una intervención quirúrgica y el empleo de la anestesia general. Se prepara el campo operatorio, se abre la cavidad abdominal en la línea media y se trastocan los cuernos uterinos y varios máximamente fuera de la cavidad abdominal, fijando el útero extraabdominalmente y se revisa el efecto superovulatorio a través del conteo de los cuerpos luteos y folículos grandes cavitarios en cada ovario. Los huevos en el oviducto pueden ser lavados ya sea a partir de la fimbria hacia el útero o de la unión úteroobarica hacia la fimbria, o del útero hacia la base del cuerpo uterino. En la práctica de la transferencia se hace el lavado a partir de los 5-7 días después del estro, ya que los embriones han llegado a los cuernos uterinos. En esta técnica, se introduce el medio lavado en la base del cuerno uterino y se deja fluir hacia la punta donde se recolecta el medio utilizando una jeringa con aguja de punta de roma o un tubo de vidrio pequeño introducido en la luz de la herida de punción en la pared uterina (Varisanga., 1993).

### **7.8.3. Método no quirúrgico.**

Por muchas razones es deseable obtener los huevos con técnicas no quirúrgicas ya que todas las técnicas quirúrgicas pueden conducir a la formación de adherencia y en virtud de que existen menos riesgos para la vida y salud del donador con los métodos no quirúrgicos. Existen dos tipos de catéter para la obtención de los huevos de manera no quirúrgica en bovinos, un sistema de lavado de dos vías y uno de circulación de tres vías, siendo este último sistema, el que reduce al mínimo el tiempo de lavado y el volumen de líquido utilizado al tiempo que favorece la penetración cervical en forma excepcional. Cada cuerno uterino se llena con 30 o 60 ml del medio al cual se le permite fluir dentro del vaso recolector mientras se da un masaje suave al útero por vía rectal. Esto se repite hasta que se han utilizado 300 u 800 del medio y después se introduce el catéter de Foley en el otro cuerno uterino y se repite el proceso. El mismo proceso se utiliza para recolectar huevos en yeguas, excepto que el balón se infla en el cuello y se lavan los dos cuernos en forma simultánea. El procedimiento para un lavado en la vaca es el siguiente: se utiliza un catéter de caucho de Foley con un manguito para introducir aire, la recuperación de embriones se hace del útero. Se introduce un medio fisiológico a través del catéter a fin de lavar el cuerno uterino y se regresa por el catéter a una caja recolectora o un frasco (Varisanga., 1993).

#### **7.8.4. Sincronía donante-receptora o estadio del embrión y receptora.**

La obtención de tasas aceptables de preñez por transferencia de embriones depende parcialmente de que el celo de la receptora y donantes este dentro de una sincronía aceptable, cuyo rango puede variar si los embriones son frescos o congelados. El estadio del ciclo de la receptora y el porcentaje de preñez también están relacionados con la calidad embrionaria. Se han demostrado que embriones de calidad excelente o buena soportan más el asincronismo que los embriones regulares o malos. También se han reportado que los mayores porcentajes de preñez con embriones regulares o malos en receptoras que entran en celo después de la donante. Está relacionado con el hecho de que los embriones de calidad pobre, el desarrollo embrionario retardado es frecuente, por lo que el ambiente uterino proporcionado por un receptora en un estadio más temprano del ciclo resulta más propicio para este tipo de embrión (Galina. y Valencia., 2006).

Según Galina y Valencia analizaron datos de transferencia de embriones congelados con etilenglicol 1.5 M en receptoras cruza Cebú. Los índices de preñez que estaban entre los días 7 y 7.5 del ciclo (0+12 h fueron respecto a la donante) no fueron diferentes que las que estaban en los días 6.5 y 8 del ciclo pero fueron mayores que de las receptoras entre los días 5.5; 6 y 8.5 del ciclo. Eso indica que lo ideal con embriones congelados es no tener una sincronía mayor de 24 h. en cambio en embriones frescos se pueden llegar a transferir embriones en receptoras que estén entre los días 5 y 9 del ciclo. Sin embargo hay una disminución de preñez cuando se separa de las 36 h de asincronía en relación con la donante.

## **VIII. PROCEDIMIENTO Y DESCRIPCION DE LAS ACTIVIDADES REALIZADAS.**

El éxito en la transferencia de embriones depende de la habilidad de realizar, con atención inflexible al detalle, una serie de pasos técnicos, mientras que se minimizan factores que conocemos que tiene un efecto negativo en el resultado. La mala higiene arriesga la salud de las donadoras, reduce las tasas de gestación y aumenta el riesgo de transmitir infecciones cuando se transfieren los embriones.

### **8.1. Actividades desarrolladas.**

Revisión de literatura.- Revisión de literatura y búsqueda en libros, Internet sobre el tema de T. E con el fin de tener una base teórica del tema y para entender los conceptos técnicos usados en los programas de T. E.

Análisis estadístico de la base de datos.- después de conseguir la base de datos del programa de transferencias se realizó un análisis para obtener los resultados a lo largo de cuatro años así como año por año.

Evaluar los resultados y sacar conclusiones.- Se elaboraron cuadros con los resultados generales a lo largo de cuatro años de programas y de año por año. Así como también cuadros con los datos de becerros nacidos por transferencia de embriones, número de donadoras por año, número de superovulciones en total de donadoras, número de receptoras utilizadas, número de toros utilizados, pesos promedios de becerros al nacer, etc.

## 8.2. Descripción detallada de actividades

- Identificación de becerros nacidos por transferencia de embrión.
- Análisis estadístico de datos
- Datos de identificación y productivos del semen de los toros utilizados para I.A en la T.E.
- Resultados de cuatro años de T.E en condiciones tropicales.
- Resultado del año 2002 de T.E en condiciones tropicales.
- Resultado del año 2003 de T.E en condiciones tropicales.
- Resultado del año 2004 de T.E en condiciones tropicales.
- Resultado del año 2005 de T.E en condiciones tropicales.
- Resultado de cuatro años de becerros nacidos por T.E.
- Colectas, transferencias y nacimientos por mes durante cuatro años.

## IX. RESULTADOS, PLANOS, GRAFICAS Y PROGRAMAS

Cuadro 1. Número de donadoras utilizadas por año para la transferencia de embriones.

<b>AÑOS</b>	<b>DONADORAS</b>	<b>%</b>
2002	47	16.5
2003	105	36.8
2004	97	34.0
2005	36	12.6
<b>TOTAL</b>	<b>285</b>	<b>100.0</b>

Número de donadoras utilizadas por año y sus correspondientes porcentajes que ocupan del total de donadoras utilizadas.

En el año 2003 se utilizaron 105 donadoras y fue el año donde se tuvo el mayor porcentaje, en cambio en el año 2005 se utilizaron 36 donadoras y tuvieron el menor porcentaje de las 285 donadora utilizadas para los cuatro años de la transferencia de embriones.

Cuadro 2. Número de superovulaciones.

<b>SECUENCIAS DE VACAS</b>	<b># DE SUPEROVULACIONES</b>	<b>%</b>
1	109	50.7
2	47	21.9
3	32	14.9
4	9	4.2
5	8	3.7
6	5	2.3
7	3	1.4
8	2	0.9
<b>TOTAL</b>	<b>215</b>	<b>100.0</b>

El mayor porcentaje fue de 50.7% y se puede deducir que 109 vacas tuvieron una sola ovulación, mientras el menor porcentaje que fue de 0.9% solo existieron 8 vacas que tuvieron dos superovulaciones; esto quiere decir que cada 6 meses tuvieron a una superovulacion las 8 vacas, mientras de las 109 vacas tuvieron a una superovulacion al año.

Cuadro 3. Eficiencia de donadoras

# DE VACAS	# DE SUPER/VACA	DONADORA ID	TOT No. EMB RECUP	No.TRANSF	PARTOS	EFICIENC.
1	1	0	0	0	0	0.0
2	1	702	0	0	0	0.0
3	1	812	15	6	1	16.7
4	1	1804	3	3	0	0.0
5	1	1826	24	0	0	0.0
6	1	65058	0	0	0	0.0
7	1	724144	8	5	1	20.0
8	1	ASG 1	11	2	0	0.0
9	1	1046N	18	9	0	0.0
10	1	1154N	8	6	0	0.0
11	1	1175A	11	3	0	0.0
12	1	11802B	8	8	0	0.0
13	1	11812B	3	3	0	0.0
14	3	1801B	37	15	2	13.3
15	3	1802B	55	27	6	22.2
16	2	1804B	4	4	1	25.0
17	1	1805B	12	12	2	16.7
18	4	1806B	72	13	9	69.2
19	1	1807B	0	0	0	0.0
20	2	1809B	25	6	6	100.0
21	2	1810B	21	17	5	29.4
22	2	1811B	11	10	5	50.0
23	3	1812B	39	20	14	70.0
24	1	1817B	10	10	1	10.0
25	3	1820B	33	11	4	36.4
26	4	1826B	90	30	10	33.3
27	1	552N	8	6	0	0.0
28	1	5764A	9	8	0	0.0
29	1	5907R	5	0	0	0.0
30	1	5933N	15	8	0	0.0

31	1	74AZ	11	4	0	0.0
32	1	78AZ	7	4	0	0.0
33	1	79AZ	2	2	0	0.0
34	1	812B	9	0	0	0.0
35	6	A012	37	18	8	44.4
36	6	A068	48	13	4	30.8
37	5	A069	54	28	3	10.7
38	5	A076	33	14	3	21.4
39	5	ASG 1	39	27	7	25.9
40	15	ASG 2	265	124	38	30.6
41	3	ASG 3	39	30	6	20.0
42	1	ASG4	6	4	0	0.0
43	9	ASG5	57	35	9	25.7
44	9	B 11	155	78	23	29.5
45	1	B 179	6	6	0	0.0
46	1	B 203	14	12	0	0.0
47	2	B034	23	12	6	50.0
48	2	B058	10	9	3	33.3
49	1	B059	3	3	0	0.0
50	9	B072	86	50	7	14.0
51	1	B075	5	0	1	0.0
52	5	B085	20	17	3	17.6
53	8	B096	89	42	16	38.1
54	5	B103	36	22	1	4.5
55	2	B105	38	19	6	31.6
56	7	B147	52	33	9	27.3
57	6	B148	18	10	7	70.0
58	6	B179	48	31	7	22.6
59	12	B185	106	60	14	23.3
60	2	B189	6	6	0	0.0
61	6	B194	23	16	2	12.5
62	1	B203	14	12	0	0.0
63	1	B203A	8	0	0	0.0
64	1	B203B	3	0	1	0.0
65	1	B205	1	1	0	0.0
66	3	B215	10	5	4	80.0
67	5	B217	37	11	3	27.3
68	2	B248	20	8	3	37.5
69	8	B296	47	36	9	25.0
70	4	C013	18	17	3	17.6

71	2	C040	5	4	2	50.0
72	10	C1005	102	67	22	32.8
73	4	C125	11	7	2	28.6
74	1	C2034	5	3	2	66.7
75	11	C2049	107	73	25	34.2
76	6	D025	68	37	7	18.9
77	5	D166	59	53	8	15.1
78	9	D172	29	23	5	21.7
79	2	D211	12	9	1	11.1
80	12	E600	159	79	30	38.0
81	6	E6405	765	32	2	6.3
82	6	E6512	66	58	10	17.2
83	4	F47	63	43	5	11.6
84	4	G5058	38	22	6	27.3
85	3	G6520	36	29	4	13.8
86	1	G6525	7	6	0	0.0
87	4	GH015	35	21	3	14.3
88	1	H069	7	5	0	0.0
89	8	H5037	88	43	18	41.9
90	2	H5250	9	6	0	0.0
91	4	H6199	29	23	3	13.0
92	4	H6207	20	10	2	20.0
93	11	H6254	175	103	15	14.6
94	9	H6257	52	32	5	15.6
95	12	H6632	71	38	12	31.6
96	7	J5014	71	41	8	19.5
97	4	J5018	88	16	9	56.3
98	3	J5103	30	14	9	64.3
99	3	J510B	15	11	0	0.0
100	10	J5174	99	61	21	34.4
101	1	J6300	12	2	1	50.0
102	2	J6305	10	3	1	33.3
103	1	J6307	13	8	1	12.5
104	7	J6309	88	66	14	21.2
105	1	J6476	10	5	2	40.0
106	4	K6381	76	46	4	8.7
107	1	L004	24	20	1	5.0
108	1	L005	24	20	1	5.0
109	1	L007	5	3	1	33.3
110	1	L021	3	1	0	0.0
111	4	L06	34	17	2	11.8
112	3	L07	19	14	6	42.9
113	3	M007	22	12	3	25.0
114	3	M008A	25	15	7	46.7

115	1	M009	5	4	2	50.0
116	1	M011	10	3	0	0.0
117	2	M064	8	4	1	25.0
118	2	MB7147	23	12	3	25.0
119	1	MB7174	8	4	1	25.0
200	1	S1046N	18	9	2	22.2
201	1	S312N	11	10	2	20.0
202	1	S334A	9	2	1	50.0
203	1	S774N	10	8	1	12.5
204	1	S930N	3	3	1	33.3
205	1	SG10A	9	7	0	0.0
	432		4569	2212	545	24.6

De los 205 donadoras solo una donadora con identificación ASG2 tuvo 15 superovulaciones de las cuales 265 embriones recuperados y 124 transferidos, solo llegaron al parto 38 embriones y tuvieron una eficiencia de 30.6%. Las donadora que tuvieron una sola superovulación son las tuvieron el 0.0% de eficiencia y cero embriones al parto. Sola una donadora tuvo el 100% de eficiencia y fue la donadora con identificación de 1809B y tuvo solo dos superovulaciones, de los cuales 25 se recuperaron, se transfirieron 6 y nacieron los 6 embriones. De los 205 donadoras se tuvieron 432 superovulaciones, se recuperaron 4569, de los cuales 2212 se transfirieron y nacieron solo 545 embriones, alcanzando un 24.6% de eficiencia del total de número de partos.

Cuadro 4. Receptoras trabajadas por año (2002—2005)

<b>AÑO</b>	<b>RECEPTORAS</b>	<b>%</b>
2002	197	6.4
2003	1005	32.8
2004	1584	51.6
2005	282	9.2
<b>TOTAL</b>	<b>3068</b>	<b>100.0</b>

En el año 2004 se obtuvo el 51.6% del total de receptoras que fueron trabajadas durante los cuatro años de transferencia de embriones. Y en el año 2002 se obtuvo el menor porcentaje de 6.4% con 197 receptoras trabajadas.

Cuadro 5. Total de trasplantes por receptoras desde (2002—2005)

<b>TRASPLANTES</b>	<b>RECEPTORAS</b>	<b>%</b>
1	648	45.8
2	331	23.4
3	216	15.3
4	106	7.5
5	52	3.7
6	30	2.1
7	20	1.4
8	8	0.6
9	2	0.1
10	1	0.1
<b>TOTAL</b>	<b>1414</b>	<b>100.0</b>

En la siguiente tabla se puede explicar que la mayoría de las receptoras trabajadas tuvieron un solo trasplante ocupando un 45.8% de los 1414 receptoras utilizadas. Y resulto que solo una receptora tuvo 10 trasplantes teniendo solo el 0.1% del total de receptoras trabajadas durante los cuatro años de transferencia de embriones.

Cuadro 6. Tipo de embriones transferidos del (2002—2005)

<b>TIPO</b>	<b>EMBRIONES</b>	<b>%</b>	<b>PARTOS</b>	<b>EFIC. %</b>
<b>FRESCO</b>	2222	73.3	463	20.8
<b>CONGELADO</b>	767	25.3	132	17.2
<b>REFRIGERADO</b>	21	0.7	1	4.8
<b>PARTIDO</b>	17	0.6	3	17.6
<b>CULTIVADO</b>	5	0.2	2	40.0
<b>TOTAL</b>	<b>3032</b>	<b>100.0</b>	<b>601</b>	<b>19.8</b>

El mayor porcentaje lo obtuvieron los 2222 embriones de tipo fresco con un 73.3% y también se tuvo la mayor cantidad de partos con 463, pero con el 20.8% de eficiencia.

Los embriones transferidos de tipo cultivado tuvieron el 0.2% con tan solo 5 embriones transferidos y con solo 2 partos de los 601 que se tuvieron en total durante cuatro años; pero con el 40.0% de eficiencia.

El menor porcentaje de eficiencia lo tuvieron los embriones de tipo refrigerado con 21 embriones transferidos, el 0.7%, con 1 solo parto de los 601 que se tuvieron y con solo el 4.8% de eficiencia.

Cuadro 7. Crías nacidas por año según sexo y peso promedio

<b>AÑO</b>	<b>TOTAL</b>	<b>MACHOS</b>	<b>HEMBRAS</b>	<b>PESO PROM</b>
2002	36	21	15	33.0
2003	155	79	76	30.1
2004	378	195	183	30.9
2005	40	20	20	30.9
<b>TOTAL</b>	<b>609</b>	<b>315</b>	<b>294</b>	<b>31.2</b>

En el año 2002 se tuvieron 36 nacimientos de los cuales 21 fueron machos y 15 fueron hembras, pero fue donde se tuvo el mayor peso promedio, aunque fue donde se tuvo el menor número de nacimientos.

En el año 2004 fue donde se tuvo el mayor número de nacimientos con 378, y también se tuvieron los números mayores de nacimientos en cuanto a hembras y machos. Nacieron 195 machos y 183 hembras, pero con un peso promedio de 30.9 igual que en el año 2005, pero con diferentes números de partos y números nacimientos en ambos sexos.

Cuadro 8. Crías nacidas según semental utilizados

<b>MACHO</b>	<b>EMBRIONES TRANSFERIDOS</b>	<b>TOTAL DE CRIAS</b>	<b>PART. (%)</b>	<b>EFIC. %</b>	<b>PESO PROMEDIO</b>	<b>MACHOS</b>	<b>HEMBRAS</b>
25-SE	36	4	0.7	11.1	31.3	1	3
30-SM	108	23	3.8	21.3	31.0	11	12
AFS	1	1	0.2	100.0	28.0	1	0
B015	1	0	0.0	0.0	29.0	0	0
B062	73	8	1.3	11.0		6	2
B074	33	7	1.2	21.2	31.3	3	4
BEBETO 015	1	0	0.0	0.0		0	0
BEBETO 062	3	2	0.3	66.7	38.5	0	2
D008	22	4	0.7	18.2	29.5	1	3
D032	676	165	27.4	24.4	30.8	90	75
E001	957	220	36.5	23.0	31.2	70	50
E885	46	7	1.2	15.2	28.0	2	5
EUROA	9	2	0.3	22.2	29.5	2	0
H015	73	10	1.7	13.7	30.8	5	5
H158	19	3	0.5	15.8	31.7	2	1
ICARE	7	0	0.0	0.0		0	0
J094	142	35	5.8	24.6	30.1	18	17
J3027	7	7	1.2	100.0	29.3	4	3
JERSEY	47	9	1.5	19.1	28.6	6	3
L334	19	1	0.2	5.3	34.0	1	0
N066	17	7	1.2	41.2	33.3	2	5
N090	1	0	0.0	0.0		0	0
N091	11	2	0.3	18.2	30.0	0	2
N096	73	7	1.2	9.6	34.0	4	3

NAPOLEON 091	17	4	0.7	23.5	31.5	4	0
NINJA 066	10	3	0.5	30.0	37.0	0	3
NINJA 091	17	2	0.3	11.8	35.0	2	0
NINJA 96	2	2	0.3	100.0	27.0	2	0
P164	21	1	0.2	4.8	30.0	0	1
P174	8	0	0.0	0.0		0	0
PJR	59	11	1.8	18.6	29.6	6	5
POCHOLO	45	5	0.8	11.1		2	3
POCHOLO 164	9	1	0.2	11.1	28.0	1	0
SAMURAY	69	11	1.8	15.9	33.2	5	6
Z750	305	39	6.5	12.8	29.4	18	21
TOTAL	2944	603	100.0	20.5	<b>31.1</b>	269	234

El toro con identificación E001 fue el que tuvo el mayor número de embriones transferidos con 957 y con mayor número de crías nacidas con 220, también con el mayor número de porcentaje de partos con 36.5%, pero con el 23.0% de eficiencia. También fue el segundo toro con mayor número de crías en cuanto a sexos, en hembras nacidas fueron 50 y en machos fue 70, con un peso promedio de 31.2.

El toro con identificación D032 fue el segundo en mayor número de embriones transferidos con 676 y también con mayor número de crías nacidas con 165, con un 27.4% de partos, pero con 24.4% de eficiencia. De igual manera con un 30.8% de eficiencia; fue el primer toro con mayor número de crías nacidas en cuanto a sexos. En hembras nacidas fueron 75 y en machos nacidos fue de 90.

En cuanto a porcentajes de eficiencia existen varios toros con el 100% y son los siguientes con su respectiva identificación: AFS, J3027, NINJA 96.

Solo existe un toro con la siguiente identificación (BEBETO 062) que tuvo el mayor peso promedio de 38.5, de todas las crías nacidas con diferentes toros.

El toro con identificación NINJA 96 fue el que tuvo el menor peso promedio con 27.0 Kg.

## X. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 10.1. Conclusiones

Se evaluó la base de datos de transferencias, colectas, nacimientos de embriones, número de donadoras utilizadas por año, número de superovulaciones por donadora, número de receptoras trabajadas por año, número de crías nacidas por toro según su peso y sexo, número de embriones que llegaron al parto de acuerdo a su tipo, etc.

Se analizaron los datos y se obtuvieron ciertos parámetros para deducir la eficiencia o la rentabilidad de la aplicación de la técnica de Transferencia de Embriones en condiciones tropicales, (ver tabla 1 hasta tabla 8).

### 10.2. Recomendaciones

Para la aplicación de la técnica de transferencia de embriones se recomienda tener un banco de información, en lo cual se debe tener todos los datos necesarios en una libreta de campo donde exclusivamente se tenga la información de todas las actividades que serán de beneficio para la elaboración del banco de información. Y solamente el encargado del área deberá tener la información y que no ande los datos los trabajadores o los vaqueros, por consecuencia de eso se pierde la información luego se reportan datos incorrectos. Y antes de hacer la aplicación de la T. E se debe tener en cuenta el beneficio que brindara a los productores, o a los ranchos como es el caso de la Agropecuaria Santa Genoveva que tuvieron una inversión económica

mayor sin sacarle la producción esperada o planeada, esto se puede explicar gracias al análisis de la base de datos que fue evaluada, de otra forma se puede decir que la técnica de Transferencia de Embriones en condiciones tropicales no tuvo el éxito esperado.

## XI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Arévalo., A. R. E. 2007. Implementación de un programa de transferencias de embriones - f1 en bovinos en la zona de la costa, centro y frailesca del estado de Chiapas., Universidad Autónoma de Chiapas. Asociación de Criadores de Razas Puras. SPR. Villa Carriedo de RL., Tuxtla Gutiérrez, Chiapas.

Ávila., A. 2007. Transferencia de embriones en ganado bovino., Campo Experimental la "La Posta". Km., 22.5 Carretera. Veracruz-Córdoba., Paso del Toro, Veracruz.

Bavera, G. A. 2005a. Inseminación artificial. Cursos de Producción Bovina de Carne, FAV UNRC.: 1-5.

Bavera, G. A. 2005b. Sincronización de celos. Cursos de producción bovina de carne, FAV UNRC.: 1-3.

Becaluba., F. 2006. Métodos de sincronización de celos en bovinos. p 1-3.

Becaluba., F. 2007. Factores que afectan la superovulación en bovino. Sitio Argentino de Producción Animal.: 1-18.

Becaluba., H. M., y F. Becaluba. 2006. Nuevas tecnologías para el manejo de la detección del celo. Sitio Argentino de Producción Animal.: 1-4.

Celestinos., M., y R. Gatica. 2002. Vitrificación como técnica de crioconservación de embriones bovinos. Arch. Med. Vet. 34.: 157-165.

D. Walenciak Hereford, B. A. 2005. Hechos sobre transferencia embrionaria; ya no hay mas limites. 72.: 48-58.

Ellen Marelló, B., M. C. Borrero, B. C. Zuluaga, y B. M. Jiménez. 1996. Primer taller de criopreservación de embriones. , Bogota-Colombia.

Floretti., C. C. 2006. Inseminación artificial una poderosa herramienta subutilizada. Dirección Genética. Estancias y Cabañas Las Lilas S. A.: 51-55.

Galina., C., y J. Valencia. 2006. Reproducción de animales domésticos. 2a. ED.-- México: Limusa, 2006. ED, México.

Gibbons., A. E., y M. I. Cueto. 1995. Transferencia de embriones en ovinos y caprinos. INTA EEA Bariloche. Centro Regional Patagonia Norte.: 2-32.

Glauber., C. E. 2007. Manejo reproductivo en el rodeo bovino lechero: Propuestas y reflexiones. p 1-5., Buenos Aires, Argentina.

Huanca, W. 2001. Inseminación artificial a tiempo fijo en vacas lecheras. Rev. Inv. Vet. Peru. 12.: 161-163.

kaiser, G. G., J. F. Aller, N. Mucci, y F. Hozbor. 2006. Criopreservación de embriones de bovinos. Área de obstetricia, Fac. Cs. Vet. 7: 1-11.

López., D. 2005. Sincronización de celo, sexado de semen, transferencia de embriones: Por que y para que en un sistema de cría. Aspectos claves. Jornada de Actualización Técnica Ganadera Ganadería con precisión. Región de Centro de AACREA, CREA Calamuchita.: 1-6.

López., J. R. A., M. E. A. Gamboa., y A. M. A. García. 1999. Concentración plasmática de progesterona y producción embrionaria, en vacas superovuladas bajo condiciones tropicales. Vet. Mex. 30: 19-23.

Mapletoft., R. J., y J. F. Hasler. 2005. Assisted reproductive technologies in cattle: A review. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* 24: 393-403.

Marcantonio., S. A. 2007. Inseminación a tiempo fijo. *Sitio Argentino de Producción Animal.* 1.: 8-13.

Monje., J. L. A. 2005. Vitricación de ovocitos bovinos mediante la técnica de open pulled straw: Estudio estructural de cromosomas, microtubulos y microfilamentos y posterior desarrollo embrionario in vitro. Tesis Doctoral., UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BARCELONA FACULTAD DE VETERINARIA., Bellaterra.

Morales, M. D. C. 2005. Factores que determinan la adopción de tecnología en el área de reproducción en el ganado bovino., CEIGEIT. FMVZ-UNAM.

Ordoñez., C. O. H., C. T. Miguel., y N. F. Fernandez. 2007. El propilenglicol mejora los resultados de la transferencia de embriones. 4: 33-37.

Portillo., L. M. À., M. J. I. Madero, MSc., y C. L. Bacter. 2006. Fundamentos de criopreservación. *Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecología.* 57.: 291-300.

Quintela., L. A., J. J. Becerra., y P. G. Herradòn. 1999. Influencia del dia de inicio del tratamiento en los resultados de superovulación en vacas lecheras. *Arch. Zootec.* 48.: 43-50.

Rivera., R. M., y P. J. Hansen. 2007. Preparación de embriones producidos en vitro para transferir a receptoras., Florida.

Robson., R. C. 2006. Ventajas y desventajas de las distintas categorías que pueden conformar un rodeo de inseminación artificial.: 1-4.

Rodríguez., B. C., y R. C. Fernández. 2001. La transferencia de embriones. Una técnica de mejoramiento animal en ganado de lidia. Cir. Ciruj. 69.: 129-134.

Silva., M. E., y M. E. Berland. 2004. Vitrificación de blastocitos bovinos producidos in vitro con el método open pulled straw (ops): Primer reporte. . Arch. Med. Vet. 36.: 79-85.

Trujillo., H. N., y H. F. Fonseca. 2005. Aspiración folicular transvaginal. Manual de ganadería de doble propósito.: 612-614.

Urrego., R. A., A. Pareja., y N. A. Vásquez. 2005. El ensayo cometa: Una técnica para evaluar genotoxicidad en el ADN de oocitos bovinos. Rev. Col. Cienc Pec. 18.: 222-227.

Varisanga., M. D. 1993. Transferencia de embriones en el ganado bovino. Algunos factores que influyen en la respuesta superovulatoria de la donante y la gestación en receptoras. Trabajo de Tesis para la opción de Maestría en Reproducción Animal., INSTITUTO SUPERIORES DE CIENCIAS AGROPECUARIAS DE LA HABANA. "FRUCTOSO RODRIGUEZ PEREZ". La Habana, Cuba.