

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



Tasa de éxito de transferencia embrionaria ICSI en yeguas con protocolo hormonal frente a yeguas en ciclo natural en Cundinamarca, Colombia

Por:

Violeta Maricela Pérez Guerrero

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Torreón, Coahuila, México
Febrero 2026

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MÉDICO VETERINARIAS

Tasa de éxito de transferencia embrionaria ICSI en yeguas con protocolo hormonal frente a yeguas en ciclo natural en Cundinamarca, Colombia

Por:

Violeta Maricela Pérez Guerrero

TESIS

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

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Aprobada por:



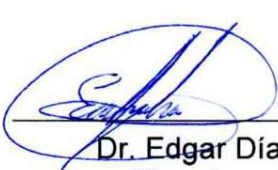
Dr. Oscar Angel García
Presidente



Dr. Fernando Arellano Rodríguez
Vocal



Dra. Leticia Romana Gaytán Alemán
Vocal



Dr. Edgar Díaz Rojas
Vocal suplente



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



Torreón, Coahuila, México
Febrero 2026

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MÉDICO VETERINARIAS

Tasa de éxito de transferencia embrionaria ICSI en yeguas con protocolo hormonal frente a yeguas en ciclo natural en Cundinamarca, Colombia

Por:

Violeta Maricela Pérez Guerrero

TESIS

Presentado como requisito parcial para obtener el título de:

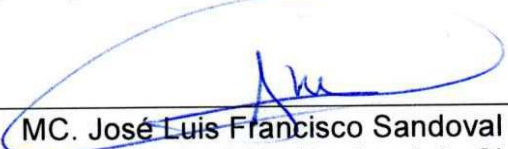
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Aprobada por el Comité de Asesoría:


Dr. Oscar Angel García
Asesor Principal


Dr. Fernando Arellano Rodríguez
Coasesor


Dra. Leticia Romana Gaytán Alemán
Coasesor


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

Torreón, Coahuila, México
Febrero 2026



AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Oscar Ángel García: por ser un médico ejemplar y siempre demostrarme que con dedicación y esfuerzo se pueden alcanzar las metas, toda la ayuda brindada a lo largo de mis estudios universitarios y conocimientos compartidos dentro y fuera del aula, la amistad brindada, nada hubiera sido posible sin su ayuda.

Al Dr. Edgar Díaz Rojas: por el apoyo brindado para este trabajo de tesis, los conocimientos y consejos compartidos en esta etapa.

A mis profesores: quienes con su vocación de médicos compartieron sus conocimientos y me proporcionaron las herramientas necesarias para lograr superarme y formarme como médico.

A mis compañeros: todos aquellos que me ayudaron en el proceso de titulación, juntando firmas, llevando papeles y pagos, sin su apoyo este logro no habría sido posible.

A la UAAAN: aquella universidad que me vio desarrollarme como profesionista y como persona, me abrió las puertas para tener la mejor etapa de mi vida, brindándome amistades, experiencias y conocimientos, te llevaré siempre en mi alma.

DEDICATORIAS

A mis padres: Maricela Guerrero Barrón y Antonio Pérez Guzmán, por siempre creer en mis capacidades y brindarme su apoyo incondicional en cada etapa de mi vida. Han sido un pilar fundamental en mi formación académica, no existen palabras suficientes para expresar lo eternamente agradecida que estoy por siempre ser un ejemplo a seguir, cada logro obtenido ustedes son los responsables, los amo.

A mi hermano: Marco Antonio Pérez Guerrero, por ser mi compañero de vida y cuidar siempre de mí, con el que compartimos cada sueño y proyectos juntos.

A mis primos: Ana Paola T., Paul Issac T., Manuel Domínguez, por acompañarme en momentos difíciles de mi etapa foránea, por nunca dejarme sola y darme el apoyo incondicional para salir adelante.

A mi familia: en especial a la familia Guerrero, quienes tuvieron un papel importante en mis estudios universitarios, siempre darme ánimos y apoyo incondicional, acompañarme en cada locura y sin importar qué tan lejos me fuera, siempre fueron a buscarme.

A mis amigos: aquellas amistades que me dio la Narro y que hicieron muy feliz mi vida universitaria, que siempre supieron sacar lo mejor de mí, compartiendo experiencias en lugares que jamás imaginé conocer.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS.....	i
DEDICATORIAS.....	ii
ÍNDICE	iii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	v
ÍNDICE DE CUADROS.....	vi
RESUMEN.....	vii
I.-INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Hipótesis.....	2
1.2 Objetivo	2
II.-REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1 Anatomía reproductiva.....	3
2.1.1 Ovarios.....	3
2.1.2 Oviducto.	3
2.1.3 Útero.	3
2.1.4 Cérvix.....	3
2.1.5 Vagina.	4
2.1.6 Vulva.	4
2.2 Fisiología reproductiva.....	4
2.3 Transferencia de embriones	5
2.3.1 Yegua donadora.....	6
2.3.2 Yegua receptora.....	6
2.3.3 Protocolos hormonales de sincronización	6
2.3.4 Manejo post-transferencia	7
2.4 Inyección intracitoplasmática (ICSI)	7
2.4.1 Aspiración folicular (OPU)	8
2.4.2 Obtención y maduración de ovocitos	8
2.4.3 Microinyección espermática	9
2.4.4 Cultivo y evaluación embrionaria.....	9
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	11

3.1 Ubicación del estudio.....	11
3.2 Diseño experimental	11
3.3 Protocolo hormonal	12
3.4 Seguimiento del ciclo natural	13
3.5 Aspiración folicular OPU e ICSI	14
3.6 Transferencia embrionaria	16
3.7 Criterios de éxito.....	16
3.8 Análisis estadístico	18
IV RESULTADOS	19
V DISCUSIÓN	21
VI CONCLUSIÓN	23
VII LITERATURA CITADA	24

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Ubicación satelital de la central (Fuente: Google maps).....	11
Figura 2 Grupos experimentales (Fuente: elaboración propia).....	12
Figura 3 Ilustración gráfica de sincronización en yeguas receptoras (Fuente: Dr. Daniel Guzmán, BioHorse SAS, 2025).	13
Figura 4 Seguimiento ecográfico transrectal (Fuente: elaboración propia).	14
Figura 5 Materiales utilizados para la técnica OPU (Fuente: elaboración propia).	15
Figura 6 Materiales para la búsqueda de ovocitos (Fuente: elaboración propia).	15
Figura 7 Ovocitos colectados por la técnica OPU (Fuente: elaboración propia).	16
Figura 8 Vesícula embrionaria 8 días post transferencia embrionaria (Fuente: elaboración propia).	17
Figura 9 Embrión implantado 16 días post transferencia embrionaria (Fuente: elaboración propia).	17
Figura 10 Porcentaje de tasa de preñez en grupo A de ciclo natural	19
Figura 11 Porcentajes de tasa de preñez en grupo B de protocolo hormonal ..	20

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1 Números totales y porcentajes de yeguas que a los 8 días de transferidas se realizo Eco1, para confirmación de preñez o vacías.	19
--	----

RESUMEN

El presente estudio evalúa la tasa de éxito de una de las biotecnologías reproductivas más utilizadas en la última década en equinos: la transferencia embrionaria mediante inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI). El experimento se llevó a cabo en la región de Tabio, Cundinamarca, Colombia, donde se analizaron dos grupos experimentales conformados por 60 yeguas receptoras cada uno, sometidas en el programa de transferencia embrionaria ICSI.

El grupo A, integrado por yeguas receptoras en ciclo estral natural, comparado con el grupo B, formado por yeguas sincronizadas mediante protocolo hormonal exógeno. La tasa de éxito se determinó mediante confirmación de preñez por ultrasonografía, evaluada a los 15 días postransferencia, los cuales fueron analizados por la prueba estadística de Chi- cuadrado.

Los resultados obtenidos muestran que, aunque el grupo A presentó una tasa de preñez ligeramente superior de 43 yeguas preñadas (71.7 %), en comparación con el grupo B, que registró 40 preñeces (66.7 %), no se observó diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos ($P>0,05$). Estos hallazgos indican que, bajo las condiciones del estudio, ambos métodos de sincronización de yeguas receptoras en programas de transferencia embrionaria ICSI, ofrecen la misma eficacia reproductiva.

Palabras clave: Transferencia embrionaria, ICSI, Protocolos hormonales, Receptoras, Donadoras

I.-INTRODUCCIÓN

La reproducción equina ha adquirido una creciente relevancia en la investigación científica durante los últimos años, debido a su impacto en la mejora de la eficiencia reproductiva, la preservación del material genético de líneas valiosas y la optimización de los programas de cría. En este contexto, las biotecnologías reproductivas han permitido el desarrollo y perfeccionamiento de técnicas como la inseminación artificial, la transferencia de embriones y, más recientemente, la producción in vitro de embriones mediante la inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI). La técnica ICSI ha representado un avance significativo en la reproducción asistida en equinos, ya que permite superar diversas limitaciones asociadas a la fertilización convencional, especialmente en casos de baja calidad seminal o fallas reproductivas previas (Rader, 2016; Oliveira et al., 2024). Gracias a esta biotecnología, es posible obtener embriones viables a partir de un número reducido de ovocitos y espermatozoides, lo que incrementa el aprovechamiento genético tanto de yeguas donadoras como de sementales de alto valor.

La transferencia embrionaria se ha consolidado como una herramienta clave para maximizar el potencial reproductivo de yeguas donadoras, permitiendo la obtención de múltiples crías en un mismo año y optimizando el uso de recursos genéticos. Aún así, el éxito de esta técnica depende de diversos factores, entre los que destacan la calidad embrionaria, la sincronía entre la yegua donadora y la receptora, el estado fisiológico del útero y el protocolo reproductivo empleado (McKinnon & Voss, 2011; Ramos Torres, 2011). En el caso de los embriones producidos mediante ICSI, la receptividad endometrial de la yegua receptora y la adecuada sincronización con el desarrollo embrionario son determinantes para lograr tasas satisfactorias de gestación (Stout et al., 2020; Claes et al., 2022). Por ello, la selección y manejo de las yeguas receptoras constituye un elemento fundamental dentro de los programas de transferencia embrionaria.

El uso de protocolos hormonales en yeguas receptoras tiene como objetivo controlar el ciclo estral y garantizar la disponibilidad de animales aptos para recibir embriones en el momento fisiológicamente más adecuado. Estos protocolos incluyen comúnmente la administración de hormonas como estrógenos, progestágenos y prostaglandinas, con la finalidad de regular la dinámica folicular y la ovulación (Muñoz-García et al., 2024). Sin embargo, las yeguas que se mantienen en ciclo natural pueden presentar condiciones fisiológicas favorables para la implantación embrionaria, lo que ha generado interés en comparar ambos esquemas reproductivos (Ramos Torres, 2011). En este sentido, la comparación entre yeguas receptoras en ciclo natural y aquellas sincronizadas mediante protocolos hormonales resulta de importancia para determinar si la intervención endocrina influye en la tasa de éxito de la transferencia embrionaria mediante ICSI, contribuyendo así a la optimización de los programas de reproducción asistida en equinos.

1.1 Hipótesis

El uso de yeguas receptoras de ciclo natural dará mejor tasa de éxito en la transferencia embrionaria ICSI a las inducidas hormonalmente.

1.2 Objetivo

Comparar la tasa de éxito en la transferencia embrionaria ICSI en yeguas de ciclos naturales a las inducidas hormonalmente.

II.-REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Anatomía reproductiva

El aparato reproductor de la yegua está conformado por una serie de órganos especializados cuya función principal es la producción de gametos, la fecundación, la gestación y el parto.

2.1.1 Ovarios

Los ovarios de las yeguas son órganos pares con forma arriñonada, localizada en la región sublumbar, caudalmente a los riñones. Su función principal es la producción de ovocitos y la secreción de hormonas sexuales, principalmente estrógenos y progesterona, las cuales regulan el ciclo estral (Frandsen et al., 2018).

2.1.2 Oviducto.

Son conductos delgados que conectan los ovarios con los cuernos uterinos y permiten el transporte del ovocito y del embrión temprano. Se divide anatómicamente en infundíbulo, ampolla e istmo (Frandsen et al., 2018).

2.1.3 Útero.

El útero de la yegua es de tipo bicornu, con un cuerpo corto y dos cuernos largos y curvos. Desempeña su papel esencial en la implantación y mantenimiento de la gestación, ya que su endometrio contiene glándulas uterinas responsables de la secreción de nutrientes necesarios para el embrión. Anatómicamente, está constituido por las capas de endometrio y miometrio. (Hafez y Hafez, 2013; Senger, 2018).

2.1.4 Cérvix.

Es una estructura muscular y fibrosa que separa el útero de la vagina. En la yegua se caracteriza por ser relativamente corto y presentar pliegues longitudinales que permiten su dilatación durante el estro, facilitando el paso del semen. Durante el diestro, permanece cerrado, actuando como una barrera protectora del útero (Hafez y Hafez, 2013).

2.1.5 Vagina.

Se trata de un conducto músculo-membranoso que se extiende desde el cérvix hasta la vulva. Donde cumple funciones esenciales durante la copulación y como vía de salida en el parto, además de proporcionar un ambiente adecuado para la supervivencia y el transporte de los espermatozoides (Frandsen et al., 2018).

2.1.6 Vulva.

Constituye la porción externa del aparato reproductor femenino y está formada por los labios vulvares, el clítoris y el vestíbulo. Una conformación anatómica adecuada es fundamental para prevenir infecciones ascendentes y mantener una óptima salud reproductiva en la yegua (Hafez y Hafez, 2013).

2.2 Fisiología reproductiva

La yegua es una especie poliéstrica estacional de días largos, cuya actividad reproductiva se ve influenciada principalmente por el incremento en las horas luz durante la primavera y el verano (Hughes et al., 1975; Galina et al., 2021).

El ciclo estral es definido como el intervalo entre dos ovulaciones consecutivas y se caracteriza por la presencia de un periodo de estro y concentraciones plasmáticas de progesterona inferiores a 1 ng/ml. En promedio, el ciclo tiene una duración aproximada de 21 días, de los cuales entre 5 y 7 corresponden a la fase folicular (estro), y entre 14 y 15 días a la fase lútea (diestro) (Hafez & Hafez, 2013; Senger, 2018).

El hipotálamo desempeña un papel en la regulación de la función reproductiva, ya que secreta la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), la cual es liberada de manera pulsátil hacia el sistema porta hipotalámico-hipofisiario. Esta hormona estimula la liberación de gonadotropinas hipofisiarias, hormona foliculoestimulante (FSH) y hormona luteinizantes (LH), responsable del crecimiento folicular, la producción de estrógenos, la ovulación y la posterior luteinización del folículo ovárico (Andrade et al., 2011).

Durante la fase folicular, el crecimiento de los folículos ováricos ocurre principalmente bajo la acción de la FSH. El folículo dominante produce estradiol-17 β , hormona encargada de inducir el comportamiento de receptividad sexual en la yegua, así como cambios fisiológicos característicos, entre ellos la relajación del cérvix y la presencia de edema endometrial observable por ultrasonografía (Hafez y Hafez, 2013).

Posterior a la ovulación, se inicia la fase lútea, en la cual el folículo colapsado se transforma en cuerpo lúteo. Esta estructura es responsable de la secreción de progesterona, hormona que inhibe la liberación de LH, evitando el desarrollo de nuevos folículos y mantiene el útero en un estado adecuado para la posible gestación. En ausencia de fecundación el endometrio uterino libera prostaglandina F2 α (PGF2 α), alrededor del día 14 del ciclo, lo que provoca luteólisis y el reinicio de la actividad folicular (Frandsen et al., 2018; Senger, 2018).

2.3 Transferencia de embriones

La transferencia de embriones (TE) en equinos es una biotecnología reproductiva que permite aumentar el número de crías producidas por una misma yegua en una temporada reproductiva, sin interferir con su actividad deportiva o productiva. En la actualidad, esta técnica se ha integrado con procedimientos avanzados como la inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI) y la clonación equina, contribuyendo a la conservación y mejora de líneas genéticas de alto valor (Hartman, 2011).

Los primeros reportes exitosos de transferencia embrionaria en yeguas se realizaron de manera independiente en Japón y Cambridge en el año 1974, marcando el inicio de su aplicación en la reproducción equina moderna. Desde entonces, su uso se ha extendido principalmente en animales con alto valor genético, deportivo o comercial (Giner Torres, 2012).

Al igual que otros procesos reproductivos en la especie equina, la eficiencia de la transferencia embrionaria se encuentra influenciada por diversos factores,

entre los que destacan la estacionalidad reproductiva, las condiciones climáticas, el manejo nutricional, la calidad seminal del semental, la condición corporal, el estado sanitario y reproductivo de las yeguas receptoras, así como la correcta ejecución de la técnica (Giner Torres, 2012).

2.3.1 Yegua donadora

El manejo de la yegua donadora tiene como objetivo principal la obtención de embriones viables y libre de contaminación. Para ello, resulta indispensable que la donadora presente un adecuado estado de salud uterina, ya que alteraciones como la endometritis pueden comprometer la viabilidad embrionaria. Se recomienda realizar un seguimiento ecográfico constante para identificar con precisión el momento de la fase de reclutamiento para introducirla al programa de aspiración folicular (Hartman, 2011).

2.3.2 Yegua receptora

La selección de yeguas receptoras es un factor determinante para el éxito del programa de transferencia embrionaria. Generalmente, se recomienda que la ovulación de la receptora ocurra entre 4 y 8 días después de la de la donadora, lo que permite asegurar una adecuada receptividad endometrial y concentraciones óptimas de progesterona para la implantación embrionaria (Hartman, 2011).

2.3.3 Protocolos hormonales de sincronización

La eficiencia de la transferencia embrionaria depende en gran medida de la correcta sincronización entre la donadora y la receptora. En este contexto, el uso de protocolos hormonales se ha consolidado como una herramienta para controlar el ciclo estral y aumentar la disponibilidad de yeguas receptoras aptas, especialmente en programas con alta demanda reproductiva. Sin embargo, el impacto de estos protocolos sobre la tasa de preñez en comparación con yeguas en ciclo natural continúa siendo objeto de estudio y debate (McKinnon & Voss, 2011; Muñoz-García et Al., 2024).

El conocimiento de los intervalos interovulatorios permite establecer condiciones favorables para mejorar la fertilidad en las yeguas, optimizando el momento de la transferencia embrionaria y el uso adecuado de hormonas exógenas cuando es necesario (Cortés et. Al., 2018).

Entre las hormonas utilizadas, los estrógenos, como el estradiol-17 β o el benzoato de estradiol, se administran con el propósito de estimular la proliferación del endometrio y favorecer la expresión de receptores uterinos de progesterona, incrementando así la receptividad endometrial de las yeguas receptoras (Aurich, 2011). Posteriormente, la administración de progesterona permite simular la fase lútea del ciclo estral, manteniendo un ambiente uterino adecuado para la implantación embrionaria. (Ginther, 2012; McCue, 2014).

En la práctica clínica, se emplean formulaciones como el acetato de altrenogest o la progesterona natural para mantener niveles hormonales estables en sangre, facilitando una sincronización más precisa entre la donadora y la receptora (Samper et al., 2019).

2.3.4 Manejo post-transferencia

El manejo de las yeguas receptoras posterior a la transferencia embrionaria es fundamental para el establecimiento y mantenimiento de la gestación temprana. Se recomienda realizar ecográficas seriadas entre los días 8, 11, y 23 días postovulación, con el fin de confirmar la presencia de un cuerpo lúteo funcional y el desarrollo embrionario (Handler et al., 2006).

En situaciones donde se detecta una deficiencia lútea, puede ser necesario el uso de progesterona o altrenogest como soporte hormonal, con el objetivo de prevenir la luteólisis temprana y favorecer la implantación del embrión (Foss & Crane, 2004).

2.4 Inyección intracitoplasmática (ICSI)

La inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSO) se ha consolidado como una de las técnicas más eficientes para la producción in vitro de embriones en la especie equina. Su principal ventaja radica en que permite la fecundación

mediante la introducción directa de un solo espermatozoide dentro del citoplasma del ovocito maduro, evitando las barreras naturales de la zona pelúcida y la membrana oolema, lo que resulta especialmente útil en casos de infertilidad o baja calidad seminal (Rader et al., 2016).

En comparación con la fertilización convencional, la ICSI ha demostrado mayores tasas de fecundación y desarrollo embrionario en equinos, lo que ha favorecido su aplicación en programas reproductivos avanzados y en la preservación de material genético de alto valor (Hinrichs, 2020).

2.4.1 Aspiración folicular (OPU)

La aspiración folicular ovárica como Ovum Pick-Up (OPU), es el procedimiento mediante el cual se recuperan ovocitos directamente de los folículos ováricos de yeguas donadoras para su posterior utilización en la técnica ICSI. Este procedimiento se realiza de manera transvaginal y ecoguiada, permitiendo la aspiración de folículos ováricos de diferentes tamaños, tanto en yeguas de ciclo natural como en aquellas sometidas a estimulación hormonal (Rader et al., 2016).

La OPU se lleva a cabo bajo condiciones de sedación y estricta asepsia, utilizando una aguja de aspiración conectada a un sistema de vacío y una sonda ecográfica especializada. El número de ovocitos recuperados puede variar dependiendo del estado folicular, la edad y la respuesta individual de cada yegua, reportándose generalmente entre 5 y 15 ovocitos por sesión (Hinrichs, 2018). Esta técnica representa una alternativa segura para la obtención de gametos sin afectar el desempeño deportivo de las donadoras (Foss, 2021).

2.4.2 Obtención y maduración de ovocitos

Una vez recuperados, los ovocitos son sometidos a un proceso de maduración *in vitro*, el cual consiste en su cultivo bajo condiciones controladas de temperatura, atmósfera y medios específicos. La maduración se considera adecuada cuando el ovocito alcanza la metafase II, lo cual se confirma mediante la observación del primer cuerpo polar, indicando que se encuentra en el estadio óptimo para la microinyección espermática (Rader et al., 2016),

Diversos estudios han reportado que entre el 60 % y el 90 % de los ovocitos equinos pueden completar satisfactoriamente la maduración *in vitro*, dependiendo de factores como la calidad del folículo, el tiempo de cultivo y las condiciones del medio utilizado. Este proceso es determinante para asegurar la competencia del ovocito durante la fecundación y desarrollo embrionario temprano (Hinrichs, 2018)

2.4.3 Microinyección espermática

La microinyección espermática constituye la etapa central de la técnica ICSI. Este procedimiento se realiza utilizando un microscopio invertido equipado con micromanipuladores. Los cuales permiten la sujeción del ovocito y la introducción precisa de un único espermatozoide en su citoplasma mediante una micropipeta. La correcta ejecución de esta técnica es fundamental para evitar daños en la estructura del ovocito y garantizar la viabilidad embrionaria (Rader et al., 2016).

En muchos laboratorios se emplean sistemas piezoeléctricos que facilitan la penetración controlada de la membrana ovocitaria. Posterior a la microinyección, los ovocitos son incubados para permitir la activación ovocitaria, la descondensación del espermatozoide y la formación de los pronúcleos. Se han reportado tasas de clivaje cercanas al 70 % con un desarrollo hasta blastocisto que oscila entre el 25 % y el 40 %, dependiendo de la calidad gamética y las condiciones del cultivo (Foss, 2021).

2.4.4 Cultivo y evaluación embrionaria

Después de la fecundación, los embriones producidos mediante ICSI son cultivados en medios especializados, bajo condiciones controladas de temperatura y atmósfera, comúnmente con concentraciones reducidas de oxígeno, con el objetivo de simular el ambiente fisiológico del oviducto equino (Hinrichs & Choi, 2019).

El desarrollo embrionario es evaluado entre los días 2 y 8 posteriores a la microinyección, considerando criterios como la morfología, la tasa de división

celular y la formación de la masa celular interna. Los embriones que alcanzan el estadio de blastocisto entre los días 6 y 8 son considerados aptos para la transferencia a yeguas receptoras sincronizadas o para su conservación mediante vitrificación (Rader et al., 2016).

Es importante señalar que los embriones producidos por ICSI pueden presentar algunas diferencias estructurales en comparación con aquellos desarrollados in vivo, como la ausencia inicial de la cápsula embrionaria, lo cual podría influir en los procesos de implantación temprana (Foss, 2021).

La calidad de los embriones equinos obtenidos mediante inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI) fue evaluada con base en la clasificación morfológica descrita por McCue, la cual ha sido posteriormente adoptada y estandarizada por la International Embryo Technology Society (IETS). Dicho sistema clasifica los embriones en cuatro categorías (grado 1 a grado 4) de acuerdo con criterios morfológicos que incluyen la integridad estructural, la uniformidad de las blastómeras, el grado de fragmentación celular y la presencia de cambios degenerativos (McCue et al., 1999). Los embriones clasificados como grado 1 y 2 se consideran de calidad adecuada para su transferencia, mientras que aquellos catalogados como grado 3 presentan una viabilidad reducida, y los grado 4 muestran degeneración severa, por lo que no son recomendados para su uso reproductivo (Stringfellow & Seidel, 1998).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Ubicación del estudio

El estudio se llevó a cabo durante el periodo comprendido entre los meses julio y septiembre del 2025, en la central "El sueño" del Centro de Reproducción Equina "BioHorse SAS", ubicada en Tenjo, departamento de Cundinamarca, Colombia. La zona se localiza a una altitud aproximada de 2,600m s.n.m., con coordenadas geográficas 4°51'22.6"N y 74°09'47.0" O.

Tenjo posee un clima templado y húmedo, con precipitaciones distribuidas a lo largo del año y una temperatura media anual cercana a los 13.3 °C. De acuerdo con la clasificación de Köppen-Geiger, el clima de la región corresponde al tipo clima oceánico templado (CFB), lo que proporciona condiciones ambientales favorables para el manejo reproductivo de equinos.

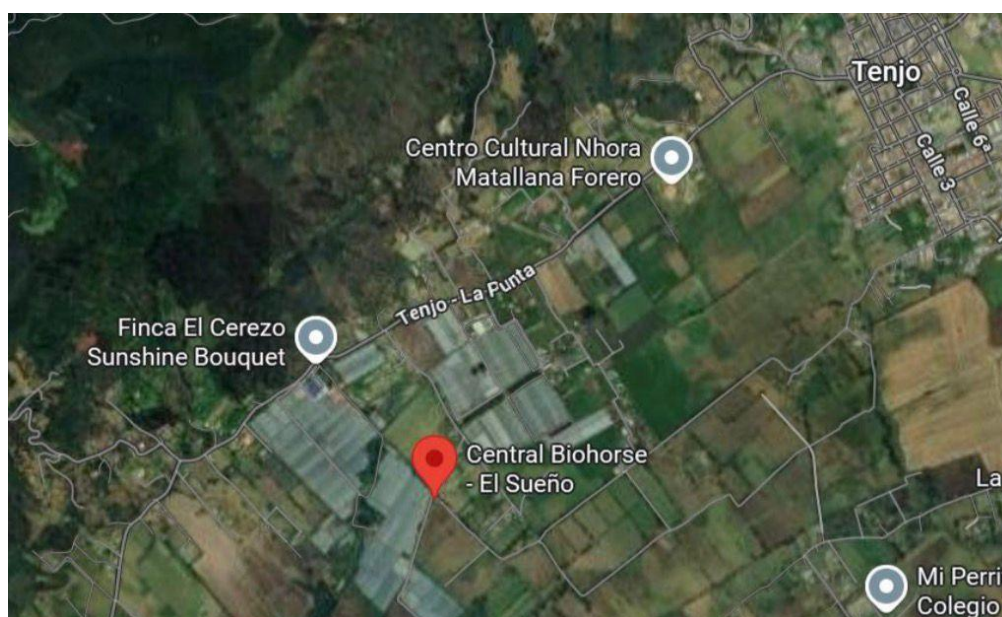


Figura 1 Ubicación satelital de la central (Fuente: Google maps).

3.2 Diseño experimental

Para el desarrollo se utilizaron 136 yeguas receptoras de distintas razas, entre ellas gypsy, percherón y, en su mayoría, criollo colombiano. Los animales presentaban edades comprendidas entre 4 y 9 años, una alzada promedio a la

cruz de 140 cm, buen estado general de salud y una condición corporal promedio de 5, evaluada con base en la escala de Henneke et al. 1(983) que va del 1 al 9.

Las yeguas fueron alimentadas con una dieta consistente en 1 kg/día de concentrado comercial formulado por BioHorse SAS, complementada con pasto rye grass a libre acceso y agua a libitum.

Los animales fueron asignados aleatoriamente en dos grupos experimentales. El grupo "A" estuvo conformado por 60 yeguas receptoras manejadas ciclo estral natural, mientras que el grupo "B" incluyó 60 yeguas receptoras sincronizadas mediante protocolo hormonal exógeno.



Figura 2 Grupos experimentales (Fuente: elaboración propia).

3.3 Protocolo hormonal

El protocolo hormonal tuvo como objetivo lograr la sincronización de la ovulación y la fase lútea de las yeguas receptoras, con la finalidad de preparar el ambiente uterino para la transferencia embrionaria mediante ICSI. El esquema utilizado fue el protocolo establecido por la empresa BioHorse SAS.

Inicialmente, se administró benzoato de estradiol en una dosis de 2ml por vía intramuscular. Transcurridas las 48 horas, se repitió la administración de

estrógenos, ajustando la dosis según el grado de edema uterino observado por ultrasonografía; en yeguas con edema uterino grado 3 se aplicó 1mL, mientras que en aquellas con edema menor a grado 2 se utilizaron 2mL.

A las 48 horas después, se administró una dosis de 1,500 UI de progesterona, considerándose este momento como el día 0 del protocolo, correspondiente a la ovulación. Las yeguas con tres días posteriores a la ovulación fueron clasificadas como TE+5, mientras que aquellas con cuatro días de ovulación fueron clasificadas como TE+4, considerándose ambas condiciones adecuadas para la transferencia embrionaria ICSI, por presentar un cuerpo lúteo funcional y un ambiente uterino óptimo. En la figura 1 se ilustra de manera esquemática el manejo del protocolo hormonal.

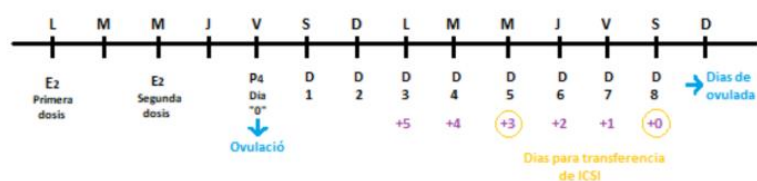


Figura 3 Ilustración gráfica de sincronización en yeguas receptoras (Fuente: Dr. Daniel Guzmán, BioHorse SAS, 2025).

3.4 Seguimiento del ciclo natural

En las yeguas receptoras manejadas en ciclo natural se realizó un seguimiento reproductivo con el objetivo de identificar con precisión la fase del ciclo estral en la que se encontraban. Este procedimiento permitió determinar el momento de la ovulación y establecer el día óptimo para la transferencia embrionaria, respetando el ritmo endocrino propio de cada animal.

El monitoreo se efectuó mediante evaluaciones ecográficas transrectales seriadas, utilizando una sonda adecuada, además de la valoración clínica del comportamiento estral y las características uterinas, lo que permitió llevar un registro detallado del desarrollo folicular y del estado reproductivo de las yeguas.



Figura 4 Seguimiento ecográfico transrectal (Fuente: elaboración propia).

3.5 Aspiración folicular OPU e ICSI

La aspiración folicular (OPU) se utilizó como técnica para la recuperación de ovocitos desde los folículos ováricos de yeguas donantes con el fin de producir embriones mediante la técnica ICSI. El procedimiento se realizó en las instalaciones de BioHorse SAS, en colaboración con el laboratorio EUREKA ICSI LAB; utilizando yeguas previamente evaluadas por ultrasonografía.

Previo a la aspiración, se realizó la limpieza exhaustiva de la región perineal con agua, jabón y solución estéril, seguida de un secado adecuado. La sedación se efectuó conforme al protocolo establecido por la empresa, empleando xilacina (3–4 mL), acepromacina (1 mL) y butorfanol (0.7 mL), con la adición opcional de detomidina (0.3 mL) según el temperamento del animal. Como parte del manejo médico, se administraron hioscina (2 mL), flunixin de meglumina (10 mL) y ceftiofur (15 mL) como antibiótico profiláctico.

El procedimiento se realizó utilizando un ecógrafo con sonda transvaginal convexa adaptada a una guía de aspiración, agujas de calibre 17–18 G, un sistema de vacío regulado entre –80 y –120 mmHg, frascos colectores estériles, tubos de conexión de silicona, medio de aspiración TCM-199 suplementado con heparina, así como material estéril para la manipulación, de acuerdo con lo descrito por Carnevale (2019) y Alvarenga et al. (2020).



Figura 5 Materiales utilizados para la técnica OPU (Fuente: elaboración propia). Posterior a la aspiración, los ovocitos recolectados son trasladados al laboratorio, donde se procede a la búsqueda de CCCOs utilizando un estereomicroscopio, placas petri, tubos falcon, baño maría, platina térmica, micro puntillas estéril y micropipetas, tal como se muestra en la figura 4.



Figura 6 Materiales para la búsqueda de ovocitos (Fuente: elaboración propia).

Los ovocitos de mejor calidad fueron lavados tres veces en medio TCM-199 y almacenados temporalmente en incubadora durante 24 a 26 horas para su maduración a una temperatura de 38,5 °C y 5 % de CO₂, para posteriormente realizar la inyección dentro del laboratorio bajo los protocolos de EUREKA ICSI LAB, donde permanece 5 días hasta el clivaje, para su posterior vitrificación al día 7 u 8, ya preparado para la transferencia embrionaria.



Figura 7 Ovocitos colectados por la técnica OPU (Fuente: elaboración propia).

3.6 Transferencia embrionaria

Previo a la transferencia embrionaria, se verificó que las yeguas receptoras contaran con un ambiente uterino adecuado para la recepción del embrión. Cada animal fue colocado en un brete y se realizó la limpieza y desinfección de la región perineal mediante lavado con agua, jabón y solución yodada, seguida de un secado cuidadoso. La cola fue vendada para evitar contaminación durante el procedimiento.

La transferencia embrionaria se realizó siguiendo el método descrito por Fernández (2019), utilizando una pistola de inseminación de acero inoxidable reutilizable, cubierta con una camisa sanitaria plástica estéril. El operador empleó guante estéril y gel lubricante estéril para la manipulación del equipo.

El instrumento de transferencia fue introducido a través de la vulva y guiado cuidadosamente hasta el orificio cervical externo, avanzando posteriormente hacia el cuerpo uterino. El embrión fue depositado en el cuerpo del útero o en uno de los cuernos uterinos, según el caso, utilizando palpación transrectal para guiar con precisión la colocación del embrión y minimizar el riesgo de daño uterino.

3.7 Criterios de éxito

El éxito de la transferencia embrionaria puede evaluarse a partir del establecimiento de la gestación o la obtención de crías viables (Balerdi, 2012).

En el presente estudio, el criterio de éxito se determinó mediante la confirmación temprana de la gestación por ultrasonografía.

Se realizó una primera evaluación ecográfica (ECO 1+) a los 8 días posteriores a la transferencia embrionaria, con el objetivo de identificar la presencia de la vesícula embrionaria. Posteriormente, se efectuó una segunda evaluación (ECO 2+) a los 15 días post transferencia, en la cual se confirmó la implantación embrionaria y la viabilidad de la gestación.

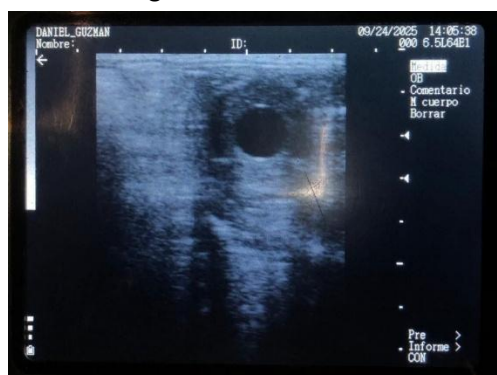


Figura 8 Vesícula embrionaria 8 días post transferencia embrionaria (Fuente: elaboración propia).

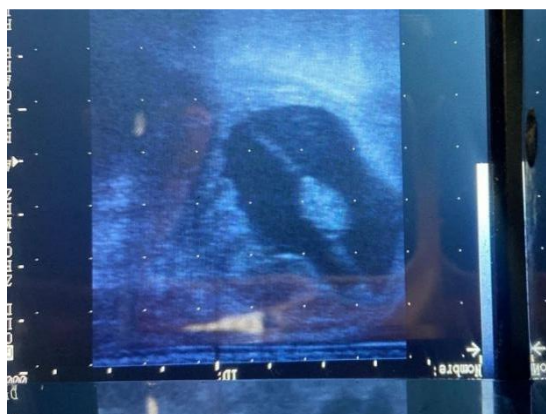


Figura 9 Embrión implantado 16 días post transferencia embrionaria (Fuente: elaboración propia).

3.8 Análisis estadístico

Para evaluar la existencia de diferencias en la tasa de preñez entre los grupos experimentales, se utilizó la prueba de Chi-cuadrado de independencia (χ^2). El nivel de significancia estadística establecido fue de $p < 0.05$, considerándose diferencias estadísticamente significativas cuando el valor de probabilidad fue inferior a dicho umbral

IV RESULTADOS

Los resultados obtenidos en el presente estudio se muestran en el Cuadro 1, correspondiente a la confirmación de preñez en yeguas receptoras evaluadas mediante ultrasonografía posterior a la transferencia embrionaria ICSI. El análisis de los datos indicó que no existieron diferencias estadísticamente significativas en la tasa de preñez entre las yeguas receptoras manejadas en ciclo natural y aquellas sometidas a un protocolo hormonal exógeno.

Grupo	Preñadas, n (%)	Vacías, n (%)	Total
A Ciclo natural	43 (71.7%)	17 (28.3%)	60
B Protocolo hormonal	40 (66.7%)	20 (33.3%)	60
Total	83 (69.2%)	37 (30.8%)	120

Cuadro 1 Números totales y porcentajes de yeguas que a los 8 días de transferidas se realizó Eco1, para confirmación de preñez o vacías.

En el grupo A, conformado por yeguas en ciclo natural, se registraron 43 yeguas preñadas (71.7 %) y 17 vacías (28.3 %). Por su parte, en el grupo B, correspondiente a yeguas sincronizadas mediante protocolo hormonal, se observaron 40 preñeces (66.7 %) y 20 yeguas vacías (33.3 %). En ambos grupos, los valores obtenidos se mantuvieron dentro de rangos similares, sin evidencia de una variación significativa atribuible al tipo de manejo reproductivo

Los porcentajes de preñez obtenidos para cada grupo se ilustran en las Figuras 8 y 9, donde se aprecia visualmente la distribución de yeguas preñadas y vacías en ambos tratamientos.

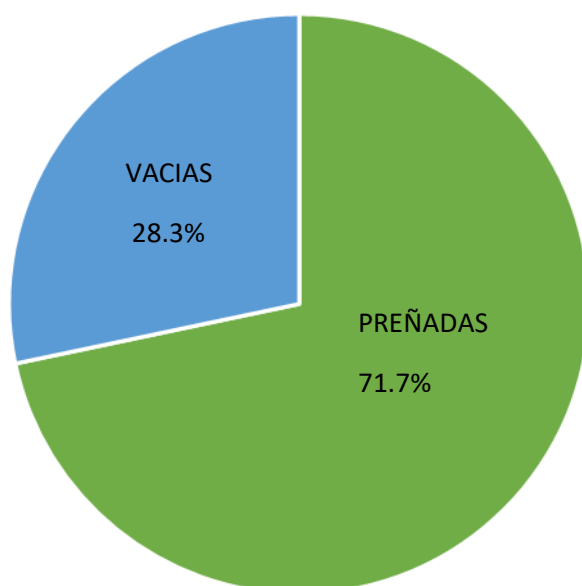


Figura 10 Porcentaje de tasa de preñez en grupo A de ciclo natural

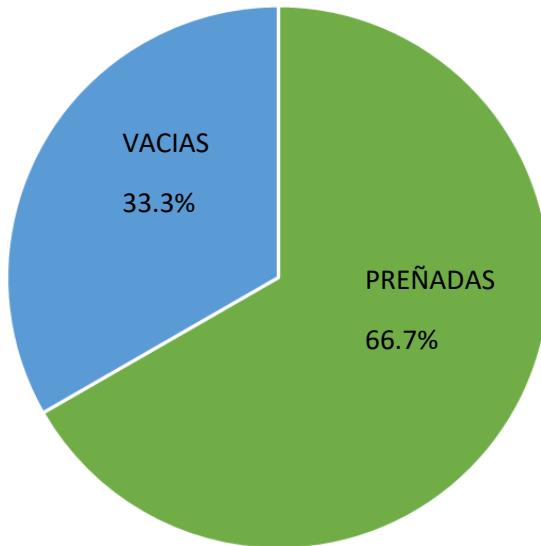


Figura 11 Porcentajes de tasa de preñez en grupo B de protocolo hormonal

V DISCUSIÓN

En el presente estudio se comparó la tasa de preñez obtenida en yeguas receptoras manejadas en ciclo estral natural y en yeguas sincronizadas mediante un protocolo hormonal exógeno dentro de un programa de transferencia embrionaria por ICSI. Los resultados mostraron que, aunque las yeguas en ciclo natural presentaron una tasa de preñez ligeramente superior (71.7 %) en comparación con las receptoras tratadas hormonalmente (66.7 %), dicha diferencia no fue estadísticamente significativa.

Estos hallazgos coinciden con lo reportado por Aurich (2011), quien señala que si bien los protocolos hormonales facilitan la programación y logística de los programas de transferencia embrionaria, no necesariamente se traducen en un aumento consistente de las tasas de gestación cuando se comparan con yeguas en ciclo natural. De manera similar, McCue et al. (2015) describen tasas de preñez que oscilan entre el 60 % y el 75 %, sin diferencias marcadas atribuibles al tipo de sincronización utilizada.

No obstante, diversos autores han señalado que el uso de protocolos hormonales puede representar una ventaja en situaciones específicas, particularmente cuando la disponibilidad de yeguas receptoras es limitada o cuando se requiere una sincronización precisa entre donadoras y receptoras (Carnevale, 2016). En estos casos, aunque la tasa de preñez no se incrementa de forma significativa, la aplicación de protocolos hormonales permite reducir pérdidas embrionarias asociadas a la asincronía uterina.

Es importante considerar que el éxito de la transferencia embrionaria no depende únicamente del tipo de ciclo reproductivo de la yegua receptora, sino de una combinación de factores que incluyen la calidad del embrión, la técnica de transferencia, el estado fisiológico y sanitario de la receptora, así como el manejo reproductivo previo y posterior al procedimiento (Samper et al., 2009). Por lo tanto, la ausencia de diferencias significativas entre los grupos evaluados en este estudio podría atribuirse al adecuado manejo y selección de las yeguas en ambos tratamientos.

En este contexto, los resultados obtenidos sugieren que tanto las yeguas receptoras en ciclo natural como aquellas sincronizadas mediante protocolos hormonales pueden ser utilizadas de manera efectiva en programas de transferencia embrionaria por ICSI, siempre que se cumplan las condiciones fisiológicas adecuadas para la implantación embrionaria.

VI CONCLUSIÓN

Con base en los resultados obtenidos y en relación con la hipótesis planteada, se concluye que no se observaron diferencias estadísticamente significativas en la tasa de éxito de la transferencia embrionaria mediante ICSI entre yeguas receptoras manejadas en ciclo natural y aquellas sometidas a protocolos hormonales de sincronización.

Ambos esquemas reproductivos demostraron ser alternativas viables bajo las condiciones del presente estudio, por lo que la elección del manejo reproductivo puede depender de factores logísticos, disponibilidad de receptoras y necesidades específicas del programa de reproducción asistida.

Se sugiere que futuras investigaciones consideren la evaluación de variables adicionales, como la edad, la raza, la condición corporal y el estado reproductivo previo de las yeguas receptoras, con el fin de identificar posibles factores que influyan de manera directa en el éxito de la transferencia embrionaria mediante ICSI.

VII LITERATURA CITADA

- Alvarenga, M. A., Oliveira, L. Z., & Landim-Alvarenga, F. C. (2020). Assisted reproductive technologies in horses: Advances and limitations. *Animal Reproduction*, 17(3), e20200035. <https://doi.org/10.1590/1984-3143-AR2020-0035>
- Andrade Souza, F., Pérez Osorio, J., D'Oliveira-Sousa, A., do Vale Filho, V. R., Marc, H., Chacón, L., & Arias, S. A. (2011). Folliculogénesis y ovulación en la especie equina. *Revista de Medicina Veterinaria*, (22), 43-50.
- Ángel, D., & Bran, J. A. (2010). Reproducción asistida en equinos: aportes desde la teoría. *Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 5(1), 56-69.
- Aurich, C. (2011). Reproductive cycles of horses. *Animal Reproduction Science*, 124(3-4), 220-228. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2011.02.005>
- Balerdi, Azpeitia Eñaut. (2012) Transferencia embrionaria en équidos. Obtenido https://ddd.uab.cat/pub/trerecpro/2012/103206/Transferencia_embriionario_en_equidos.pdf
- Carnevale, E. M. (2016). Equine embryo transfer: An update. *Reproduction in Domestic Animals*, 51(Suppl 4), 24-29. <https://doi.org/10.1111/rda.12730>
- Carnevale, E. M. (2019). Equine assisted reproductive technologies: Current status and future prospects. *Reproduction in Domestic Animals*, 54(Suppl 2), 14–21. <https://doi.org/10.1111/rda.13439>
- Claes, A. N., Stout, T. A. E., & Gadella, B. M. (2022). Advances in equine assisted reproduction: From embryo to foal. *Theriogenology*, 184, 15–24. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2022.01.001>
- Cortés-Vidauri, Zimri, Aréchiga-Flores, Carlos, Rincón-Delgado, Melba, Rochín-Berumen, Fabiola, López-Carlos, Marco, & Flores-Flores, Gilberto. (2018). Revisión: El Ciclo Reproductivo de la Yegua. *Abanico veterinario*, 8(3), 14-41. <https://doi.org/10.21929/abavet2018.83.1>

- Foss, R. (2021). Intracytoplasmic sperm injection-produced equine embryos: transport, thawing, and transfer. *Journal of Equine Veterinary Science*, 99, 103394.
- Foss, R., & Crane, A. (2004). Serum progesterone changes in embryo transfer recipients. *Proceedings of the 50th Annual Meeting of the American Association of Equine Practitioners*, 50, 521–524.
- Frandsen, R. D., Wilke, W. L., & Fails, A. D. (2018). *Anatomía y fisiología de los animales domésticos* (7.^a ed.). Editorial Médica Panamericana.
- Ginther, O. J. (2012). *Reproductive biology of the mare: Basic and applied aspects* (2nd ed.). Cross Plains, WI: Equiservices Publishing.
- Hafez, E. S. E., & Hafez, B. (2013). *Reproducción e inseminación artificial en animales* (7.^a ed.). McGraw-Hill Interamericana.
- Handler, J., Hoffmann, D., Weber, F., Aurich, C., & Aurich, J. E. (2006). Oxytocin does not contribute to the effects of cervical dilation on progesterone secretion and embryonic development in mares. *Theriogenology*, 66(7), 1397–1404. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.01.034>
- Hartman, D. L. (2011). Embryo transfer. En A. O. McKinnon & E. L. Squires (Eds.), *Equine reproduction* (Vol. 2, pp. 276–287). Wiley-Blackwell.
- Henneke, D. R., Potter, G. D., Kreider, J. L., & Yeates, B. F. (1983). *Relationship between condition score, physical measurements and body fat percentage in mares*. *Equine Veterinary Journal*, 15(4), 371-372.
- Hinrichs, K. (2018). Advances in equine assisted reproductive technology. *Reproduction in Domestic Animals*, 53(2), 28–36. <https://doi.org/10.1111/rda.13155>
- Hinrichs, K. (2020). Equine ICSI and embryo culture: Current status and future directions. *Journal of Equine Veterinary Science*, 89, 103056

- Hinrichs, K., & Choi, Y. H. (2019). In vitro production of equine embryos: State of the art. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 35(2), 319–333.
- McCue, P. M. (2014). Equine embryo transfer. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 30(2), 643–655.
<https://doi.org/10.1016/j.cveq.2014.08.008>
- McCue, P. M., Carnevale, E. M., & Squires, E. L. (1999). Equine embryo transfer. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 15(1), 1–17.
[https://doi.org/10.1016/S0749-0739\(17\)30165-7](https://doi.org/10.1016/S0749-0739(17)30165-7)
- McCue, P. M., LeBlanc, M. M., & Squires, E. L. (2015). Advances in equine embryo transfer. *Journal of Equine Veterinary Science*, 35(6), 437–444.
<https://doi.org/10.1016/j.jevs.2015.03.194>
- McKinnon, A. O., & Voss, J. L. (2011). *Equine reproduction* (2nd ed.). Wiley-Blackwell.
- Muñoz-García, J., Rodríguez, R., & Méndez, L. (2024). Protocolos hormonales en yeguas receptoras para transferencia embrionaria equina. *Revista Colombiana de Reproducción Animal*, 15(2), 45–58.
- Oliveira, L. F., Silva, M. A., & Alvarenga, M. A. (2024). Intracytoplasmic sperm injection in horses: Current status and future perspectives. *Reproduction in Domestic Animals*, 59(1), 101–112.
- Pérez, J. (2016). Punto de atención de la prueba: La evaluación ultrasonográfica de yeguas no preñadas y con preñez temprana. *Spei Domus*, 12(25).
<https://doi.org/10.16925/2382-4247.2016.02.04>
- Pérez, J. (2019). Punto de atención de la prueba: La evaluación ultrasonográfica de yeguas no preñadas y con preñez temprana. *Spei Domus*, 12(25).
<https://doi.org/10.16925/2382-4247.2016.02.04>
- Rader, K., Choi, Y.-H., & Hinrichs, K. (2016). Intracytoplasmic sperm injection, embryo culture, and transfer of in vitro–produced blastocysts. *Veterinary*

Clinics of North America: Equine Practice, 32(2), 301–317.
<https://doi.org/10.1016/j.cveq.2016.07.003>

Rader, R. (2016). Advances in equine reproductive biotechnology. Veterinary Clinics of North America: Equine Practice, 32(2), 273–290.

Ramos Torres, M. (2011). Evaluación de la eficiencia de protocolos de sincronización en yeguas receptoras para transferencia de embriones. Universidad de Córdoba, España.

Samper, J. C., Pycock, J. F., & McKinnon, A. O. (2019). Current therapy in equine reproduction (2nd ed.). Elsevier

Senger, P. L. (2018). Pathways to pregnancy and parturition (4th ed.). Current Conceptions Inc

Stout, T. A. E., Claes, A. N., & Allen, W. R. (2020). Reproductive technologies in the horse: Present and future. Reproduction, Fertility and Development, 32(1), 64–77.

Stringfellow, D. A., & Seidel, S. M. (Eds.). (1998). Manual of the International Embryo Transfer Society (3rd ed.). International Embryo Technology Society.

Torres, J. G. (2011). Puntos Criticos En Un Programa De Trasferencia De Embrionaria. Revista Complutense de Ciencias Veterinarias, 108-113.