

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**



“Efecto del esquema de Sincronización Embrión Receptora sobre la proporción de Celos y Tasa de Rechazo de vaquillas Bradford para Transferencia Directa”

POR

RICARDO SUJO HURTADO

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA

OBTENER EL TÍTULO DE:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

TORREÓN, COAHUILA

NOVIEMBRE DE 2015

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

"Efecto del esquema de Sincronización Embrión Receptora sobre la proporción de Celos y Tasa de Rechazo de vaquillas Bradford para Transferencia Directa"

POR
RICARDO SUJO HURTADO

TESIS

QUE SE SOMETE A LA CONSIDERACIÓN DEL H. JURADO EXAMINADOR
COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:


MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

APROBADA POR


PRESIDENTE:


M.C. JUAN LUIS MORALES CRUZ

VOCAL:



DR. CARLOS LEYVA ORASMA

VOCAL:


M.C. SERGIO IGNACIO BARRÁZA ARAIZA

VOCAL SUPLENTE:


M.C. ERNESTO MARTÍNEZ ARANDA


M.C. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZÁLEZ
COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



Coordinación de la División
Regional de Ciencia Animal

TORREÓN, COAHUILA

NOVIEMBRE DE 2015

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

"Efecto del esquema de Sincronización Embrión Receptora sobre la proporción de Celos y Tasa de Rechazo de vaquillas Bradford para Transferencia Directa"

POR
RICARDO SUJO HURTADO

TESIS

QUE SE SOMETE A LA CONSIDERACIÓN DEL COMITÉ DE ASESORÍA COMO
REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

APROBADA POR

ASESOR PRINCIPAL:


M.C. JUAN LUIS MORALES CRUZ

ASESOR:


DR. CARLOS LEYVA ORASMA


MC. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZÁLEZ
COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



Coordinación de la División
Regional de Ciencia Animal

TORREÓN, COAHUILA

NOVIEMBRE DE 2015

Agradecimientos.

A mi alma máter por haberme dado los conocimientos necesarios para desarrollarme profesionalmente.

A mis maestros que con su entrega y dedicación me mostraron el camino que conduce al éxito profesional.

A mis asesores y amigos Dr. Carlos Leyva Orasama y MC. Juan Luis Morales Cruz por su apoyo y entrega incondicional para lograr el presente documento.

Muy especialmente al Lic. Carlos Eduardo Martin Bringas quien confió plenamente en mi persona otorgándome su amistad y la oportunidad de desarrollarme en sus empresas durante más de 30 años.

Dedicatorias.

A Dios:

Gracias señor por todos los dones que nos proporcionas por medio del espíritu santo para poder concluir esta noble profesión.

A mis padres:

Por su apoyo brindado para concluir esta profesión que amo tanto y que es un orgullo y una bendición de dios el haber escogido.

A mi esposa:

Que con mucho cariño y comprensión me apoyo durante este proyecto de vida soportando las ausencias tan largas y frecuentes que implica esta hermosa profesión.

A mis hijos:

Que son el motivo e inspiración de mi vida y la energía que necesito día a día para trabajar en este proyecto de vida que dios me asign

ÍNDICE

Agradecimientos.....	I
Dedicatorias.....	II
ÍNDICE DE TABLAS.....	V
RESUMEN.....	VI
INTRODUCCIÓN	1
Objetivo:	2
Hipótesis:	2
I. Recopilación Bibliográfica	3
2.1. Programa de sincronización donante receptoras en programas de T.E. en bovinos.	3
2.1.1. Aspectos esenciales de las donadoras	3
2.1.2. Aspectos esenciales de la receptora.....	4
2.1.3. Importancia fisiológica de la sincronización donante-receptora. Desarrollo embrionario.	6
3. Métodos de Superovulación	6
4. Eficiencia de los métodos de sincronización de celos en receptoras de embriones.	8
4.1 Hormonas que se utilizan en los protocolos en la sincronización de estros en bovinos	8
4.1.1 Progestágenos.....	8
4.1.2. GnRH	9
4.1.3. Estradiol	10
4.1.4. Gonadotropina Coriónica Equina (ECG).....	11
5. Protocolos de inducción de la ovulación	11
5.1. Progesterona y estradiol:.....	11
5.2. Terapress.....	12
5.3. Protocolo Ovsynch	12
5.4. Protocolo OSYM	13
5.5. Presynch.....	13

5.6. Protocolo HSYM	13
5.7. Doble Ovsynch.....	14
5.8. Protocolo DPG	14
5.9. Heatsynch y P4	14
6. Causas de rechazos de hembras bovinas receptora al momento de transferir embriones.....	15
7. Transferencia de embriones directa con embriones congelados con Etilenglicol 16	
7.1. Congelamiento de Embriones.	16
7.2. Crioconservación.....	17
7.3. Crioprotectores.....	18
7.3.1. Etilenglicol	18
8. Transferencia directa.....	19
9. Protocolo de congelación con etilenglicol.....	20
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	23
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	25
V. Conclusión.....	29
VI. Referencias.....	30

ÍNDICE DE TABLAS.

Tabla 1. Tasa de detección de celo en vaquillas Bradford que recibieron un embrión congelado.....	25
Tabla 2. Tasa de Rechazo de vaquillas Bradford que fueron sincronizadas.....	26
Tabla 3. Tasa de Rechazo de vaquillas Bradford que fueron sincronizadas.....	27

RESUMEN

Las biotecnologías de la reproducción han tenido como objetivo obtener una mejor eficacia en cuanto al mejoramiento genético brindando una mayor producción a menor costo. Durante un período de unos treinta años, la transferencia de embriones en bovinos ha tenido mayor impacto internacional. La tecnología está bien establecida y más de 500.000 embriones se producen anualmente de vacas superovuladas en todo el mundo. El aumento en la cantidad de embriones producidos suele estar acompañado de la implementación de nuevos esquemas de superovulación de las hembras donadoras y de nuevos y diferentes protocolos de sincronización de estrógeno de las hembras receptoras. El objetivo de este estudio fue comparar 2 protocolos de sincronización de estrógeno sobre la tasa de celos, la tasa de concepción y el % de vaquillas aptas para transferencia embrionaria.

El experimento se realizó en un rancho ganadero ubicado en el Municipio de Cuatro Ciénegas Coahuila. El rancho cuenta con ganado especializado en producción de carne de las razas Bradford y Angus, contando en total con alrededor de 300 animales. Los animales utilizados en el estudio fueron de la raza Bradford, siendo vaquillas primíparas con un peso aproximado de 360 kg, Estos animales fueron sincronizados y preparados previamente para recibir un embrión criopreservado en nitrógeno líquido, dividiéndose aleatoriamente en dos grupos (I y II). La sincronización para el grupo I (n= 32) fue a base de progestágenos intravaginal durante 7 días, acompañada de una inyección intramuscular de prostaglandina (dosis= 25mg.). Para el grupo II (n= 37) sólo se sincronizó con una inyección intramuscular de prostaglandina con la misma dosis. Se detectó y se anotó el día y la hora del celo tomándolo como base para la transferencia embrionaria que se realizó 7 días posteriores a este. Los resultados encontrados fueron; en cuanto la tasa de celos 84.3% vs 64.8% para el grupo I y para el grupo II respectivamente ($P < 0.05$). Para el % de rechazo 14.8% vs 29.1% ($P > 0.05$) para el grupo I y para el grupo II

respectivamente. Para la tasa de concepción se encontró un 21.7 vs 41.1 % para el grupo I y II respectivamente ($P > 0.05$). Se concluye que, con el uso de dispositivo intravaginal en el grupo I se obtuvo mayor tasa de expresión de celos, no encontrándose diferencias significativas en la tasa de rechazo ni en la tasa de concepción.

Palabras Claves: Embriones, Sincronización, Hormonas, Receptora, Raza, GnRH.

INTRODUCCIÓN

La primera transferencia de embriones en mamíferos realizada con éxito fue hecha por Walter Heape en 1890. Durante un período de unos treinta años, la transferencia de embriones en bovinos se ha convertido en un gran negocio internacional. La tecnología está bien establecida, y más de 500.000 embriones se producen anualmente de vacas superovuladas en todo el mundo (Mapletoft y Hasler, 2005).

El aumento en la cantidad de embriones producidos suele estar acompañado de la implementación de nuevos esquemas de superovulación (SOV) de las hembras donadoras y la sincronización de las hembras receptoras (Bolívar y Maldonado, 2008).

La TE, cuyo objetivo central es el aumento de la descendencia de reproductores de alto valor genético, en especial de las hembras, incluye la aplicación de esquemas de súper ovulación (SOV) en las vacas donadoras de embriones y de sincronización del celo tanto en las hembras donadoras como en las hembras receptoras.

En este estudio se pretende transferir embriones de alto valor genético (Angus) con el fin de mejorar la calidad genética en bovinos productores de carne.

Objetivo:

Comparar 2 protocolos de sincronización de estro sobre la tasa de celos, la tasa de concepción y el % de vaquillas aptas para Transferencia Embrionaria.

Hipótesis:

El tipo de protocolo de sincronización en la hembra receptora utilizado en los programas de transferencia de embriones directa, influye en la expresión y tasa de detección del estro, así como en la tasa de concepción.

I. Recopilación Bibliográfica

2.1. Programa de sincronización donante receptoras en programas de T.E. en bovinos.

2.1.1. Aspectos esenciales de las donadoras

El manejo de las donantes es uno de los puntos críticos. Si estas hembras no están reproductivamente bien y en un adecuado estado de balance nutricional el programa puede fracasar antes de haber comenzado. Sólo ocasionalmente se deberá trabajar con vacas que carezcan de una óptima historia reproductiva o que tengan algún problema reproductivo determinado. Estos son casos especiales que no siempre se pueden rechazar y en los cuales las probabilidades de éxito son menores. En tales casos se debe prevenir al propietario sobre el mayor riesgo y el animal será tratado en relación con el problema detectado.

El manejo de la donante debe comenzar bastante antes de entrar en el programa y en esta etapa se deberá cumplir con el propietario para que comprenda y aprecie cómo debe ser manejada la vaca y cuál es su responsabilidad en ello. Si la vaca tiene un ternero al pie, es conveniente que el mismo sea destetado o dejado con una vaca ama. No sólo importa por la salud del ternero sino también para el mejor rendimiento de la madre a quien, además del stress del cambio se suma el de la lactancia y cuidados del ternero. Muchas vacas ciclarán en forma irregular en los dos primeros meses posparto si están bien nutridas y luego comenzarán a ciclar más regularmente. Otras no ciclarán mientras tengan su ternero al pie aun estando bien nutridas y esto no constituye una patología sino que es una respuesta natural en los mamíferos.

Una alternativa de manejo cuando hay varias donantes con cría, es llevar a los terneros a mamar una o dos veces por día. Algunas razas requieren esto más

que otras por lo que sus necesidades se establecerán en función del conocimiento que se tenga de la misma. Las vacas primíparas o las vacas viejas representan un problema particular en estos casos. En general se debería disponer de una buena historia reproductiva de una donante antes de incluirla en un programa de TE.

Con respecto al estado nutricional, uno de los problemas importantes en TE es paradójicamente el inverso al que ocurre en la vaca de cría; es decir el de las vacas demasiado gordas. El propietario deberá ser advertido que este exceso de alimentación tiene un efecto negativo sobre la reproducción, la lactancia y la longevidad (Alberio, 2004).

2.1.2. Aspectos esenciales de la receptora

Las receptoras forman una parte esencial del programa de TE y también uno de los problemas más serios. Las buenas receptoras son caras, su mantenimiento costoso y su estado de salud es crítico para el éxito de la TE. Desde el punto de vista reproductivo una buena receptora es la hembra capaz de recibir un embrión y llevarlo a término. Más aún, la receptora deberá ser capaz de parir sin grandes dificultades y luego alimentar al ternero de manera que le permita expresar su potencial genético. En consecuencia, deberá ser de buen tamaño, tanto general como reproductivamente sana y de buena capacidad lechera. Esto no parece ser tan complicado, sin embargo tanto el tamaño como la producción de leche pueden tener significados diferentes. El tamaño de la receptora dependerá del tipo de animal (embrión) que se transferirá. De acuerdo con las tendencias actuales, particularmente en las razas para carne, se busca un gran tamaño de ternero con pesos al nacimiento de 40 a 50 kg y aún más. Por lo tanto, no se deben tener dudas de elegir hembras de gran tamaño. La edad de la receptora es un aspecto importante en el cual sin embargo, no hay coincidencias entre autores. En general se difiere en el criterio si es mejor una vaquillona que una vaca que ya ha parido

alguna vez. Una forma de tomar el problema que puede resumir las diferentes posiciones es la siguiente: la vaquillona permite obtener tasas de preñez ligeramente superiores, sin embargo los problemas de manejo durante la gestación, el parto y la lactancia pueden producir resultados finales inferiores a los de las vacas. El uso de vacas multíparas, con historia reproductiva conocida, que garantiza en cierta manera su comportamiento futuro, sumado al hecho de tener menos problemas de parto, hace que éste sea finalmente el animal de elección.

Se debe recordar que el genotipo del embrión transferido es diferente al que la vaca hubiese tenido en un servicio de la propia raza. Uno de los errores más frecuentes que se cometen al hablar de las receptoras, es relacionar su tamaño con el tamaño al nacimiento del embrión transferido. Mucha gente cree que a mayor tamaño de la receptora, mayor tamaño de la cría y viceversa. El largo de gestación y el peso al nacimiento son determinados genéticamente y poco afectados por el ambiente uterino de la receptora. Su genética no juega ningún rol en el tamaño o estructura del ternero resultado de una transferencia. Este concepto no parece tener actualmente la certeza que se le asignaba años atrás. Si bien es cierto que la genética de la receptora no influye en la genética del embrión, el ambiente uterino (especialmente el espacio o tamaño) parece tener una interacción con el genotipo del feto mayor que la supuesta.

El programa de alimentación de las receptoras es vital en el éxito final de la transferencia. La hembra gestará y amamantará a los terneros de mayor valor del establecimiento. Criará terneros que son mayores a los que hubiera producido y deberá proveer nutrientes en forma suficiente para que se exprese el potencial genético del ternero. Ante estas consideraciones, la receptora preñada no debe ser tratada como cualquier otra vaca de cría sino, al menos, como lo son las donantes (Alberio, 2004).

2.1.3. Importancia fisiológica de la sincronización donante-receptora. Desarrollo embrionario.

La producción de embriones por las donantes y la transferencia a receptoras es el trabajo básico de la transferencia de embriones. El manejo de las donantes para maximizar la producción de embriones y el de las receptoras para tenerlas disponibles en el momento oportuno y para que tengan una buena fertilidad, forma parte de las tareas más importantes de la TE. La evolución hacia un sistema de manejo eficiente toma tiempo y paciencia y varía ligeramente de situación en situación (Alberio, 2004)

3. Métodos de Superovulación

La TE, cuyo objetivo central es el aumento de la descendencia de reproductores de alto valor genético, en especial de las hembras, incluye la aplicación de esquemas de súper ovulación (SOV) en las vacas donadoras de embriones y de sincronización del celo tanto en las hembras donadoras como en las hembras receptoras. Existen muchas variaciones en los esquemas farmacológicos de inducción de SOV y los resultados generados parecen no presentar variaciones importantes, a pesar de que al aumento de la complejidad de los protocolos de tratamiento hormonal, podrían generar un costo adicional innecesario y por el uso implícito de hormonas sin prescripción, ni sustento en ensayos clínicos controlados, implicarían un manejo médico inadecuado (Bolívar y Maldonado, 2010).

Actualmente el agente gonadotropico más utilizado para estimular el crecimiento folicular suplementario es la hormona folículo estimulante (FSH), ya que parece que con su empleo se obtiene un mayor número de embriones transferibles (Martínez et al, 2012).

Para la SOV de las donadoras se utilizaba en la década de los años 90 un protocolo sencillo, que consistía en: la detección del celo de referencia para la SOV, la administración de FSH, pura o como PMSG, desde el día 9 hasta el día 12 del ciclo de referencia para la SOV, acompañado de la administración de prostaglandina, la inseminación al celo observado junto con la aplicación de una fuente de hormona luteinizante para lograr la ovulación -y de anti-PMSG, cuando se utilizaba esta hormona como fuente de FSH para inducir la superovulación. El protocolo para la sincronización de las receptoras era sencillo si se compara con los complejos esquemas disponibles en la actualidad. Desde la del año 2000 se dispone de toda una gama de esquemas de SOV de las donadoras y de sincronización del estro en las receptoras, que han hecho mucho más complejo el tratamiento hormonal de las novillas y de las vacas, han aumentado considerablemente los costos del proceso, representados en la mano de obra, el descarte de cerca de la mitad de las hembras destinadas como receptoras por tener "cuerpo lúteo inapropiado" (Bolívar y Maldonado, 2010).

4. Eficiencia de los métodos de sincronización de celos en receptoras de embriones.

4.1 Hormonas que se utilizan en los protocolos en la sincronización de estros en bovinos

4.1.1 Progestágenos

Con la utilización de P4 se busca imitar la fase luteal corta producida previo al reinicio de la actividad sexual cíclica posparto. La utilización de P4 mejora los porcentajes de preñez en animales inseminados artificialmente ya que ésta evita la formación de un cuerpo lúteo de vida corta, por lo tanto, el cuerpo lúteo de la ovulación precedida por el tratamiento de P4 tendrá una actividad normal permitiendo el desarrollo y el mantenimiento de la preñez. Al cabo del tiempo se han desarrollado diferentes fuentes de P4 o progestágenos sintéticos: acetato de melengestrol (MGA, oral), su uso ha dado como resultado una baja calidad del oocito ya que se administra por un período muy prolongado de días; dispositivos intravaginales [esponjas con acetato de medroxiprogesterona (MAP) y dispositivos de silicona con P4] de diferentes formas y con diferentes concentraciones; soluciones inyectables (soluciones oleosas con diferentes concentraciones de P4). La utilización de la P4 o progestágeno se realiza por 5 a 10 días, junto con alguna hormona (GnRH o estradiol) que produzca el recambio de una onda folicular. A la retirada de los implantes los animales deberán tener un FD con capacidad de ovular (Morales y Cavestany, 2012).

En la sincronización estral de los bovinos, se han utilizado diversos tratamientos a base de progesterona o progestágenos, en distintas presentaciones y métodos de aplicación, combinados generalmente con otras hormonas. En diferentes condiciones de manejo, genotipos y climas, el uso de progesterona o progestágenos como agentes sincronizadores del estro ha demostrado ser una herramienta satisfactoria. Un producto comercial empleado en programas de sincronización del estro es el dispositivo intravaginal de liberación controlada de droga (CIDR-B®, por sus siglas en inglés). El CIDR contiene 1.9 g de progesterona natural, la cual se libera de

manera constante y relativamente uniforme mientras el dispositivo se encuentra insertado en la vagina.

Los protocolos de sincronización donde se administra un CIDR comprenden periodos de inserción que pueden durar de 7 a 10 días. Se ha demostrado que la sincronización del estro a base de progestágenos con protocolos de corta duración, aumenta la eficiencia en la sincronía y la proporción de animales en estro durante el periodo de sincronización, lográndose hasta 90 % de animales en estro en las primeras 48 h posteriores al término del tratamiento. Lo anterior resulta de particular importancia en la sincronización de receptoras dentro de los programas de transferencia de embriones en bovinos, en los cuales se requiere de un mayor control en cuanto al grado de sincronización de los estros, además de asegurar una función lútea posterior al estro sincronizado, adecuada para la sobrevivencia del embrión transferido (Solórzano et al, 2008).

Una de las bases hormonales que se maneja son los dispositivos auriculares con progesterona Crestar® 3 mg de norgestomet MSD se utiliza que permanecen en la oreja alrededor de 8 a 9 días, y de esta manera se logra controlar el momento del estro la ovulación (Uribe y robledo, 2012).

4.1.2. GnRH

La GnRH es capaz de inducir la liberación de LH y causar la ovulación o regresión del FD, surgiendo una nueva onda folicular. La dosis varía de 8 y 100 µg dependiendo del principio activo de los mismos. También la GnRH es usada en tratamientos de ovarios quísticos (Morales y Cavestany, 2012).

El inicio de la actividad de las hormonas reproductivas comienza con la hormona liberadora de gonadotrofinas (GnRH), la cual es sintetizada en el núcleo arqueado y preóptico, y estimula la secreción de la gonadotrofina estimulante de folículo (FSH) y de la hormona luteinizante (LH) desde la

adenohipófisis. Los centros endócrinos del hipotálamo controlan la liberación de la GnRH, que a su vez libera el pico de LH que inicia los mecanismos que llevan a la ovulación. Como no hay un método rápido para identificar el momento del pico de LH, el celo es empleado para predecir este momento (Regalado et al, 2012).

4.1.3. Estradiol

Estradiol: desde que Bó y col. (2004) reportaron que la utilización de implantes de progestágenos más 5 mg de estradiol (o sus esteres) producen atresia folicular y resurgimiento de una nueva onda folicular, los E2 (al igual que la GnRH) se han utilizado en vacas en anestro para lograr un desarrollo sincronizado de la onda folicular, luego de una exposición a la P4. El agregar E2 a los tratamientos con P4 también permite la manifestación de estro en vacas anestro anovulatorios. Su acción en un ambiente con altas concentraciones de P4 es reducir la secreción de LH induciendo atresia del FD y surgimiento de una nueva onda folicular, pero en ambientes con baja concentración de P4 el estradiol induce la liberación de GnRH (por lo tanto de LH) que lleva a la ovulación o luteinización del FD. Los diferentes compuestos de estradiol (benzoato, valerato o cipionato) tienen diferente vida media en sangre aspecto a considerar en los tratamientos; pero sus efectos son similares a los de la GnRH (Morales y Cavestany, 2012).

El estrógeno es una hormona esteroidea producida en los ovarios, interviene en el crecimiento del folículo dominante. Esta hormona esteroidea se forma a partir del colesterol, el cual es un lípido que se encuentra en los tejidos corporales y en el plasma sanguíneo de los mamíferos, de ahí la importancia del suministro adecuado de alimentos energéticos en aspectos reproductivos de hembras (Moyano y Eduardo, 2014).

4.1.4. Gonadotropina Coriónica Equina (eCG)

El objetivo de un tratamiento con eCG después de un período de tratamiento con P4 es el de estimular el desarrollo folicular ovárico y la producción de estradiol. Al administrar a las vacas eCG provoca desarrollo y maduración folicular, ovulación y desarrollo viable del cuerpo lúteo; además produce cuerpos lúteos accesorios que mejorarían el mantenimiento de la preñez (Morales y Cavestany, 2012).

Rengifo et al. (2011) evaluaron dos protocolos de superovulación con distintas dosis de eCG, recuperando en promedio 4.9 y 5.3 embriones transferibles por vaca en cada programa, pero no se reportan resultados de la tasa de concepción ni de la natalidad. Por lo tanto, el presente trabajo tuvo como objetivo evaluar la respuesta superovulatoria y la tasa de concepción al aplicar la técnica no quirúrgica de transferencia de embriones en vacas lecheras de un establo comercial de la cuenca de Lima (Medrano et al, 2014).

5. Protocolos de inducción de la ovulación

Si se controla la fase folicular junto a la fase luteal se obtiene sincronía del celo y de la ovulación con fertilidad normal. La fase luteal es controlada con la P4, y el desarrollo folicular e inducción de la ovulación es controlado por el estradiol o la GnRH; a partir de esta premisa es que los protocolos para el tratamiento del anestro se basan en la combinación de estas hormonas (Morales y Cavestany, 2012).

5.1. Progesterona y estradiol:

La administración de estradiol al principio de los tratamientos con P4 produce el desarrollo de una nueva onda folicular; si se quiere sincronizar la ovulación de esa nueva onda (y poder realizar IATF) se puede utilizar una segunda dosis

de estradiol, logrando buenos porcentajes de concepción a la primera inseminación. En general los dispositivos intravaginales son asociados con BE o cipionato de estradiol (CPE) (Morales y Cavestany, 2012).

5.2. Terapress

Es un dispositivo intravaginal de silicona inerte impregnado con 1 gramo de progesterona natural y su forma cruciforme le permite un mejor anclaje, menor pérdida y menos vaginitis. La progesterona se libera por difusión desde una cápsula de silicón, la cual está adaptada para retener el dispositivo dentro de la vagina. La progesterona del dispositivo de Terapress, se absorbe a través de la mucosa vaginal, dando como resultado niveles en plasma suficientes para suprimir la liberación de LH y FSH de hipófisis, evitando el estro y la ovulación. Al remover el Terapress la LH aumenta, lo que resulta en estro y ovulación del folículo dominante (Ortega et al, 2011)

5.3. Protocolo Ovsynch

El Ovsynch (GnRH-PGF2 α -GnRH) ampliamente usado para sincronización de vacas ciclando provoca ovulación, generalmente sin ocurrencia de celo por esto es que después de este tratamiento se debe hacer IATF. La GnRH provoca que el folículo más grande ovule o regrese, iniciando una nueva onda folicular; 7 días después al aplicar la PGF2 α se provoca luteolisis (del CL formado a partir de la administración de GnRH) y al día 9 la segunda inyección de GnRH induce la ovulación del nuevo folículo; 16 horas después se insemina (Morales y Cavestany, 2012).

5.4. Protocolo OSYM

Día 0 AM, aplicación de GnRH, día 6 AM aplicación de. En los días 5 PM, 6 AM/PM y 7 AM/PM se realizó DC e IA. El día 8 AM aplicación de la segunda dosis de GnRH. El día 8 PM se efectuó la IATF dentro de las 14 y 17 horas de administrada la segunda GnRH. A los 17 días de la primera inseminación se realizó el repaso con IA por 5 días (Rusiñol y Cavestany, 2011).

5.5. Presynch

El protocolo Presynch clásico consiste en dos inyecciones de PGF2 α , administradas con un intervalo de 14 días. Esto es seguido, 12 - 14 días más tarde, por la primera administración de GnRH del protocolo Ovsynch. Debido que este protocolo ha sido efectivo en aumentar la fertilidad en vacas cíclicas es que se han realizado modificaciones en él para su uso en vacas en anestro. Chebel y col. (2006) probaron el uso de un dispositivo CIDR durante los 7 días anteriores a la PGF2 α final del protocolo Presynch tradicional, induciendo ciclicidad en las vacas anovulatorias a los 62 días posparto y aumentando ésta de un 30% a 47%, con un porcentaje de concepción de 33% a la primera IA utilizando un protocolo Ovsynch (Morales y Cavestany, 2012).

5.6. Protocolo HSYM

Día 0 AM aplicación de GnRH; en los días 5 PM, 6 AM/PM y 7 AM/PM se realizó DC e IA; día 6 AM aplicación de PG. Los animales que mostraron celo antes, fueron inseminados y no siguieron en el grupo. El día 7 AM aplicación de BE, día 8 PM, a las 36 horas de la aplicación del BE, se realizó la IATF. A los 17 días de la primera inseminación se realizó el repaso con IA por 5 días (Rusiñol y Cavestany, 2011).

5.7. Doble Ovsynch

La fertilidad con un protocolo de pre sincronización con PGF2 α y GnRH (Doublesynch) en vacas cíclicas; el protocolo Doublesynch se puede utilizar para IATF tanto en vacas ciclando como en anestro. Una posible explicación del hecho que vacas sin cuerpo lúteo mejoren su fertilidad con PGF2 α es la dada por diversos autores que demostraron efectos favorables de la PGF2 α en vacas con problemas de ovulación, a partir del aumento de los niveles de LH y las tasas de ovulación, sugiriendo que existe una mejora en la respuesta de la hipófisis a la GnRH luego de un tratamiento con PGF2 α (Morales y Cavestany, 2012).

5.8. Protocolo DPG

Se aplican dos dosis de PG con un intervalo de 14 días entre ellas. A los 18 días de la primera inseminación se realizó el primer repaso con IA a celo visto por 5 días (Rusiñol y Cavestany, 2011).

5.9. Heatsynch y P4

Sustituir la inyección final de GnRH por CPE o BE (Heatsynch) no compromete el desempeño reproductivo en vacas cíclicas obteniéndose más vacas en estro y porcentajes de preñez similares al protocolo Ovsynch. El BE es igual de efectivo que la GnRH para inducir el crecimiento de una nueva onda folicular y para sincronizar la ovulación tanto en vacas cíclicas como en anestro (Morales y Cavestany, 2012).

6. Causas de rechazos de hembras bovinas receptora al momento de transferir embriones

Gran parte de la atención en la investigación ha sido enfocado hacia la hembra donante de embriones en materia de TE, ya que se han aplicado un sin número de protocolos de sincronización del estro, técnicas de obtención, manipulación y preservación de los embriones, así como de protocolos de multiovulación en los que se han utilizado varios tipos de hormonas que desencadenan este efecto en el que se obtienen ovulaciones múltiples. Pero al obtener un embrión después de realizar la clasificación de éste, uno de los puntos de gran importancia que afecta la eficiencia de esta técnica, está asociado a todo el ambiente que va a rodear el embrión ya que al ser óptimo va a permitir el desarrollo de este nuevo ser, por esta razón es de suma importancia realizar una excelente selección de la hembra que va a alojar este embrión en su interior. La eficiencia en este tipo de programas se ha visto afectada debido a la utilización de hembras receptoras con deficiencias nutricionales, sanitarias, de manejo, entre otras que hacen que los resultados no fueran los mejores. Pero actualmente el criterio de selección de estas hembras es más estricto por parte de los profesionales que aplican esta técnica lo cual ha sido comprendido por los productores que utilizan esta biotecnología en busca realizar mejoras en sus diferentes tipos de explotaciones mediante la aplicación de TE (Duica et al., 2007; Marin, 2012).

A partir del desarrollo de la técnica de transferencia se observó que tanto la calidad de los embriones como el estadio de desarrollo y su edad podían afectar el resultado de la aplicación de la misma. Además de los factores propios del embrión, las técnicas tales como criopreservación, micromanipulación y más recientemente producción in vitro de embriones y otros factores se fueron sumando a aquellos que modificaban los resultados de preñez. Además, está demostrado que los resultados de preñez dependen

no sólo de cada factor embrionario, sino de la interacción que pueda existir entre dos o más de ellos (Marin, 2012).

Las receptoras deben ser reproductivamente sanas para recibir un embrión y llevar la gestación a término, poseer un tamaño que les permita parir sin grandes dificultades y deben ser de buena capacidad lechera para alimentar al ternero de manera que le permita expresar su potencial genético (Duica et al., 2007).

7. Transferencia de embriones directa con embriones congelados con Etilenglicol

7.1. Congelamiento de Embriones.

Una técnica importante tanto en el ámbito comercial como en el científico durante los últimos 20 años, ha sido la producción de embriones bovinos ya que esta ha crecido de forma progresiva, en especial, en el área de la producción in vitro (PIV). La necesidad de conservar los embriones excedentes de dicha producción, ha impulsado la investigación hacia el desarrollo de nuevos métodos de criopreservación de esta clase de embriones y que por los métodos convencionales de congelamiento, no han alcanzado tasas de sobrevivencia satisfactorias, debido a sus características físicas. Dentro de las nuevas aplicaciones de la criobiología, el método de la vitrificación se muestra como alternativa para mejorar la sobrevivencia de los embriones producidos in vitro, este método con curvas de enfriamiento superiores a las de congelamiento, va a permitir la reducción del tiempo de exposición del embrión en los puntos críticos de temperatura, disminuyendo así los daños térmicos y mecánicos causados durante la formación de hielo y aumentando la viabilidad de los embriones, posterior a su vitrificación. No obstante, es importante resaltar que, a pesar del alcance conseguido con esta

técnica hasta hoy, aún es necesario el desarrollo de nuevos métodos y la búsqueda de nuevas perspectivas que optimicen la vitrificación de embriones producidos in vitro (Giraldo et al, 2012).

7.2. Crioconservación

La criopreservación de embriones bovinos producidos in vitro facilita el uso de programas de transferencia de embriones, el establecimiento de bancos de germoplasma con acceso permanente a material genético de un determinado individuo o raza, e igualmente facilita las biotecnologías asociadas como clonación y transgénesis. En materia de criopreservación, el desarrollo de tecnologías en la última década ha sido significativo. Una muestra de tales avances la constituye el campo de la reproducción en donde se ha hecho rutinario abordar el proceso de criopreservación de semen, oocitos, embriones o tejido gonadal con el fin de satisfacer la demanda cada vez más creciente por los métodos y servicios de la reproducción asistida. El valor de la criopreservación en la reproducción asistida en bovinos queda claramente ilustrado por el gran número de gametos y embriones que son congelados y transferidos cada año. No obstante, es necesaria la búsqueda de protocolos de vitrificación en los que se evalúen combinaciones de crioprotectores que permitan mejorar la viabilidad embrionaria (Giraldo* et al, 2012).

La crioconservación es una técnica que permite mantener a bajas temperaturas (-130 °C), a cualquier conjunto biológico de células por tiempo indefinido, creando las condiciones necesarias para que conserven la capacidad de sobrevivir después de la descongelación. Sin embargo, en este proceso se producen daños a las células espermáticas crioconservadas, ocasionados por la formación de hielo intracelular y desequilibrio osmótico. La magnitud de daños criogénicos, durante la congelación y descongelación puede resultar en la disminución de la movilidad con reducción de velocidad espermática y la fertilidad (Atencio et al, 2014).

7.3. Crioprotectores

La alternativa para minimizar los daños criogénicos, es la adición de sustancias que replacen el agua dentro de la célula, denominadas crioprotectores. Los crioprotectores tienen como propósito mantener la viabilidad celular, previniendo el daño celular durante el proceso de congelación y descongelación (Atencio et al, 2014). El tipo de crioprotector usado, sus posibles combinaciones y su concentración son variables del proceso de vitrificación, que influyen directamente sobre las tasas de supervivencia de los embriones. La dimetilformamida (DMF) es un crioprotector permeable perteneciente al grupo de las aminas, y se considera que por su bajo peso molecular este crioprotector puede ser más fácilmente absorbido por los embriones y menos tóxico en el proceso de vitrificación. Estas características proponen a la DMF como alternativa de ser usada como crioprotector intracelular en la vitrificación de embriones bovinos y evaluar su efecto sobre la viabilidad, determinada a través de la reexpansión del blastocele (Giraldo* et al, 2012).

7.3.1. Etilenglicol

La criopreservación por vitrificación con el uso de crioprotectores como el etilenglicol (EG), ha favorecido el mejoramiento de la eficiencia en la preservación de células germinales y embriones de varias especies dado que permite el aumento de la velocidad de enfriamiento, así como la disminución de los efectos osmóticos y tóxicos y las alteraciones a nivel celular (Gómez et al, 2010). El Etilenglicol es un agente crioprotector permeable, de bajo peso molecular que se ha usado en los protocolos de criopreservación de semen en las diferentes especies. El etilenglicol puede ser una alternativa para los protocolos de criopreservación de semen. Se ha demostrado un mejor efecto protector del etilenglicol en comparación con el glicerol en otras especies como

humanos, equinos, bovinos y chinchillas. Así mismo otros estudios indican que el etilenglicol tiene un efecto similar al glicerol y por lo tanto puede sustituirlo (Ramónez, 2013).

8. Transferencia directa

El congelamiento convencional tiene una ventaja comparativa frente a los otros métodos de criopreservación, al ser una metodología que permite la utilización de bajas cantidades de crioprotectores y la transferencia directa de los embriones después del descongelamiento. Sin embargo, su habilidad para prevenir la formación de hielo aún es limitada, y sus resultados en la criopreservación de embriones in vitro han sido variables, y menores en comparación con los datos obtenidos en embriones in vivo. La razón por la cual existe esta variación en la viabilidad de los embriones producidos in vitro, en comparación con los producidos in vivo, es debida probablemente a las características físicas propias de este tipo de embriones, que hacen que sean más sensibles al momento de ser expuestos a bajas temperaturas (Giraldo et al, 2012).

El método de transferencia directa, por etilenglicol, crioprotector que tiene un menor peso molecular que el glicerol y por lo tanto, resulta más permeable con lo que provoca pequeños cambios de volumen celular (Ochoa, 2011). En otro estudio Colazo y Mapletoft en 2007 llevaron a cabo un experimento en el cual obtuvieron un porcentaje de preñez de 22% Cuando las pajuelas fueron descongeladas y transferidas en forma directa (Colazo y Mapletoft, 2007).

TE directamente donde utilizaron como receptoras vacas y vaquillas de la cruce indica que fueron sincronizadas con dos dosis de 25 mg de dinoprost (Lutalyse, Romage, Argentina) aplicadas con 14 días de intervalo. A los 7 días

del celo, todas aquellas receptoras con un CL (determinado por palpación rectal) recibieron un embrión en el cuerno uterino ipsilateral al CL. Los embriones fueron descongelados en agua a 28-30°C y transferidos directamente al útero sin remoción del crioprotector (método de transferencia directa) (Bo et al 2004).

9. Protocolo de congelación con etilenglicol

En relación al uso del Etilenglicol (ET) mencionan su utilización como un crioprotector de uso práctico. Este posee un alto coeficiente de permeabilidad celular de tal forma que los embriones después de descongelada la pajuela se implantan directamente por tanto no existe la expansión por sobre hidratación con posterior muerte embrionaria que se observa en el caso del glicerol o del DMSO.

La posibilidad de estandarizar un método de criopreservación con una tasa aceptable de gestación que permita transferir los embriones congelados directamente a las receptoras luego de la descongelación constituirá sin duda alguna en el método de elección universal.

El método con etilenglicol tendría la ventaja de una mayor practicidad a nivel de la producción ya que permite implantar en forma directa el embrión una vez descongelada la pajuela a 30 grados, a condición de que la transferencia se realice dentro de los 10 minutos siguientes a la descongelación.

Técnica:

1. El embrión una vez lavado por sucesivos pasos en PBS con 20% de SFb, se mantiene 20 minutos en una concentración de 1.8 M de etilenglicol (10%v/v), en PBS +20% de SFb.
2. Se aspira en una pajuela de 0.25 ml de manera que quede una columna de PBS-EG separada de 2 columnas de PBS isotónico a través de 2 pequeñas burbujas de aire.
3. Inmersión de la pajuela directamente a -7°C utilizando la maquina programable con alcohol metílico.
4. Inducción manual de cristales de hielo en el medio extracelular (seeding) a -7°C manteniendo 10 minutos a esa temperatura para permitir el equilibrio de las soluciones.
5. Descenso de la temperatura a una velocidad de $0.3^{\circ}\text{C}/\text{minutos}$ hasta alcanzar los -30°C .
6. Se equilibra 15 minutos.
7. Se sumerge la pajuela en N_2 líquido.
8. Descongelación: se descongela la pajuela a baño maría a 30°C durante 20 minutos.
9. Implante: se realiza la transferencia por el método no quirúrgico inmediatamente en receptoras sincronizadas al estado del desarrollo del embrión a implantar. No deben pasar más de 10 minutos entre la descongelación de la pajuela y el implante en la receptora. El máximo es 20 minutos, debido a que el etilenglicol es más toxico que el Glicerol. Son de destacar los resultados de nuestro laboratorio (Filipiak y Larocca, 2012.)

El siguiente método después de la colección todos los embriones son lavados 10 veces en PBS con albúmina sérica bovina (Holding Media, ABTechnology, USA) y son evaluados y clasificados según las normas de la IETS. Todos los embriones Grado 1 (n=634) y Grado 2 (n=198) en estadio de mórulas a blastocitos expandidos se colocan en una solución con 1,5 M de EG (Vigro Plus, ABTechnology, USA) o 1,5 M de EG más 0,1 M de S (EG+S; Vigro Plus, ABTechnology, USA) durante 7 a 10 minutos y son cargados en pajuelas de 0,25 ml. Se colan en la congeladora de embriones (CL 5000, Freeze Control, Australia) a $-6,5\text{ }^{\circ}\text{C}$, se induce la formación de cristales extra celulares y luego de 10 minutos de estabilización son congelados a $0,6\text{ }^{\circ}\text{C}$ por minuto hasta alcanzar los $-35\text{ }^{\circ}\text{C}$. Inmediatamente después son introducidos en nitrógeno líquido ($-196\text{ }^{\circ}\text{C}$) para su almacenamiento hasta el momento de la transferencia a las vacas receptoras (Bo et al, 2004).

Estos métodos utilizando dos soluciones, una solución de equilibrio (5% glicerol + 5% etilenglicol + 0.2 M sucrosa + 10% suero fetal bovino + 50 $\mu\text{g/ml}$ gentamicina) a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$, donde el embrión permanece por 5 min, y una solución de vitrificación (20% glicerol + 20% etilenglicol + 0.5 M sucrosa + 10% suero fetal bovino + 50 $\mu\text{g/ml}$ gentamicina) donde se mantiene al embrión por 1 min. El embrión se coloca en pajuelas de 0.25 ml (1 embrión por pajuela) y es sumergido de inmediato en el nitrógeno líquido.

En el método de congelación lenta los embriones se colocan en solución de congelación (10% etilenglicol + 10% SFB + 50 $\mu\text{g/ml}$ de gentamicina) a $26\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 5 min y envasados en pajuelas de 0.25 ml. El descenso de temperatura se realiza en una tasa de $0.12\text{ }^{\circ}\text{C/min}$ en 3 horas, luego a $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, y finalmente se sumergieron las pajuelas en el nitrógeno líquido (Vazquez et al, 2011).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

Este experimento se realizó en un rancho ganadero ubicado en el Municipio de Cuatro Ciénegas Coahuila, ubicado a 102° 03'59 longitud oeste y 26° 59'10 latitud norte, a una altura de 740 msnm. El rancho cuenta con ganado especializado en producción de carne de las razas Bradford y Angus, contando en total con alrededor de 300 animales.

Animales experimentales:

Los animales utilizados en el estudio fueron de la raza Bradford, siendo vaquillas primíparas con un peso aproximado de 360 kg, estas vaquillas estarán alojadas del mes de julio al mes de octubre en praderas artificiales y su dieta será a base de alfalfa a libre pastoreo. Estos animales fueron sincronizados y preparados previamente para recibir un embrión criopreservado en nitrógeno líquido.

Los animales se dividieron en dos grupos I y II. La sincronización para el grupo I (n= 32) fue a base de progestágenos intravaginal durante 7 días, acompañada de una inyección intramuscular de prostaglandina (dosis= 25mg.). Para el grupo II (n= 37) sólo se sincronizó con una inyección intramuscular de prostaglandina con la misma dosis. Se detectó y se anotó el día y la hora del celo tomándolo como base para la transferencia embrionaria que se realizó 7 días posteriores a este.

El embrión congelado estaba a una temperatura de -196°C con el crioprotector a base de etilenglicol el cual fue descongelado en agua al baño maría a 35°C durante 15-20 seg. La transferencia se realizó 7 días posteriores al celo colocándose el embrión en el mismo lado en donde se detectó el Cuerpo Lúteo (C.L.). El diagnóstico de gestación se realizó 40 días posteriores a la transferencia embrionaria.

Variables analizadas

- ✓ Tasa de detección de celos
- ✓ Porcentaje de vaquillas sincronizadas y descartadas para Transferencia de Embriones
- ✓ Tasa de Gestación

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Tabla 1. Tasa de detección de celo en vaquillas Bradford que recibieron un embrión congelado.

Literales distintas difieren estadísticamente P= 0.06

Grupos	N	Celos	% de celos
I	32	27	84.3 a
II	37	24	64.8 b

Como se puede observar en la tabla 1, existe una diferencia entre ambos grupos a favor del I, en donde se usó dispositivo con progesterona; estos resultados coinciden con lo planteado en la literatura que reportan que con la utilización de P4 se busca imitar la fase luteal corta producida previo al reinicio de la actividad sexual cíclica posparto. La utilización de P4 mejora los porcentajes de preñez en animales inseminados artificialmente ya que ésta evita la formación de un cuerpo lúteo de vida corta, por lo tanto, el cuerpo lúteo de la ovulación precedida por el tratamiento de P4 tendrá una actividad normal permitiendo el desarrollo y el mantenimiento de la preñez. (Solorzano et al., 2008).

De acuerdo con Morales y Cavestany (2012) Si se controla la fase folicular junto a la fase luteal se obtiene sincronía del celo y de la ovulación con fertilidad normal. La fase luteal es controlada con la P4, y el desarrollo folicular e inducción de la ovulación es controlado por el estradiol o la GnRH; a partir de esta premisa es que los protocolos para el tratamiento del anestro se basan en la combinación de estas hormonas.

Cuando se aplicó sólo PG la detección de celo fue menor, en un estudio previo en donde se aplican dos dosis de PG con un intervalo de 14 días entre ellas. A los 18 días de la primera inseminación se realizó el primer repaso con IA a celo visto por 5 días (Rusiñol y Cavestany, 2011).

Tabla 2. Tasa de Rechazo de vaquillas Bradford que fueron sincronizadas. Literales iguales no difieren estadísticamente $P > 0.05$

Grupos	Cantidad Celos	Rechazadas	% Rechazo
I	27	4	14.8 a
II	24	7	29.1 a

Según Cutini *et al.*, (2000) se debe considerar la calidad del cuerpo lúteo a partir de su tamaño y consistencia, como un factor asociado al éxito en la selección de las receptoras; sin embargo, no es posible establecer una relación entre la calidad del cuerpo lúteo y la preñez. También dicen que es aceptado que existen factores más importantes a tener en cuenta para descartar o seleccionar una receptora. Entre ellos, haber observado el celo y comprobado la presencia de un cuerpo lúteo funcional, cualquiera fuese su calidad. Probablemente, el empleo de la ecografía y el análisis computarizado de imágenes aportarán en un futuro próximo nuevas herramientas para mejorar la clasificación del cuerpo lúteo.

La eficiencia en la aceptación o rechazo de hembras receptoras de embriones sincronizadas y detectadas en celo previamente se ha visto afectada debido a la utilización de hembras con deficiencias nutricionales, sanitarias, de manejo, entre otras que hacen que los resultados no fueran los mejores. El criterio de selección de estas hembras es debe ser estricto por parte de los profesionales que aplican esta técnica para que se tengan mejor calidad de receptoras a la hora de transferirles un embrión, lo cual ha sido comprendido por los productores que utilizan esta biotecnología en busca realizar mejoras en sus diferentes tipos de explotaciones mediante la aplicación de TE (Duica *et al.*, 2007; Marin, 2012).

Tabla 3. Tasa de Gestación en vaquillas Bradford que recibieron un embrión congelado.

Literales iguales no difieren estadísticamente $P > 0.05$

Grupos	Cantidad Implantadas	Cantidad Preñadas	% de gestación
I	23	5	21.7 a
II	17	7	41.1 a
Total	40	12	30.0%

Los resultados en cuanto a la tasa de gestación de este estudio no son estadísticamente diferentes, debido posiblemente a la n evaluada en ambos grupos, por lo que parte de este trabajo plantea seguir investigando con un mayor número de animales.

Colazo y Mapletoft (2007), llevaron a cabo un experimento en el cual obtuvieron un porcentaje de preñez promedio de 31%. El porcentaje de preñez más alto fue (43%) obtenido cuando un grupo de embriones fue congelado en una pajuela y después del descongelado, se transfirieron solamente los embriones de mejor calidad. Cuando las pajuelas fueron descongeladas y transferidas en forma directa sin tomar en cuanto la calidad del embrión el porcentaje de preñez fue del 22%. Se puede observar que los resultados de este estudio están en el promedio reportado por estos autores.

Se considera que las bajas tasas de preñez, cuando se transfieren embriones de buena calidad, podrían estar relacionados con la raza de la receptora, grado de sincronía entre el desarrollo del embrión y la receptora y calidad del CL. La raza de la receptora ejerce algún tipo de efecto con respecto al tamaño del CL lo cual puede estar ejerciendo un efecto sobre la tasa de concepción. Generalmente se prefieren razas cruzadas antes que las puras y se prefieren animales de origen lechero, particularmente si se trata de vacas o vaquillas jóvenes (Anchondo *et al.*, 2009).

En México, Medrano *et al.* (2013), indican tasas de concepción entre 35 a 65%, dependiendo de la calidad de embriones transferidos y de la habilidad del operador para realizar la TE

V. Conclusión

De acuerdo a los resultados obtenidos se concluye que, con el uso de dispositivo intravaginal en el grupo I, se obtuvo mayor tasa de expresión de celos, no encontrándose diferencias significativas en la tasa de rechazo ni en la tasa de concepción.

VI. Referencias

1. Alberio R.H. 2004. Manejo de Donantes y Receptoras. Pág. 9-12
2. Atencio G.V.J., Dorado M., Navarro E., Pérez E., Herrera B., Movilla J., Espinosa A.J.A. 2014. Evaluation of Ethylene Glycol as a Cryoprotectant in the Sperm Cryopreservation of Trans-Andean Shovelnose Catfish (*Sorubim cuspicaudus*, Pimelodidae). Pág. 271-280.
3. Bó G.A., Moreno D., Cutaia L-E., Caccia M. Tríbulo R.J., Tríbulo H.E. 2004. Fixed-Time Embryo Transfer Programs: Treatments and Factors Affecting Pregnancy Rates. Pág. 1-17.
4. Bolívar P. A. y Maldonado E. J. G. 2008. Análisis de costos de esquemas de transferencia de embriones bovinos utilizados en Colombia. Pág. 351-364.
5. Bolívar P. A. y Maldonado E. J. G. 2010. Racionalidad de los esquemas de superovulación y sincronización en la transferencia de embriones en bovinos: ¿terapéutica basada en la evidencia o ausencia de ética? Pág. 1-12.
6. Colazo M.G., Mapletoft R.J. 2007. Estado actual y aplicaciones de la transferencia de embriones en bovinos. Pág. 20-37.
7. Cutini A, Teruel M, Cabodevilla J. 2000. Factores que determinan el resultado de la transferencia no quirúrgica de embriones bovinos. *Taurus*. 7: 28-39.

8. Duica A.A., Tovia L.N., Grajales L.H. 2007. Factors that affect the reproductive efficiency of the recipient within a bovine embryo transfer program. *Revista de Medicina Veterinaria. Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia. Universidad Nacional de Colombia.* Pág. 107-124.
9. Filipiak Y., Larocca C. 2012. *Biotecnología en Reproducción Bovina.* Pág. 1-42.
10. Giraldo G.J.J., Ordóñez R.S., Álvarez A.A. 2012. Vitrification as an alternative to conserve in vitro produced embryos. Pág. 38-51.
11. Giraldo*G.J.J., Gómez O.J., Vásquez A.N. 2012. Effect of Dimethylformamide on the post-vitrification feasibility of in vitro produced bovine embryos. Pág.13-20.
12. Gómez OJ, Restrepo BG, Vásquez A. 2010. Efecto del etilenglicol sobre la morfología post desvitrificación en oocitos bovinos inmaduros. *Lasallista Investig.* 7(1): 42-48
13. Mapletoft R.J., Hasler J.F. 2005. Assisted reproductive technologies in cattle: a review. Pág. 393-403.

14. Marín R.J.R. 2012. Factores que afectan la eficiencia reproductiva de la hembra receptora en un programa de transferencia de embriones bovinos. Tesis Profesional. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Pág. 1-112.

15. Martínez B.S., Sánchez A.P.A., Anta J.E., Berruecos V.J.M., Valencia M.J. 2012. Valoración de dos Hormonas Folículo Estimulantes comerciales usadas en la Superovulación de Vacas en lactación y Vaquillas en Ganado Lechero. Pág. 34-38.

16. Medrano R. J., Evangelista V.S., Sandoval M.R., Ruiz G.L., Delgado C.A., Santiani A.A. 2014. Aplicación de la técnica no quirúrgica de transferencia de embriones bovinos en un establo de la cuenca lechera de Lima. Pág. 95-102.

17. Morales J.T., Cavestany D. 2012. Anestro posparto en vacas lecheras: tratamientos hormonales. Pág. 19-27.

18. Moyano B.M.A., Eduardo R.C. 2014. Suplementación energética y su efecto en el nivel de colesterol y el perfil hormonal preovulatorio en vacas. Pág. 90-96.

19. Ortega S.J.L., Favela R.J.E., Hernández S.J.R., Pawoli G.C.B. 2011. Efecto de la aplicación de un implante de progesterona en vacas

repetidoras Holstein-Friesian en la Comarca Lagunera, México. Pág. 73-78.

20. Ramón C.J.C. 2013. "Evaluación de dos Agentes Crioprotectores no Permeables y un Diluyente Comercial (Triladyl) en la Congelación de Semen Bovino". Pág. 4-65.
21. Regalado G.M.E., Sarramone C.G., Dick A. 2012. Seguimiento del comportamiento de celo mediante observación visual y pintura asociado a estructura folicular y/o ovulación en bovinos sincronizados con protocolos de IA. Pág. 1-24.
22. Rengifo O, Murga L, Vazquez M, Alvarez Y, Chipana O. 2011. Efecto de dos dosis diferentes de eCG sobre la producción de embriones en vaquillas Holstein en condiciones tropicales. Spermova. 1(1): 111-112.
23. Rusiñol C., Cavestany D. 2011. Comparación de tres métodos de sincronización de celos y ovulaciones con y sin inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) en vaquillonas para carne. Pág. 23-28.
24. Solórzano H.C.W., Hernán M.J., Galina H.C., Villa G.A., Vera A.H.R., Romo G.S. 2008. Reutilización de un dispositivo liberador de progesterona (CIDR-B) para sincronizar el estro en un programa de transferencia de embriones bovinos. Pág. 119-135.

25. Uribe V.R., Robledo V.E. 2012. Uso de dispositivos auriculares de norgestomet en inseminación artificial a tiempo fijo en bovinos doble propósito, con amamantamiento permanente. Pág. 63-72.

26. Vásquez E.M., Cueva M.S., Cordero R.A., Gonzales C.M.L., Huanca L.W. 2011. Evaluation of two embryo cryopreservation methods in llama on the in vivo e in vitro embryonic survival rates. Pág. 190-198.