

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN ANIMAL



Uso del semen sexado en la producción de embriones en donadoras por la técnica de superovulación en vacas *Bos indicus*

Por:

Karidia Jiménez Zarate

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Torreón, Coahuila, México
Junio 2026

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN ANIMAL

Uso del semen sexado en la producción de embriones en donadoras por la técnica
de superovulación en vacas *Bos indicus*

Por:

Karidia Jiménez Zarate

TESIS

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

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

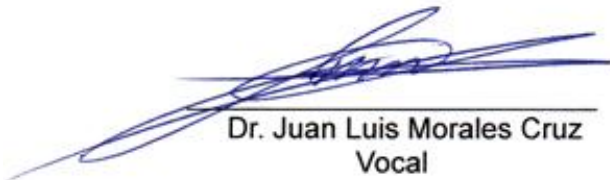
Aprobada por:



Dr. Hugo Zuriel Guerrero Gallego
Presidente



MVZ. Víctor Manuel Di-Bella Rincón
Vocal externo



Dr. Juan Luis Morales Cruz
Vocal



Dr. Juan Manuel Guillén Muñoz
Vocal suplente



MVZ. Eric Alejandro Reyes Ramírez
Coordinador de la División Regional de Ciencia Animal



Torreón, Coahuila, México
Junio 2026

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN ANIMAL

**Uso del semen sexado en la producción de embriones en donadoras por la técnica
de superovulación en vacas *Bos indicus***

Por:

Karidia Jiménez Zarate

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Aprobada por el Comité de Asesoría:



Dr. Hugo Zuriel Guerrero Gallego
Asesor principal



MVZ. Víctor Manuel Di-Bella Rincón
Asesor principal externo



Dr. Juan Manuel Guillén Muñoz
Coasesor



MVZ. Eric Alejandro Reyes Ramírez
Coordinador de la División Regional de Ciencia Animal



Torreón, Coahuila, México
Junio 2026

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por darme fortaleza, sabiduría, salud y claridad en mi mente cuando más lo necesite para llegar a esta meta muy importante en mi vida

A mis queridos padres Hilario Jiménez López y María Zarate González gracias por su apoyo, sacrificio y por motivarme a nunca rendirme. Por creer en tus hijos, su influencia ha sido fundamental para nuestro crecimiento personal y profesional.

A mis hermanos Ing. Keni Yaret Jiménez Zarate, Ing. Humberto Jiménez Zarate y Ing. Luz Ariana Jiménez Zarate que me acompañaron, apoyaron e hicieron sacrificios para que pudiera concluir esta etapa de mi vida.

Al MVZ. Víctor Manuel Di-Bella Rincón por confiar en mí, por su apoyo, orientación y profesionalismo durante las prácticas profesionales en el equipo Di-Bella Embriones, por abrirme las puertas, por permitirme desarrollar este trabajo. Su experiencia, paciencia, tiempo, enseñanzas y disposición para compartir sus conocimientos fueron fundamentales para mi crecimiento, sus años de experiencia en la reproducción son de admiración.

Al MVZ. Moisés Larios González por su apoyo, tiempo, dedicación, por compartir ideas y resolver dudas contribuyeron de manera significativa para este trabajo y formación, admiro mucho todo tu esfuerzo que le pones día a día a tu trabajo, triunfaras.

A mis asesores de tesis Dr. Hugo Zuriel Guerrero Gallego quien fue mi profesor y por quien conocí este mundo de la reproducción bovina, sus clases y la estancia en el CBR los llevo siempre presentes, agradezco su tiempo y dedicación. Dr. Juan Luis Morales y Dr. Juan Manuel Guillen Muñoz por su apoyo, comprensión y sugerencias en este proyecto, admiro mucho su trabajo, así mismo la Dra. Zurysaday Santos Jiménez muchas gracias por su apoyo y ánimos.

DEDICATORIAS

El presente trabajo se la dedico con mucho amor a mis padres Hilario Jiménez López y María Zarate González, por creer, confiar en nosotros y darnos la oportunidad de estudiar una carrera universitaria, por su apoyo incondicional y por todos los sacrificios que tuvieron que hacer para que nosotros tus hijos tuviéramos estudios y permitirnos volar tan lejos de casa. Por ayudarnos a superar muchas altas y bajas que nos da la vida y por todos los valores que nos inculcaron desde pequeños, nunca se equivocaron.

A mis hermanos que también son parte fundamental en este crecimiento, por su apoyo y sacrificios que hicieron durante mis estudios, gracias por siempre escucharme familia.

A mi Alma Terra Mater, mi Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro por ti he llegado hasta acá, he conocido muchos lugares, personas y colegas que me han ayudado a crecer y que aun conoceré.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS.....	v
ÍNDICE DE CUADROS.....	v
RESUMEN	vi
ABSTRACT	viii
I.- INTRODUCCIÓN	1
II.- HIPÓTESIS.....	3
III.- OBJETIVO GENERAL.....	3
IV- OBJETIVO ESPECÍFICOS	3
V.- REVISIÓN DE LITERATURA	4
5.1. Biotecnologías Reproductivas.....	4
5.2 Semen Sexado.....	4
5.3. Uso del semen sexado en programas MOET	5
5.4. Ventajas y desventajas del uso del semen sexado.....	6
5.5 Citometría de flujo en el proceso de semen sexado	7
5.6 Avances del semen sexado	9
5.7 Como afecta el proceso de citometría de flujo a la calidad espermática.....	9
5.8. Donadoras superovuladas con semen sexado.....	10
5.9 Protocolos de superovulación (SO)	11
Protocolos basados en FSH.....	11
Protocolo con eCG (Gonadotropina Coriónica Equina).....	12
Protocolo con el uso de Progesterona + Estradiol + Gonadotropinas	12
5.9.1 Superovulación tradicional o convencional (fase media lútea)	12
5.9.2 Técnicas de recolección de embriones.....	13
5.9.3 Técnica de evaluación de la morfología embrionaria	14
5.9.4 A qué se debe las diferencias de horas de inseminación	17
VI.- MATERIALES Y MÉTODOS.....	18
6.1 Localización del área de estudio y condiciones climáticas	18
6.2 Animales experimentales	18
6.2.1 Selección de donadoras.....	18
6.3.- Diseño experimental	19
6.3.1 Manejo del semen.....	19

6.3.2 Protocolo de superovulación	20
6.3.3 Inseminación artificial de las donadoras	21
6.3.4 Recolección de embriones de las donadoras.....	22
6.4.- Análisis estadísticos.....	23
VII.- RESULTADOS.....	24
VIII.- DISCUSIÓN.....	27
IX.- CONCLUSIÓN	29
X.- LITERATURA CITADA	30

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Representación de la citometría de flujo (Sexing Technologies, 2022). ...	8
Figura 2 Procedimiento de recolección de embriones (Chuga et al., 2021)	14
Figura 3 Esquema de sincronización y productos hormonales utilizados en el rancho el Edén y rancho flor de María, utilizándolo en hembras seleccionadas para la producción de embriones.	22
Figura 4 Método de recolección de embriones por el MVZ. Víctor Manuel Di-Bella Rincón.	23
Figura 5 Correlación entre el porcentaje de recuperación embrionaria con semen sexado respecto a la cantidad de medio utilizado.	25
Figura 6 Correlación entre el porcentaje de recuperación embrionaria con semen convencional respecto a la cantidad de medio utilizado.	25

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1 Parámetros reproductivos y embrionarios de vacas inseminadas con semen sexado y convencional.	26
--	----

RESUMEN

El semen sexado en la actualidad se ha convertido en una herramienta indispensable para mejorar la rentabilidad, genética y la eficiencia reproductiva de los hatos ganaderos de pequeños y grandes productores, así mismo con el uso de semen sexado se puede saber el sexo de las crías antes de nacer, lo que facilita garantizar hembras para el reemplazo o machos para el pie de cría. Si bien también es importante mencionar que el uso del semen sexado no solo se limita su uso en la inseminación artificial (IA) sino que se puede aplicar en otras biotecnologías reproductivas como lo es la producción *in vivo* e *in vitro* de embriones. Al combinar estas biotecnologías se logra un gran salto en el mejoramiento genético. Sin embargo, la aplicación del semen sexado en la producción de embriones aún tiene algunas lagunas y limitantes que provoca resultados variables por tal motivo, el objetivo de este estudio fue evaluar el desempeño reproductivo de las donadoras *Bos indicus* de dos ranchos los cuales fueron tratados con un protocolo de superovulación, utilizando semen sexado para la producción de embriones. Para ello, se trabajó a las donadoras previamente seleccionadas por su condición corporal, historial reproductivo sin patologías. Se aplicó un protocolo convencional de superovulación ovárica con FSH y posterior inseminación empleando semen sexado. El análisis de los resultados fueron realizados con una prueba de normalidad y homogeneidad de varianza de los datos, la prueba utilizada ANOVA se utilizó para determinar la cantidad de embriones fertilizados, degradados o no fertilizados. Se consideró una diferencia estadística a un valor de $P < 0.05$. Todos los procedimientos fueron realizados con el programa R Studio. Donde se mostró

que por servicio de 2.5 ± 0.2 la recuperación de embriones con semen sexado fue 74.4% vs 38% con convencional. Así mismo también en el análisis se observó que la cantidad del medio utilizado y el porcentaje de recuperación de los embriones fueron bajos para ambos ranchos.

Palabras clave: *Semen sexado Embriones, Superovulación, Bos Indicus*

ABSTRACT

Sexed semen has become an indispensable tool for improving the profitability, genetics, and reproductive efficiency of cattle herds, both for small and large producers. Furthermore, its use allows for determining the sex of offspring before birth, facilitating the selection of female replacements or males for breeding stock. It is also important to note that the use of sexed semen is not limited to artificial insemination (AI) but can be applied to other reproductive biotechnologies, such as *in vivo* and *in vitro* embryo production. Combining these biotechnologies leads to significant advancements in genetic improvement. However, the application of sexed semen in embryo production still has some limitations and shortcomings, resulting in variable outcomes. Therefore, the objective of this study was to evaluate the reproductive performance of *Bos indicus* donor cows from two ranches treated with a superovulation protocol using sexed semen for embryo production. For this purpose, donor cows were selected based on their body condition and unpathological reproductive history. A conventional ovarian superovulation protocol using FSH was applied, followed by insemination with sexed semen. Data analysis was performed using a normality and homogeneity of variance test. ANOVA was used to determine the number of fertilized, degraded, or unfertilized embryos. A p -value < 0.05 was considered statistically significant. All procedures were performed using R Studio software. The results showed that, per service (2.5 ± 0.2), embryo recovery with sexed semen was 74.4% versus 38% with conventional semen. The analysis also revealed that the amount of medium used and the percentage of embryo recovery were low for both ranches.

Key words: *Sexed Semen, Embryos, Superovulation, Bos Indicus.*

I.- INTRODUCCIÓN

Se estima que para el año 2050 debido al crecimiento e incremento de la población mundial los productos derivados del ganado bovino carne, lácteos, productos de aves como el huevo y otros subproductos de diferentes animales tendrán un aumento ascendente el cual no podrían estar al alcance en la escala necesaria para su consumo (OCDE-FAO,2025). Por tal motivo hoy en día se están buscando alternativas que ayuden a mejorar la eficiencia productiva de una explotación ganadera bovina donde incluyen el manejo reproductivo, alimentación, genética, entre otros (Baruselli *et al.*, 2020). Así mismo el uso de las biotecnologías reproductivas se han planteado como una opción viable para mejorar los resultados en la productividad y mejoramiento genético. Dentro de las biotecnologías reproductivas en el ganado bovino se encuentran: la inseminación artificial (IA) con semen convencional o sexado, producción de embriones *in vitro* (PIVE) e *in vivo*, aspiración intrafolicular u ovum pick-up (OPU), criopreservación de semen y embriones, selección genómica y lo más nuevo la edición genética (Viana, 2024). En este caso hablando del semen sexado (Rosete *et al.*, 2022), utilizándose en compañía de tres biotecnologías más como la superovulación, transferencia de embriones (MOET) y la PIVE se han obtenido resultados desde el 70 al 90% de su eficiencia a la selección de cría deseada (Ferre y Cattaneo, 2013). La utilización del semen sexado en comparación al semen convencional tiene una gran diferencia en su uso ya que con el semen convencional hay una probabilidad del 50:50 que la cría sea macho u hembra (Callejas, 2013). Actualmente, el sexado de semen, sexado de embriones han demostrado eficiencia en su uso en varios ranchos, es por ende

que propietarios de los ranchos prefieren su uso para garantizar el sexo deseado y las características reproductivas deseadas (Marizancen *et al.*, 2017), esta tecnología en el ganado nos abre las puertas en aprovechar el potencial que nos brinda una hembra donadora y un macho de selección (Castellano, 2021). Una de las partes fundamentales de estos trabajos es la superovulación que consta de la aplicación de hormonas exógenas como la hormona foliculoestimulante (FSH) en dosis de mayor a menor, en una duración de 3 a 4 días para tener un crecimiento múltiple de folículos ováricos (Bó & Mapletoft, 2020).

No obstante, hoy en día el uso de semen sexado en la producción de embriones por las dos técnicas (*in vivo* e *in vitro*) han tenido resultados variables y su aplicación no ha sido a grande escala. Posiblemente debido a los múltiples factores que se pueden presentar como lo son: la raza, la selección de la donadora, la selección del toro, la técnica de criopreservación de semen, protocolo de superovulación y el tipo de semen (convencional o sexado). Por tal motivo el objetivo de este estudio fue evaluar la producción de embriones por la técnica *in vivo* utilizando semen convencional y sexado con un protocolo de superovulación en bovinos *Bos Indicus*.

II.- HIPÓTESIS

El uso del semen sexado en la superovulación de donadoras *B. Indicus* puede ser una alternativa viable para mejorar la producción de embriones en comparación al semen convencional.

III.- OBJETIVO GENERAL

Comparar la fertilidad entre semen sexado y convencional en donadoras *Bos indicus* superovuladas en dos ranchos ubicadas en Veracruz y San Luis Potosí

IV- OBJETIVO ESPECÍFICOS

- Evaluar el impacto del semen sexado en la fertilización y viabilidad de los embriones recolectados
- Evaluar la producción de embriones con semen sexado y convencional en Bovinos *B. indicus*
- Determinar la cantidad de embriones producidos
- Comparar la eficiencia reproductiva que tiene el semen sexado y convencional
- Factores que intervienen en la producción de embriones utilizando semen sexado.

V.- REVISIÓN DE LITERATURA

5.1. Biotecnologías Reproductivas

Las biotecnologías reproductivas son diseñadas para ser aplicadas en el sector pecuario con el fin de una mejora genética y la disseminación del mismo (Maricancen y Artunduaga, 2017). Dentro de estas biotecnologías tenemos la Inseminación Artificial (IA), Transferencia de Embriones (TE), Sexado de espermatozoides y embriones, producción *in vitro*, Clonación de células somáticas y por último la Transgénesis (Ugalde, 2014), estas tecnologías fueron originadas para incrementar la eficiencia y rentabilidad en la producción ganadera (Urrego y Restrepo, 2006)

5.2 Semen Sexado

En 1971 se llevó a cabo la primera conferencia internacional sobre la realización de la separación de los espermatozoides en los mamíferos (Gómez y Gómez, 2018), en 1987 Johnson y colaboradores desarrollan una nueva técnica que permite separar los espermatozoides con cromosomas X y Y, mediante las diferencias del ADN entre ambas poblaciones celulares con la citometría de flujo (Angell *et al.*, 2009).

El uso del semen sexado de hembras es más rentable para obtener mayor genética y tener un mayor número de producción de leche (Hernández, 2015). El control de sexo tiene una mayor importancia en el uso con técnicas reproductivas como la transferencia de embriones (TE) y *PIVE* (Oses *et al.*, 2009).

5.3. Uso del semen sexado en programas MOET

El ganado *Bos indicus* y *Bos taurus* o la cruce de ambas representa una alta demanda para obtener bovinos en la producción de carne en las zonas tropicales y subtropicales (Contreras *et al.*, 2015). El trabajo que surge uniendo la superovulación y la transferencia de embriones en combinación con el semen sexado nos permite dar un paso más ante la comercialización de animales de una buena línea genética, esta tecnología se basa en la selección de los donantes; la hembra y macho con ciertos fines reproductivos (Oses *et al.*, 2009) En el uso de semen sexado en los protocolos de superovulación se han encontrado resultados menos favorables, en comparación a la producción de embriones con semen convencional (Soares *et al.*, 2011). Una de las principales limitaciones que presentan las hembras donadoras de razas *Bos indicus* y *Bos taurus*, es la detección del estro, donde se han creado protocolos que permiten manipular y sincronizar el ciclo estral (Soares *et al.*, 2011). Actualmente estudios señalan que el fracaso de los programas de MOET con semen sexado es bajo porcentaje de fecundación y no la disminución de la calidad embrionaria, en conclusión, el semen sexado congelado es eficiente en programas MOET, pero si se requiere el uso de 2 o 3 dosis en cada inseminación a tiempo fijo por donante superovulada para poder tener éxito (Sánchez, 2013). Así mismo Argudo (2016), menciona que cuando se utiliza semen sexado y semen convencional del mismo toro en donadoras superovuladas se encontró diferencia en los ovocitos no fertilizados solo con semen sexado con un porcentaje de deferencia 21.8% vs 5.3%.

5.4. Ventajas y desventajas del uso del semen sexado

El uso del semen sexado incrementa el número de becerras en el hato, así como también la disponibilidad para recría o venta. Esta tecnología facilita que empresas ganaderas obtengan beneficios como en la facilidad de parto y mejor producción de leche (Hernández, 2015), dentro de la industria lechera su uso aumenta ya que la posibilidad de obtener hijas hembras es de un 97% y en comparación al semen convencional que es un 50% hembras y 50% machos (Soto, 2021), la aplicación del semen sexado ha probado ser eficiente en diferentes centros de producción en diferentes partes del mundo (Castellano, 2021), además su uso en programas de inseminación demuestran que el porcentaje de preñez es más asertiva en novillas y vaquillas entre un 50 y 55% (Marini y Galassi, 2011).

Soto (2020), menciona que el semen sexado presenta limitaciones como el bajo porcentaje de gestación, los resultados en campo mostraron que el semen sexado presenta un 15% menos en la fertilidad en comparación al semen convencional en las mismas condiciones (Toro, 2011). Así mismo el semen sexado tiene bajas tasas de concepción en vacas multíparas, lo que hace solo más efectivo en novillas (Marini y Galassi, 2011) o bien los resultados pueden ser variables (Berberis *et al.*, 2008), Otra limitante del semen sexado es el elevado costo de las pajillas en comparación al semen convencional siendo en ocasiones hasta tres veces más costoso (Ferre y Cattaneo, 2013).

5.5 Citometría de flujo en el proceso de semen sexado

Este sistema está basado en que los espermatozoides de los mamíferos con el cromosoma X se encuentran con mayor porcentaje que el cromosoma Y, por la cantidad de cromatina heteróloga (ADN; Franchini *et al.*, 2016) la diferencia de haploides X y Y es aproximadamente (Ferre y Cattaneo, 2013) 3% (Gómez y Gómez, 2018) a 4 % (Ferre y Cattaneo, 2013). El semen recolectado del bovino se incuba con un colorante que pigmenta el ADN de los espermatozoides (Osés *et al.*, 2009), la tinción fluorescente llamada Bisbenzimidazol Hoeschst 33342 (Toro, 2011) una vez sometida a luz láser ultravioleta se activa esta fluorescencia a mayor pigmentación es cromosoma X (Hernández, 2015) y en menor cantidad de ADN es el cromosoma Y (López *et al.*, 2001). La citometría de flujo consta de en un circuito cerrado con mucha rapidez de flujo líquido que organiza y analiza los espermatozoides X y Y por microgotas (Osés *et al.*, 2009), la pigmentación de cada espermatozoide se procesa mediante un software que la persona autorizada desee seleccionar con mayor cantidad de ADN, menor o ambas al mismo tiempo (Hernández, 2015), las microgotas llevan por dentro su célula donde reciben cargas eléctricas dependiendo la luminosidad de cada espermatozoides, terminando el proceso se encuentran unas placas magnéticas donde ocurre la separación de cada célula espermática positiva, negativa o bien las que el software no reconozca (Toro, 2011), cada uno con su respectivo tubo colector que contiene diluyente Test- Yema, que mantiene con vida a los espermatozoides (Toro, 2011) hasta su posterior congelación (Osés *et al.*, 2009) utilizándolo antes de las 24 hrs (Franchini *et al.*, 2016).

De un total del 100% de semen introducido el 20% corresponde a espermatozoides X, otro 20% al Y y lo que resta que sería el 60% son espermatozoides no detectados, sin movimiento, otras gotas sin ningún espermatozoide, etc (Hernández, 2015), dando así 6 a 8 pajillas de semen para su inseminación por hora (Filipiak *et al.*, 2017), cada dosis contiene aproximadamente 90% del sexo que se ha elegido para su determinado trabajo (Castellano, 2021) no obstante puede variar entre el 87 al 95% conforme la persona encargada del trabajo elija, la rapidez de la citometría de flujo y las diferencias de la colecta de eyaculado por toro (Toro, 2020).

El semen sexado bovino tiene una presentación de 0,25 ml en pajilla (Osés *et al.*, 2009) que contiene aproximadamente 2 millones de espermatozoides a diferencia del semen convencional que contiene 20 millones (Toro, 2020).

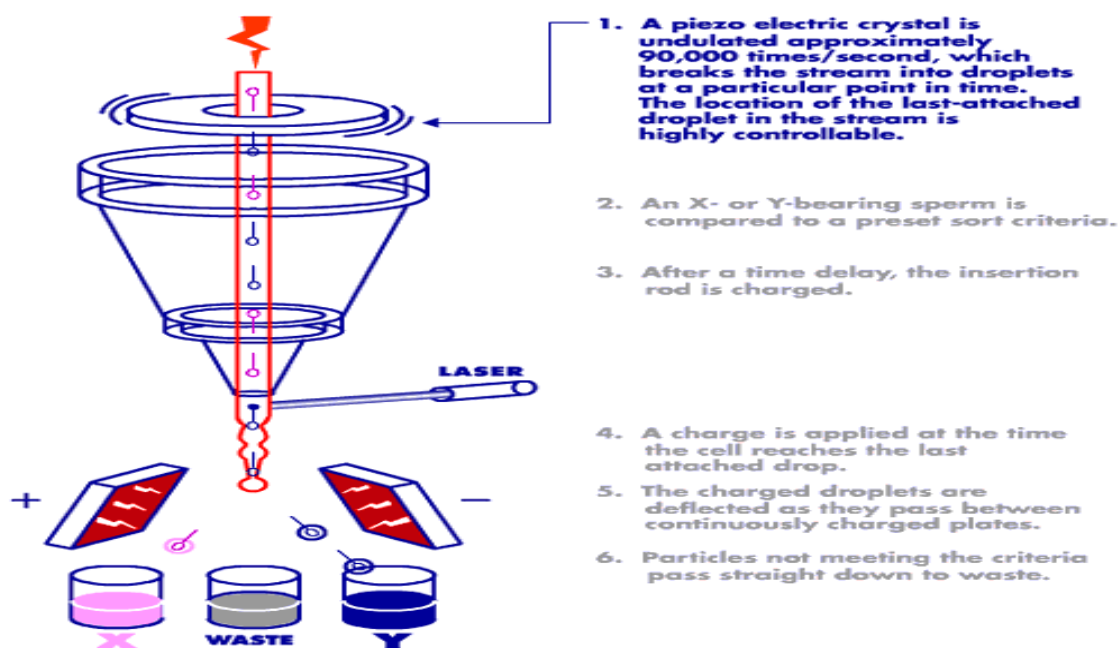


Figura 1 Representación de la citometría de flujo (Sexing Technologies, 2022).

5.6 Avances del semen sexado

La empresa Sexing Technologies llevó a la realidad a la comercialización del semen sexado, a principios del 2015-2017 comenzó con una nueva tecnología llamada SexedULTRA 4™, iniciando con nuevos métodos de manejo y chequeo antes de su separación X y Y, principalmente en el medio utilizado en el momento de la separación, siendo esta más inocuo impidiendo cambios en el pH y la temperatura manteniéndolo en su totalidad de los espermatozoides (Bo *et al.*, 2018). el semen sexedULTRA4™ brinda un incremento en las gestaciones por vaca (Brito *et al.*, 2016) con un 3% de fertilidad (Sexing Technologies®, 2022).

En el 2022 nuevamente Sexing Technologies da a conocer una más de sus innovaciones en semen sexado nombrado UltraPlus, esta se destaca por tener mayor tasa de concepción gran parte se notó el resultado en vacas lecheras, también ofrece a los productores un 3% más de fertilidad a la tecnología anterior (Sexing Technologies®, 2022), esto gracias a la datos que se tomaron en cuenta realizados en 72 lugares de trabajo, 52 toros de diferentes razas y aproximadamente más de 15,000 inseminaciones en vacas, resultando una ganancia notoria del 14% del total del inicio de la tecnología. (Albaitaritz Genetics, 2022).

5.7 Como afecta el proceso de citometría de flujo a la calidad espermática

En el momento en el que los espermatozoides se separan sufren cambios celulares, perjudicando la membrana celular y restringiendo la viabilidad, fecundación, apresurar el desarrollo de reacción acrosomal luego de la criopreservación

(Jaramillo, 2012; Toro, 2020) y así también una tensión mecánica y química donde afectan a los espermatozoides, trayendo consigo baja fertilidad (Toro, 2020).

En el proceso de criopreservación del sexado de semen se ven afectado el acrosoma, núcleo, mitocondrias, axonema, membranas plasmáticas (Toro, 2020) y también causa una reducción perceptible en la longevidad de la molécula del ADN (Jaramillo, 2012), por otra parte, el cambio brusco de temperatura que pasa el espermatozoide de 37 a 5°C genera un estrés térmico (Toro, 2020). Se ha encontrado que los espermatozoides que pasan por estos procesos tienen la habilidad de llegar a fecundar a consecuencia de los cambios que sufren en la membrana plasmática (Jaramillo, 2012).

5.8. Donadoras superovuladas con semen sexado

El inicio de la ovulación múltiple o superovulación (SO) y la TE surgió en los años 70 como una biotecnología más dentro de la reproducción bovina con el fin de aumentar la capacidad reproductiva de la hembra bovina donante de embriones (Alberio, 2013).

La superovulación es provocar un cambio hormonal en el ovario para tener un incremento en cantidad de folículos que se llegaran a producir en el estro de la vaca donadora (Fernando y Cáceres, 2011), mediante la aplicación exógena de gonadotropinas (Mogollón y Burla, 2013). Las gonadotropinas más utilizadas en vacas para su ovulación múltiple son: Hormona Folículo Estimulante (FSH), Gonadotropina Coriónica equina (eCG; Fernando y Cáceres, 2011), Gonadotropinas de extractos de cerda (Fernández, 2014). La SO en vacas tiene la finalidad de

producir una mayor cantidad de embriones en un ciclo estral, a diferencia de una ovulación común (Mogollón y Burla, 2013). De esta manera estos trabajos son diseñados específicamente en vacas de alta genética para que se obtengan un número mayor de crías (Fernando y Cáceres, 2011). Sin embargo, debemos saber que existe una variabilidad en la respuesta de los tratamientos de SO. Posiblemente esta variabilidad se deba a factores como el tipo de tratamientos, tipo de gonadotropina, dosis y vía de aplicación. Así como problemas relacionados con las oleadas foliculares y , manejo de los animales que pudiera generar un estrés (Mogollón y Burla, 2013).

5.9 Protocolos de superovulación (SO)

Como ya se mencionó anteriormente los tratamientos de SO consisten en utilizar gonadotropinas con el objetivo primordial de obtener un mayor número de folículos ováricos, ovulaciones múltiples y como consecuencia un número elevado de embriones (Naranjo *et al.*, 2020).

Protocolos basados en FSH

Aplicados en programas comerciales, donde se observaron buenos resultados; utilizándolo durante 4-5 días en 2 aplicaciones de manera decrecientes, combinada con prostaglandinas ($\text{PGF}_2\alpha$) para la luteolisis y también así mismo la GnRH para la ovulación (Pinto *et al.*, 2022).

Protocolo con eCG (Gonadotropina Coriónica Equina)

El uso de esta hormona en el ganado bovino es de una sola aplicación con función de FSH y LH, a una dosis de 2000-2500 UI normalmente en el día 10 del ciclo estral (Naranjo *et al.*, 2020)

Protocolo con el uso de Progesterona + Estradiol + Gonadotropinas

La técnica que consta de la aplicación de dispositivos intravaginales liberadores de progesterona de manera controlada es una de las más utilizadas para la sincronización del ciclo estral, inducir el estro y controlar la ovulación de las vacas, permitiendo controlar la actividad del eje hipotálamo-hipofisis-ovario (Chenault *et al.*, 2003). La combinación de estas hormonas en el protocolo de SO permite el control y sincronía de una nueva oleada folicular en cualquier etapa del ciclo estral de la hembra donadora. La base de este protocolo inicia utilizando un dispositivo intravaginal de liberación de progesterona (DIV), que tiene como finalidad provocar la fase lútea e iniciar con una nueva oleada folicular. Así mismo, el estradiol permite la regresión del folículo dominante, iniciando una nueva oleada (Martínez *et al.*, 2007). Una vez sincronizada la onda folicular de 3 a 5 días después, se da inicio la SO con FSH de mayor a menor dosis al momento de la aplicación provocando múltiples folículos, la aplicación de $\text{PGF}_2\alpha$ es usada también para la luteolisis en el día 7 de haber iniciado el protocolo. El DIV es retirado en el día 7 (Son *et al.*, 2007).

5.9.1 Superovulación tradicional o convencional (fase media lútea)

Para la producción de embriones consta de la aplicación de hormonas gonadotrópicas (Romo, 2015), donde se administran entre 6 a 7 aplicaciones de manera descendente (Mogollón y Burla, 2013) en intervalos de 12 hrs durante tres

a cuatro días consecutivos (Argudo *et al.*, 2022) la gonadotropina más usada es la FSH (Mogollón y Burla, 2013), la hembra bovina es inseminada con semen bovino convencional, sexado o bien la monta natural así al aplicar hormonas tenemos como respuesta un mayor número de embriones (Romo, 2015)

El uso de semen sexado con la Transferencia de Embriones y la superovulación, han tenido un mayor uso en trabajos realizados para tener hijas de alto valor genético versus con semen no sexado (Osés *et al.*, 2009). la Transferencia de embriones por Ovulación Múltiple (MOET) logran alcanzar 5 o 6 embriones por recolección y de 5 a 7 trabajos por donadora al año con una concepción del 50% al 60% dando un total aproximado de 20 a 24 nacimientos por una donadora con un valor genético garantizado (Mellisho, 2014)

La calidad de los embriones con el uso del semen sexado es menor a diferencia al semen no sexado se deben a algunos factores como a la dosis espermática, la capacidad de fecundación, ovulaciones, lavado, tiempo, etc (Sánchez, 2013). La eficiencia de este trabajo se basa en su genética, en las condiciones ováricas, tratamientos que se utilizan para las donadoras antes de su trabajo y el programa de superovulación, etc (Jiménez, 2009).

5.9.2 Técnicas de recolección de embriones

Estos son recolectados mediante una técnica no quirúrgica (Fernández, 2014), por medio de un lavado uterino que se realiza en el día 7 (Hansen, 2020) ya que es el momento óptimo para la recolección de embriones con un 90% de efectividad, en la etapa en el que embrión está en la etapa mórula tardía y blastocistos (Niemann *et al.*, 1998), donde se utiliza un catéter tipo Foley de 2 vías, consta de una entrada

para llenar de aire o líquido a la parte inflable cerca de la punta que impide el paso del líquido a utilizar, 1) la primera vía entrada de líquido, 2) para la salida del líquido con los embriones que se centran en un filtro (Fernández, 2014), para luego pasarlos en una Placa de Petri cuadriculada (o con retícula) para después ser observados en estereoscopio, se analizan las calidades y seleccionan los embriones que serán aptos para su transferencia en fresco o congelación y se empajillan (Romo, 2015).

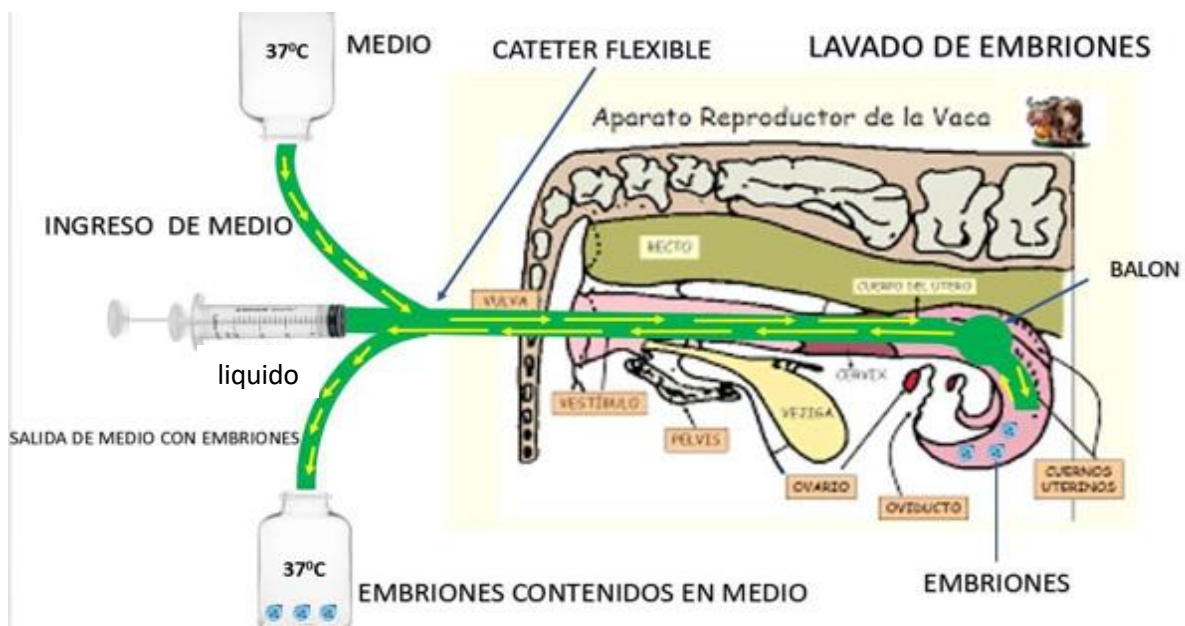


Figura 2 Procedimiento de recolección de embriones (Chuga et al., 2021)

5.9.3 Técnica de evaluación de la morfología embrionaria

La calidad de la morfología en los embriones *in vivo* es un método muy conocido en la reproducción bovina para conocer la calidad y viabilidad de los embriones en trabajos de superovulación y respectivamente transferencia de embriones,

mediante la observación microscópica con un estereoscopio (Manickavasagan y Madan, 2024)

La International Embryo Transfer Society (IETS) propone que la evaluación morfológica se realice en el día 7 y 8 post-fecundación, en el estadio de mórula o blastocisto momento ideal para observar el estado de desarrollo y calidad del embrión (ARBiotech, 2018), donde se tomaran en cuenta la simetría, forma, tamaño, clasificación del embrión, calidad de la zona pelúcida, inclusiones citoplasmáticas, presencia de restos citoplasmáticos y la composición, aspecto del citoplasma (Jahnke *et al.*, 2017).

Etapas de desarrollo de embriones transferibles:

- Óvulo (etapa 1 IETS): Estructura no fertilizada. .
- Estructura de 2-12 células (etapa 2 IETS): óvulo fertilizado y dividido, contiene menos a 16 células.
- Mórula temprana (etapa 3 IETS): embrión con 16 o más células, blastomeros aun sin compactarse.
- Mórula compacta (etapa 4 IETS): embrión con una masa celular compactada, sin la presencia del blastocelo.
- Blastocisto temprano (etapa 5 IETS): embrión que ha formado un pequeño blastocelo ocupando menos de la mitad de la zona pelúcida.
- Blastocisto maduro (etapa 6 IETS): embrión con un blastocelo desarrollado, comenzando se expandir, con una masa celular más compactada.

- Blastocisto expandido (etapa 7 IETS): Estructura con un blastocele totalmente desarrollado, ocupando casi todo el espacio de la zona pelúcida, provocando que esta se comience a adelgazar.
- Blastocisto eclosionado (etapa 8 IETS): Embrion que ha roto la zona pelúcida para continuar su desarrollo.
- Blastocisto expandido eclosionado (etapa 9 IETS): embrión roto, circular a ovoide y tamaño aún más diferente al resto. Conforme van pasando los días se van alargando más.

Las calidades de los embriones basadas en al IETS de 1 al 4:

1. Excelente o bueno: la masa es equilibrada y redonda con blastómeros individuales definidos, buen tamaño, buena coloración y densidad. Defectos mínimos y con un 85% de la masa embrionaria intacta y viable, la zona pelúcida debe ser lisa, no debe ser cóncavas o plana. Aptos para su comercio internacional.
2. Regular: Irregularidades menores en la forma de la masa embrionaria, tamaño, coloración y densidad en las células individuales. Un 50% de la masa debe ser intacta y viable.
3. Mala: anomalías importantes de la masa del embrión tamaño, tonalidad y densidad del embrión, 25% de la masa celular intacta, presenta poca viabilidad para su transferencia o congelación.
4. Degenerado o sin fertilizar: estructuras con su totalidad de masa celular degenerada óvulos sin fertilizar (Robertson, 2001).

5.9.4 A qué se debe las diferencias de horas de inseminación

El momento óptimo para la inseminación artificial con semen sexado tiene que ser a las 12 a 18 hrs de la presentación del estro, lo más próximo a la ovulación (Villagrasa y García, 2020). Garantizando mayor cantidad de espermatozoides viables existentes en el oviducto para fecundar el ovocito y tener mayor aumento por concepción (Villagrasa y García, 2020). Los espermatozoides del semen sexado tienen un tiempo de corta duración de supervivencia en el tracto uterino (Souza, 2013).

La inseminación después de la ovulación no es recomendable ya que producen embriones de muy mala calidad esto debido a que se encuentran muchas pruebas científicas de que el tiempo de vida después de la ovulación está restringida de 6 a 10 horas y la vejez de los ovocitos es dañino para la calidad del embrión asimismo puede ocurrir el envejecimiento del ovocito antes de la unión del óvulo y el espermatozoide (Sales *et al.*, 2011).

VI.- MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Localización del área de estudio y condiciones climáticas

El trabajo presentado se llevó a cabo en dos ranchos ganaderos, el primero es “El Edén” ubicado en Ozuluama municipio de Veracruz con una latitud norte de 21° 24’ y 22° 00’, longitud Oeste 97° 23’ y 98° 10’, con 100 m. s. n. m. y el segundo “Flor de María” localizado en Tampamolón, San Luis Potosí con latitud norte 21° 39’ y 21° 27’, longitud Oeste 98° 40’ y 98° 54’, altitud de 30 y 500 m. s. n. m. Ambas producciones se encuentran en la región de la Huasteca, una zona Tropical con un clima cálido y húmedo donde se presentan temperaturas promedio de 24- 26° C, pero se llegan a alcanzar temperaturas de hasta 40° C (INEGI, 2010).

6.2 Animales experimentales

El presente trabajo se realizó durante el periodo de 2020 a 2024, donde se utilizaron 15 vacas donadoras *Bos indicus*, de raza Girolando, Simbrah, Sardo Negro y cruzadas F1 de aproximadamente 3 y 5 años en ambos ranchos.

6.2.1 Selección de donadoras

Las donadoras fueron seleccionadas y evaluadas mediante una revisión a través de la palpación rectal para descartar patologías reproductivas, enfermedades inflamatorias y evaluar su estado reproductivo, se tomó en cuenta el tamaño de los folículos y/o cuerpos lúteos que presentaban las donadoras en ese momento. Las hembras se encontraban en una condición corporal promedio de 3 a 4, esto basado en la escala de 1 al 5 en ganado de leche (Roche *et al.*, 2020). Las donadoras y receptoras deben estar en este rango de condición corporal ya que una baja

condición es una gran limitante para que las donadoras respondan al tratamiento superovulatorio, una C.C alta repercute en la cantidad y calidad de los embriones producidos.

Para la preparación de las donadoras y receptoras el día que fueron revisadas y seleccionadas se aplicaron vitaminas y minerales (Kit Adaptador Min Vit®, Biogénesis Bagó) (Catofos®, Agrovét Market) y 315 mg de ivermectina (Ivergen platinum® 3.15, Biogénesis Bagó) como desparasitante, todo aplicada vía parenteral; además el ganado fue suplementado con sal mineral a libre acceso (Microfos 12%, MNA).

Los animales estaban en un sistema extensivo o de libre pastoreo, la alimentación se basó en forraje verde de pastos de tipo Guinea (*Panicum maximum*) los cuales son endémicos de la zona y brindan una buena oferta forrajera para la dieta del ganado.

6.3.- Diseño experimental

Las donadoras que se trabajaron del rancho Flor de María fueron 7 hembras de la raza Girolando y en el rancho el Edén se trabajaron 8 donadoras de las razas Sardo negro, Simbrah y cruzadas F1.

6.3.1 Manejo del semen

El semen sexado que se utilizó para la producción de los embriones es de la empresa Sexing Technologies, congelado en pajillas de 0.25 ml, el trabajo se realizó con el semen de 3 toros, en el rancho Flor de María se utilizó el toro Girolando Rawhide, el cual fue semen sexado ultra 4M (concentración espermática de 4

millones), en el Edén fueron usados el toro Lutz y Fabrice de la raza Simmental Fleckvieh, las pajillas del toro Lutz fueron ultra 4M, el semen del toro Fabrice tenía una concentración espermática de 9 millones.

El método de descongelación para el semen se utilizó un termo descongelador el cual se le agrego agua a una temperatura de 36° C durante 45 segundos posteriormente se les daba unos pequeños movimientos a las pajillas para posterior cortar y colocarlo en el aplicador para ser introducido en la vaca. El semen se analizó en un microscopio antes de la aplicación esto para medir la calidad, donde se observó que los toros ya mencionados tenían una motilidad del 65% y 50%.

6.3.2 Protocolo de superovulación

El inicio del protocolo de superovulación para las vacas donadoras en ambos ranchos consistió en la inserción de un dispositivo intravaginal de 1 gr de progesterona micronizada (Cronipres®, Biogénesis Bagó) más 2 mg de benzoato de estradiol (Bioestrogen®, Biogénesis Bagó) a las 8 am como día 0. En el día 4 del protocolo se inició la aplicación de FSH-LH a dosis por donadora de 6 -14 ml totales, la aplicación consistió de dosis de mayor a menor (Pluset® CALIER), iniciando la aplicación en dos horarios 8:00 AM y 8:00 PM, nuevamente al siguiente día se repitió la aplicación a las mismas horas, para el día 6 se continuó la aplicando FSH-LH (Pluset® CALIER) a la mismas horas am y pm para ambos ranchos pero ahora agregando 35 mg de Dinoprost (Lutalyse® Zoetis) análogo sintético de la prostaglandina F2 alfa para el rancho Flor de Maria y para el rancho el Edén se le administró 750 mcg de Cloprostenol sódico (Sincroplex* Animal Care Products). En el día 7 como último día de la aplicación de FSH-LH (Plused® CALIER) solo se

administró a las 8 am para ambos ranchos y se retiró el dispositivo a la misma hora y se les aplicó pintura en aerosol (Reveal®, GENEX) en la base de la cola para mejor detección de celo de las vacas donantes.

6.3.3 Inseminación artificial de las donadoras

En el día de la inseminaron de las donadoras se tomaron en cuenta muchos datos importantes desde la disponibilidad de semen que contaban los ranchos, disponibilidad de horario para detectar calores y el momento idóneo de la inseminación. En el día 8 se inseminaron a las donadoras en el rancho Flor de María se dio el primer servicio a las 14 horas, el segundo a las 24 horas y el tercero a las 30 horas después del inicio del celo y en el rancho el edén se detectó celo de las donadoras, se inseminó a las 12 horas después de iniciar celo y se le aplicó 13 mcg de Acetato de Buserelina (Hormona Análogo de GNRH) Gonaxal® Biognesis Bagó, así también se aplicó a rancho Flor de María pero a las 14 horas y en el día 9 es la 2da inseminación a las 24 horas para ambos ranchos nuevamente se le aplica 13 mcg de Acetato de Buserelina (Hormona Análogo de GNRH) Gonaxal® Biognesis Bagó y la tercera inseminación es a las 30 horas después del celo. Por último, el día 16 es la recolección, transferencia o congelación de embriones.

sonda de Foley que es la vía de salida del medio hacia el filtro donde queda atrapados los embriones.



Figura 4 Método de recolección de embriones por el MVZ. Víctor Manuel Di-Bella Rincón.

6.4.- Análisis estadísticos

Para el análisis de los resultados se realizó una prueba de normalidad y homogeneidad de varianzas a los datos. La prueba utilizada fue un ANOVA para determinar la cantidad de embriones fertilizados, degradados o no fertilizados. El paquete estadístico que se utilizó el programa R Studio. Las diferencias fueron consideradas significativas a un valor de $P < 0.05$

VII.- RESULTADOS

El promedio de cuerpos lúteos (CL) de las vacas donadoras Girolando por grupo fue mayor en el grupo de inseminadas con semen sexado (13.6 CL) y para el semen convencional fue de 6.1 CL ($p < 0.05$). Se utilizaron 2.5 ± 0.2 servicios de inseminación para los dos grupos de vacas. Mientras que la tasa de recuperación de embriones fue mayor en el grupo de vacas inseminadas con semen sexado 74.4% en comparación con las vacas inseminadas con semen convencional 38%. Lo cual afectó la cantidad de embriones obtenidos en las vacas Girolando inseminadas con semen sexado siendo mayor que con el uso de semen convencional (139 vs 77, respectivamente; $p < 0.05$).

Por otra parte, en las figuras 4 y 5 se observa la correlación entre el porcentaje de recuperación de embriones del semen sexado y convencional respecto a la cantidad de medio de lavado utilizado. Existió un coeficiente de determinación bajo entre la cantidad de medio con respecto al porcentaje de recuperación tanto con semen sexado y convencional (Fig 4 y 5; $R^2 = 0.1637$ y 0.1616 , respectivamente; $p < 0.05$).

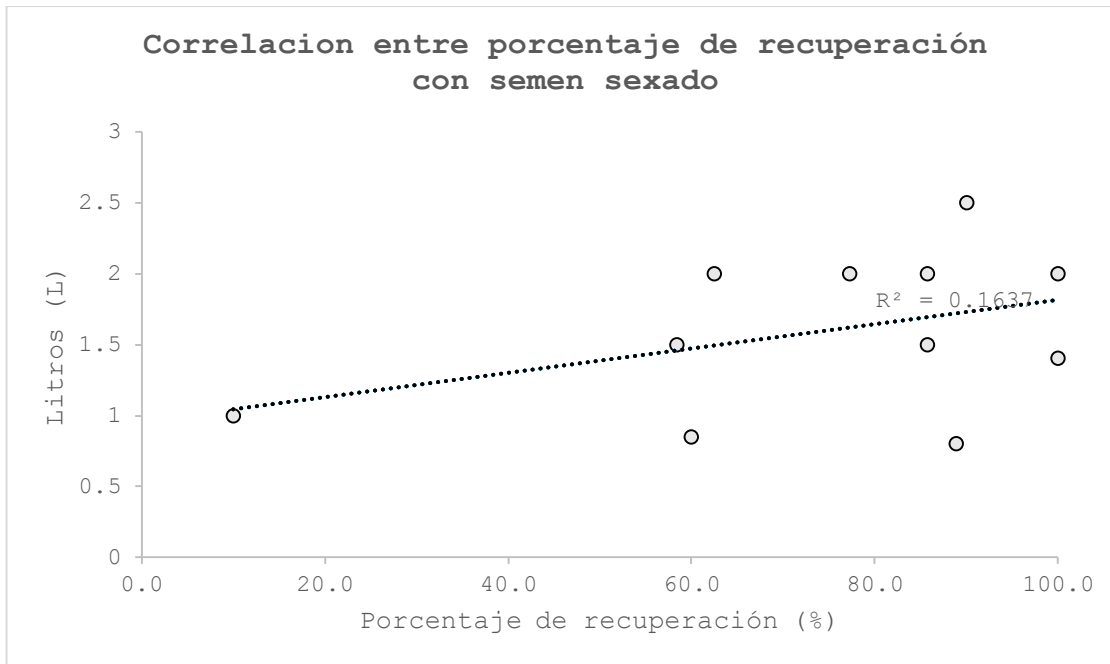


Figura 5 Correlaci3n entre el porcentaje de recuperaci3n embrionaria con semen sexado respecto a la cantidad de medio utilizado.

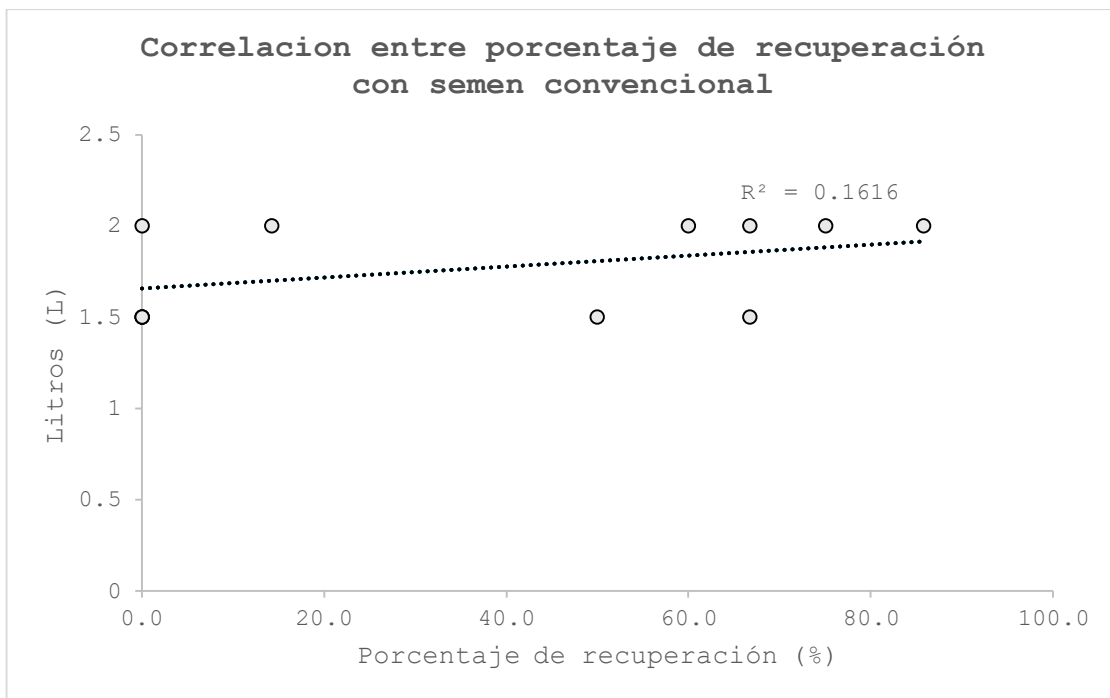


Figura 6 Correlaci3n entre el porcentaje de recuperaci3n embrionaria con semen convencional respecto a la cantidad de medio utilizado

En el cuadro 1, se muestra los parámetros reproductivos y embrionarios con uso de semen sexado y convencional. Pudimos observar una mayor cantidad de embriones colectados con semen sexado ($p < 0.05$). Sin embargo, existió un mayor promedio de embriones fértiles por vaca en vacas inseminadas con semen convencional ($p < 0.05$). Además, aumento la cantidad de embriones no fértiles con semen sexado ($p < 0.05$).

Cuadro 1 Parámetros reproductivos y embrionarios de vacas inseminadas con semen sexado y convencional.

	VACAS DONADORAS	EMBRIONES			
	<i>Resp/vaca (%)</i>	<i>Cant/t_emb (n)</i>	<i>Fert (%)</i>	<i>No_fert (%)</i>	<i>Degen (%)</i>
SEXADO (n=15)	86.7 (13/15)	139 ^a	46.0 (64/139) ^b	53.2 (74/139) ^a	0.7 (1/139)
CONVENCIONAL (n=15)	86.7 (13/15)	77 ^b	61 (47/77) ^a	35.1 (27/77) ^b	5.2 (4/77)

Donde: Resp/vaca = vacas que respondieron al tratamiento de superovulación;
 Can/t_ emb = Cantidad de embriones recolectados; Fert = porcentaje de embriones fértiles; No.fert= porcentaje de embriones no fértiles; Degen= Porcentaje de embriones degradados. a, b = indica diferencia estadística.

VIII.- DISCUSIÓN

La biotecnología reproductiva bovina ha avanzado significativamente en las últimas décadas, especialmente en razas adaptadas a condiciones tropicales como el Girolando, resultado del cruzamiento entre Holstein y Gyr, diseñado para maximizar producción láctea y resistencia ambiental (Faria *et al.*, 2020). En sistemas tropicales, la producción de embriones *in vivo* representa una herramienta estratégica para mejorar la base genética, preservar líneas maternas sobresalientes y aumentar la productividad (Mapletoft y Hasler, 2020). Sin embargo, la eficiencia de la producción de embriones *in vivo* en Girolando suele ser inferior a la observada en razas europeas debido a diferencias fisiológicas relacionadas con el folículo dominante, la dinámica ovárica y la sensibilidad a tratamientos de superovulación (Baruselli *et al.*, 2018).

En nuestro estudio observamos una baja correlación independiente mente del uso de semen sexado o convencional durante la recolección de vacas donadoras Girolando con respecto a la tasa de recuperación de embriones. Diversos estudios han demostrado que un mayor volumen de medio de lavado aumenta la tasa de recuperación embrionaria. Por ejemplo, Pontes *et al.*, (2010), observaron que incrementos de 500 mL a 1,200 mL por cuerno uterino aumentan la tasa de recuperación de 65% a 85% en razas cebuínas. Lo cual fue similar a los porcentajes observados en nuestra investigación que llegaron hasta un 74.4% en vacas inseminadas con semen sexado. Sin embargo, fue mucho menor en el grupo convencional al ser de $38 \pm 9.4\%$. Mientras la cantidad de cuerpos lúteos llego hasta 13.6 CL en vacas inseminadas con semen sexado. En vacas Girolando, volúmenes

de 1,000–1,500 mL se correlacionan con una mayor eficiencia en hembras con más de 10 cuerpos lúteos (Vieira *et al.*, 2018). Se ha determinado que el lavado uterino es una etapa determinante para la recuperación embrionaria y se ha señalado que el volumen debe ajustarse según el tamaño uterino y la respuesta ovulatoria, indicando una correlación positiva lineal hasta aproximadamente 2 L, después del cual los beneficios se estabilizan Mapletoft y Hasler (2020). Sin embargo, en nuestro estudio no observamos diferencias significativas debido a que los rangos de lavado en los dos grupos de vacas donadoras fueron en promedio de 1.8 L por vaca.

La tasa de fertilización fue 46% para los embriones sexados y un 61% para los embriones producidos mediante semen convencional, lo cual concuerda con los resultados descritos por Mapletoft y Hasler, (2020) quienes mencionan que mediante el uso de semen convencional las tasas de fertilización son mayores (65–85%). Referente a la tasa de embriones fértiles se ha mencionado que con el uso de semen sexado se reduce entre un 20% y 40% la tasa de embriones viables en *in vivo* (Seidel, 2014). Lo cual está dentro de los rangos que obtuvimos en nuestra investigación que fue de 46% con semen sexado. En nuestra investigación se realizaron 2.5 ± 0.2 servicios de inseminación para los dos grupos de vacas. En este sentido, se ha mencionado que la fertilización óptima requiere al menos dos inseminaciones con intervalos cortos (Bó y Mapletoft, 2014).

IX.- CONCLUSIÓN

En base a los resultados obtenidos en el presente trabajo se concluye que el uso de semen sexado en la producción de embriones *in vivo* (método de superovulación) representa una alternativa viable, a pesar de presentar una menor tasa de fertilización en comparación del semen convencional.

La técnica de superovulación y transferencia de embriones (MOET) combinada con el uso del semen sexado han demostrado ser una gran herramienta en los programas de mejoramiento genético, logrando rápidamente la multiplicación genética y siendo utilizado principalmente para la producción de hembras de reemplazo o machos reproductores.

X.- LITERATURA CITADA

- Alberio, R. (2013). Nuevas tecnologías reproductivas. aspecto biológico y económico. 1-16.
- Álvarez, H. Urban, D. Velázquez, A. Fernando, J. (2024). Uso y evolución del sexado espermático en bovinos. Revisión. Revista mexicana de ciencias pecuarias. 15(3). 641. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v15i3.6372>
- Ando, T. Kamimura, S. Hamana, K. (2004). Estrous synchronizacion using an intravaginal progesterone device in combination with gnrh or estradiol benzoate characterized by the initial ovarian conditions in japanese black cows. Pubmed. 66 (22). <https://doi.org/10.1292/jvms.66.1497>
- Angell, D. Perez, D. Parreja, A. Camarco, O. Urrego, R. (2009). Efecto de la preparación espermática previo a la fertilización *In Vitro* sobre la membrana plasmática y el ADN de semen bovino sexado. 4(2). 1900-9607.29-34.
- Albaitaritz Genetics. (2022).Ultraplus™ el semen sexado más fértil del mundo. Semen Sexado Ultraplus - Albaitaritz Genetics
- Arbiotech. (2018). Selección de embriones bovinos y evaluación morfológica. https://arbiotech.com.mx/2018/05/12/seleccion-embriones-bovinos-basada-en-la-dinamica-nucleocromosomica/?utm_source=chatgpt.com
- Argudo, D. (2016). Ajustes del tiempo de inseminación con semen sexado en vacas superovuladas. Universidad de Cuenca. 28-30.
- Argudo, D. Sánchez, L. Chauca, J. Alvarado, J. Moscoso, A. Soria, C. (2022). Evaluación de un protocolo simplificado de superovulación en vacas Holstein en producción con semen sexado y convencional. 30(2). 35. <http://www.doi.org/10.53588/alpa.300612>
- Barberis, F. Scandolo, D. Maciel, M. (2008) Efecto efecto del horario y lugar de depósito en el útero en la tasa de concepción de vaquillas Holanda Argentina inseminadas con semen sexado. 1-5.
- Baruselli, P. S. De Sá Filho, M. F. & Ferreira, R. M. (2020) Reproductive technologies in cattle breeding: Integrating management and genetics. Animal reproduction, 17(3), 1-12.
- Baruselli, P. S. De Sá Filho, M. F. Martins, C. M. Nasser, L. F. Nogueira, M. FG. Barros, C. M. Bó, G. A. (2006) Superovulación y transferencia de embriones en ganado *Bos indicus*. ELSEVIER. 65(1). 77-88. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.10.006>

- Bó, G. Huguenine, E. De la mata, J. Carnerio, R. Perez, S. Menchaca, A. (2018). Uso del semen sexado en programas de inseminación artificial a tiempo fijo en vacas y vaquillonas de carne. Universidad Nacional de Villa María. 3-5.
- Bó, G, A., & mapletoft, R, J. (2020). Superstimulation of ovarian follicles in cattle: Review and perspectives. *Theriogenology*, 150, 387-398.
- Brito, L. Vishwanath, R. Heuer, C. Evans, K. (2016). Bovine sexed semen Production and utilization, *Clinical Theriogenology*. 11(3). 297-300.
- Callejas, J. A. (2013). Evaluación del uso de semen sexado en vaquillas holstein de reemplazo.
- Chuga, W. Martínez, R. Cerón, S. Játiva, D. Chamorro, B. Chirán, G. Balarezo, L. Proaño, M. (2021). Transferencia de embriones en bovinos en la provincia de Carchi. *Sathiri* (16) 2, 98-106. <https://doi.org/10.32645/13906925.1074>
- Chenault, J. R. Boucher, J. F. Hafs, H. D. (2003) Synchronization of Estrus in Beef Cows and Beef and Dairy Heifers With Intravaginal Progesterone Inserts and Prostaglandin F₂ α with or Without Gonadotropin-Releasing Hormone. *ELSEVIER*. (19) 2. [https://doi.org/10.15232/S1080-7446\(15\)31390-5](https://doi.org/10.15232/S1080-7446(15)31390-5)
- Contreras, W, O. Alvis, H, R. Gamarra, W, O. Rendon, B. Vega, D, A. Albicker, U. Talamoni, E. Martínez, M. (2015). Effects of sexed semen and interactive effects on commercial in vitro embryo production when oocytes are collected from cows of *Bos indicus*, and *Bos taurus* breeding and crossbred cows of these subspecies. *ELSERVIER*. 156. 58-63. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2015.02.009>
- De Graaff, W. Grimard, B. (2018). Progesterone-releasing devices for cattle estrus induction and synchronization: Device optimization to anticipate shorter treatment durations and new device developments. *ELSERIVIER*. 112. 34-43. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.09.025>
- Fernando, J. Cáceres, G. (2011). Superovulación y transferencia de embriones en vacas lecheras utilizando dos protocolos hormonales. 7-8
- Fernández, E. (2014). Producción de embriones *in vivo* en tres razas de ganado lechero. 6-13
- Ferre, L. Cattaneo, L. (2013). Biotecnologías reproductivas: Producción de embriones y semen sexado. *Rev. Med. Vet. B. Airea*. 2. 28-36.
- Filipiak, J. Larocca, C. Martinez, M. (2017). Behavior of Sexed Frozen-Thawed Bovine Semen on *In Vitro* Fertilization (IVF) Capacitated with two Concentrations of BO versus Percoll. *Int. J. Morphol.* 35(4). <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-95022017000401337>

- Franchini, M, B. Gens, M. Catena, M. (2016). Evaluación del semen sexado y su efecto en índices reproductivos. UNCPBA. 3-12.
- Gómez, A. Gómez, E. (2018). Semen sexado. Biotecnologías de la reproducción en ganado bovino. CALIER. Universidad Alfonso X el Sabio. 60-69.
- Hansen P. J. (2020). The incompletely fulfilled promise of embryo transfer in cattle- why aren't pregnancy rates greater and what can we do about it?. Journal of animal science, 98(11), skaa288. <https://doi.org/10.1093/jas/skaa288>
- Helena, S. P. Fagali, F. F. Gomes, N. S. Kubo, F. P Brunholi, G. A. Mani, F. de Souza, C. A. C. (2024). ¿La combinación de FSH con gonadotropina corionica equina es capaz de modificar el metabolism en folículos antrales bovinos National Library of Medicine. 21 (2). doi: 10.1590/1984-3143-AR2023-0063
- Hernández, F. J. (2015). Parámetros reproductivos en vacas de alta fertilidad, usando semen sexado. 1-10.
- Holden, SA. Butler, ST. (2018). Reseña: Aplicación y beneficios del semen sexado en hatos lecheros y de carne. ELSEVIER. 12. 97-103. <https://doi.org/10.1017/S1751731118000721>
- INEGI. (2010). Compendio de información geográfica municipal 2010 Ozuluama de Macareña, Veracruz de Ignacio de la llave. https://www.inegi.org.mx/contenidos/app/mexicocifras/datos_geograficos/30/30121.pdf
- INEGI. (2010). Compendio de información geográfica municipal 2010 Tampamolón de Corona, San Luis Potosí. https://www.inegi.org.mx/contenidos/app/mexicocifras/datos_geograficos/24/24039.pdf
- Jahnke, M. M. West, J. K. & Youngs, C. R. (2017) Evaluación de embriones bovinos obtenidos in vitro. Clave del veterinario. <https://veteriankey.com/evaluation-of-in-vivo-derived-bovine-embryos/#:~:text=On%20completion%20of%20the%20morphological,discussed%20later%20in%20this%20chapter.>
- Jiménez, C. (2009). Superovulación: Estrategias, Factores Asociados y Predicción de la Respuesta Superovularia en Bovinos. Rev. Med. Vet. Zoot. 59. 197-205.
- Jaramillo, F. (2012). Daño espermático causado por el proceso de selección. Desarrollo y utilización del semen sexado en el rebaño bovino lechero. Universidad Austral de Chile Facultad de Ciencias Veterinarias de Ciencia Animal. 4-14

- López, A. González, A. Santiago, J. (2001). Importancia del semen sexado en la producción animal. Fisiología de la reproducción en rumiantes. Curso internacional reproducción animal. 69-76. https://www.researchgate.net/publication/381280552_II_Curso_Internacional_Reproduccion_Animal_2001?enrichId=rgreq-d8f42db3ee0efedaa3b2a486de09f77f-XXX&enrichSource=Y292ZXJQYWdIOzM4MTI4MDU1MjtBUzoxMTQzMtI4MTI1MDQ2MDY0MkAxNzE3ODc3OTE5NjQw&el=1_x_2&_esc=publicationCoverPdf
- Manickavasagan, S. Madan, P. (2024) Application of imaging and spectroscopy techniques for grading of bovine embryos – a RIVIEW. Front Vet Sci. <https://doi.org/10.3389/fvets.2024.1364570>
- Marini, P. R. Galassi, I. (2011). Relación entre celo- inseminación con semen sexado y porcentaje de preñez en vaquillonas Holstein. 22(1). 52-54
- Marizancen, M. Artunduaga, L. (2017). Mejoramiento genético en bovinos a través de la inseminación artificial y la inseminación a tiempo fijo. Revista de investigation Agraria y Ambiental. 6(2). N 2145-6097. 247-258
- Mapletoft, R. J. & Bó, G. A. (2016). Transferencia de embriones en bovinos. <https://www.ivis.org/library/reviews-veterinary-medicine/transferencia-de-embriones-en-bovinos>
- Martinez, M. F. Kastelic, J. P. Colazo, M. G. Mapletoft, R. J. (2007). Effects of estradiol on gonadotrophin release, estrus and ovulation in CIDR-treated beef cattle. Domestic Animal Endocrinology. ELSEVIER. 33. 77-90. <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2006.04.009>
- Mellisho, E. (2014). Use of sex-sorted sperm for reproductive programs in dairy cattle. SpermoVa. ResearchGate. 4(2). 190-192.
- Mogollón, E. Burla, A. (2013). Superovulación de hembras bovinas: alternativas para reducir el número de inyecciones de FSH. Spei Donuts. 9(18). 38-42.
- Naranjo, C. F. Montien, P. F. Canseco, S. R. Ahuaja, A. C, (2020). Embryo production after superovulation of bovine donors with a reduced number of FSH applications and an increased eCG dose. ELSEVIER. Theriogenology. 141 (1). 168-172. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.09.018>
- Niemann, H. Lamper, WW. Sacher, B. Cruyff, B. (1982). Comparison of survival rates of day 7 and day 8 bovine embryos after fast freezing and thawing, Theriogenology. ELSEVIER. 18(4). 445-452. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(82\)90166-2](https://doi.org/10.1016/0093-691X(82)90166-2)
- OECD & FAO . (2025). Perspectiva agrícola 2025-2050: perspectivas a medio plazo para los mercados agrícolas y alimentarios. Organización para la

- Cooperación y el Desarrollo Económicos y Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. <https://www.oecd.org/agriculture/agr/fao-agricultural-outlook.htm>
- Oses, M, V. Teruel, M. T. Cabodevila, J. A. (2009). Utilización de semen bovino sexado en inseminación artificial, transferencia embrionaria y fertilización *In Vitro*. Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires. 20(2). 138-145. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(02\)01242-6](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(02)01242-6)
- Pinto, R. C. MedVet, PhD, DACT, Departamento de Ciencias Clínicas Veterinarias, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Estatal de Luisiana. (2022). Transferencia de embriones en bovinos. Manual de Merck. https://www.merckvetmanual.com/management-and-nutrition/embryo-transfer-in-farm-animals/embryo-transfer-in-cattle?utm_source=chatgpt.com
- Rivera, M. (2020). Semen sexado: Aumenta hasta 90% la posibilidad de tener una hembra. Revista Genética Bovina Colombiana. <https://revistageneticabovina.com/biotecnologia/semen-sexado/>
- Robertson, E. (2001). NON-SURGICAL EMBRYO TRANSFER. 7TH Edition. AMERICAN ASSOCIATION OF BOVINE PRACTITIONERS SEMINAR. (pp. 11-13), HARROGATE GENETICS INTERNATIONAL, INC.
- Roche, J. R., Friggens, N. C., Kay, J. K., & Berry, D. P. (2020). Body condition scoring and its importance in dairy cattle management. *Animal Reproduction Science*, 219, 106559. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2020.106559>
- Romo, S. (2015). Alternativas tecnológicas para incrementar la eficiencia reproductiva. FESC UNAM. 3-6.
- Rosete, F. Álvarez, H. Urbán, D. Fragoso, A. Aspron, M. Rios, Á. Perez, A. De La Torre, J. (2021). Biotecnologías reproductivas en el ganado bovino: cinco décadas de investigación en México *Rev. mex. de cienc. pecuarias*. 12(3). 2448-6698. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v12s3.5918>
- Sales, J.N.S. Neves, K.A.L. Souza, A.H. Crepaldi, G.A. Sala, R.O.V. Fosado. Hijo, EP. Faria, M. Hijo, M.F.Sá. Baruselli, PS. (2011). Momento de la inseminación y fertilidad en ganado lechero y de carne que reciben inseminación artificial programada utilizando esperma clasificado por sexo. *ELSEVIER*. 76(3). <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2011.02.019>
- Sánchez, D. (2013). Correlaciones entre la calidad seminal del semen sexado y la fertilidad del toro. 37-61.
- Sexing Technologies®. (2022). Ultraplus™ la más nueva tecnología de semen sexado. <https://www.stgen.mx/article/article.aspx?code=5895&language=espanol-mexico&category=2>

- Soares, JG. Martins, CM. Carvalho, NAT. Nicacio, AC. Abreu-Silva, Campos Hijo, EP. Torres, JRS. Sa Filho, MF. & Basurelli, PS. (2011). Timing of insemination using sex-sorted sperm in embryo production with *Bos indicus* and *Bos taurus* superovulated donors. ELSEVIER. 127 (3 y 4). 148-153. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2011.08.003>
- Soo, D. Choe, C. Choi, S. Rae-Cho, S. Kim, H. Han, M. Ryu, I. Suh, G. Kim, U. Kim, I. (2007). Efecto del tratamiento con benzoato de estradiol o GNRH previo a la superestimulación en vacas nativas coreanas (*Bos taurus*) tratadas con CIDR. National Library of Medicine. Pubmed. 100 (1-2). 14-21. DOI: 10.1016/j.anireprosci.2006.06.005
- Soto, A, R. (2020). Efecto del semen sobre la producción de embriones *bovinos in vivo*. 1-20.
- Souza, A. (2013). Uso de semen sexado en explotaciones de ganado lechero y de carne. Dairy Advisor at University of California CEVA S,A Brasil. 1-4
- Toro, D. (2020). Comparación de dos inductores de la ovulación en un programa de IATF con semen sexado en ganadería de Ceba. 22-27.
- Toro, G. (2011). Semen sexado como herramienta de optimización de la producción pecuaria. Innovación y tecnología en la ganadería doble propósito.
- Ugalde, J. (2014). Biotecnologías reproductivas para el siglo XXI. Revista Cubana de Ciencias Agrícola. 48(1). 0034-7485.
- Urrego, R. Restrepo, G. (2006). Implicaciones de la biotecnología reproductiva en la producción animal. Revista CES. 2(2). 1900-9607.64-73.
- Viana, J. H. M. (2024). Development of the world farm animal embryo industry (revision sobre producción y transferencia de embriones IVP). ELSEVIER. (2030). 151-156. https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0093691X24003819?utm_source=chatgpt.com
- Villagrasa, M. Garcia,N. (2020). Optimización de novillas con semen sexado.