

Tasa de preñez en vacas receptoras *brown swiss* cruzadas, transferidas con embriones frescos y congelados

Pregnancy rate in *Brown Swiss* cross-bred recipient cows, transferred with fresh and frozen embryos

Richard Inga Galoc¹, Nilton Luis Murga Valderrama², Ilse Silvia Cayo Colca³

RESUMEN

La presente investigación se realizó con el objetivo de evaluar la tasa de preñez en vacas receptoras *Brown swiss* cruzadas, transferidas con embriones frescos y congelados, en el fundo Campa Flor, distrito de Olleros, región Amazonas, Perú. Se seleccionaron 4 vacas donadoras de la raza Fleckvieh, por genealogía y productividad del lote superior, las cuales fueron sometidas a un protocolo superovulatorio, del mismo modo se realizó un protocolo de sincronización de celo a 12 vacas de la raza *Brown Swiss* cruzadas para la recepción de los embriones, la colecta de embriones se realizó a los 7 días después de la primera inseminación, las cuales fueron clasificadas y seleccionadas logrando transferir 6 embriones frescos y 6 embriones congelados en un estadio de desarrollo Blastocito inicial (6), con calidad excelente (1), la preñez fue confirmada mediante ecografía rectal a los 45 días de haber realizado la transferencia de embriones. Para el cálculo de la tasa de preñez transferidas en frescos y congelados se determinó mediante una fórmula establecida por Niles et al., 2001, donde se determinó que un 50.0% de vacas transferidas con embriones en fresco preñaron y un 33.3% de las vacas transferidas con embriones congelados preñaron, concluyendo así que la transferencia de embriones en fresco presentan un mayor porcentaje de preñez.

Palabras clave: Sincronización, superovulación, tasa de preñez

ABSTRACT

The present investigation was carried out with the objective of evaluating the pregnancy rate in recipient Brown Swiss crossbred cows, transferred with fresh and frozen embryos, in the Campa Flor farm, Olleros district, Amazonas region, Peru. Four donor cows of the Fleckvieh breed were selected, based on genealogy and productivity of the superior batch, which were subjected to a superovulatory protocol, in the same way a heat synchronization protocol was carried out on 12 cows of the Brown Swiss breed crossed for reception. of the embryos, the collection of embryos was carried out 7 days after the first insemination, which were classified and selected, managing to transfer 6 fresh embryos and 6 frozen embryos in an initial blastocyst development stage (6), with excellent quality (1), pregnancy was confirmed by rectal ultrasound 45 days after embryo transfer. For the calculation of the pregnancy rate transferred in fresh and frozen, it was determined by means of a formula established by Niles et al., 2001, where it was determined that 50.0% of cows transferred with fresh embryos became pregnant and 33.3% of the transferred cows with frozen embryos they became pregnant, thus concluding that the transfer of fresh embryos present a higher percentage of pregnancy.

Keywords: Synchronization, superovulation, pregnancy rate

¹Bachiller de la Escuela Profesional de Ingeniería Zootecnista de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza. Correo electrónico: 081005a122@untrm.edu.pe

²Docente de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza. Correo electrónico: nmurga.fizab@untrm.edu.pe

³Docente de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza. Correo electrónico: icayo.fizab@untrm.edu.pe

I. INTRODUCCIÓN

La biotecnología de la reproducción animal se entiende como un componente tecnológico de los sistemas de producción animal que tienen diferentes aplicaciones; lo que complementa los trabajos que se realizan con base en tecnologías tradicionales, como es el caso de algunos sistemas de diagnósticos y de mejoramiento genético, basados en el fenotipo y pruebas de progenie (Cutini et al., 2000).

El principal objetivo de la implantación de técnicas biotecnológicas en la rama de la reproducción como la transferencia de embriones que permite multiplicar rápidamente los animales élite. Existen factores que pueden afectar el uso de estas tecnologías como son la nutrición, la sanidad, el manejo y la eficiencia en la detección de celo.

La reproducción del ganado bovino ha evolucionado de manera acelerada, marcando el inicio de una nueva etapa, esta se caracteriza por el desarrollo de una serie de técnicas que contribuyen a aumentar, en forma rápida la capacidad reproductiva y el mejoramiento genético (Andino, 2014).

Mediante la Transferencia de Embriones (TE) es posible acelerar el progreso genético, ya que al aumentar el número de embriones y terneros se puede determinar el potencial genético de la hembra (Mapletoft y Bó, 2012).

La tecnología de la transferencia de embriones (TE) en bovinos requiere de la selección y el manejo, tanto físico como farmacológico, de las donadoras y las receptoras, y también de la recolección y transferencia de los embriones dentro de un periodo corto y específico después del estro (Mapletoft y Bó, 2006). La TE se realiza desde hace más de treinta años (Merton et al., 2003, citado por Mollo et al, 2007). Hoy en día es muy utilizada en todo el mundo (Cutini, et al., 2000; Duica, et al., 2007) y tiene como principal objetivo la obtención de crías a partir de donadoras genéticamente superiores, utilizando el útero de receptoras de menor valor económico para llevar la gestación a término (Bó et al, 2006).

En la actualidad, algunas de las biotecnologías de reproducción animal asistida que se conocen son una realidad, especialmente en el ganado bovino; cuyo interés por parte de profesionales y productores se hace más evidente cada día en todo el mundo, tal es el caso de la producción de embriones, tanto in vitro como in vivo y dentro de ésta biotecnología, la conservación de embriones mediante la congelación es un tema de vital trascendencia (Córdova et al, 2015)

Los embriones producidos in vivo recogidos pueden transferirse a las receptoras de manera inmediata, que llevarán la gestación a término, o conservarse a bajas temperaturas durante un periodo prolongado,

proceso denominado Criopreservación, que permitirá utilizarlos cuando se estime oportuno (García et al., 2018).

La producción de embriones bovinos producto de fecundación in vivo y la superovulación de vacas de alto valor genético, son herramientas que ofrecen nuevas perspectivas para la aceleración del progreso genético en la ganadería, tanto lechera como de carne. Se sabe hace más de 43 años que la congelación de embriones para su conservación y posterior utilización es una técnica esencial, que tiene como objetivo almacenar los embriones por largos periodos de tiempo y que posteriormente puedan ser utilizados con éxito (Ochoa, 2011)

La utilización de las bajas temperaturas para conservar los embriones producidas por estas biotecnologías se ha convertido en una herramienta indispensable que permite consolidar y aumentar el impacto de estas biotecnologías en la ganadería de cualquier país del mundo; de tal manera que la conservación de embriones bovinos mediante la congelación presenta varias ventajas, desde el punto de vista biológico como comercial (Akyurt et al., 2002; Díez, 2003; Ochoa, 2011).

II. MATERIAL Y MÉTODO

El presente estudio se llevó a cabo en la ganadería Campa Flor, en el distrito de Olleros, provincia de Chachapoyas, en el norte del Perú, en la parte sur del departamento de Amazonas.

Donde se cuenta con más de 80 vacas reproductivamente activas de las razas Brown Swiss y simmental, dentro de las cuales se seleccionaron a 12 vacas receptoras de embriones, de la raza Brown Swiss cruzadas, seleccionadas al azar con las mismas condiciones en cuanto a días abiertos entre 45 a 90 días, sometidas a un único protocolo, edad, condición corporal y número de crías, de las cuales 6 vacas fueron transferidas con embriones en fresco, y 6 con embriones congelados de la raza Fleckvieh.

La metodología estuvo dividida por cuatro fases, para lo cual se trabajó según la metodología de diversos autores con algunas modificaciones para el desarrollo de la presente investigación.

Fase I. Superovulación de vacas donadoras de embriones – MOET

Se seleccionaron 4 vacas donadoras de la raza Fleckvieh, por genealogía y productividad del lote superior, las cuales fueron sometidas a un protocolo superovulatorio.

Para la superovulación de vacas donadoras se utilizó el protocolo estandarizado por la UNTRM-Amazonas.

Se realizó la aplicación de un implante vaginal de

progesterona (DIB® 1.0g), juntamente con una dosis de 2mg de Benzoato de estradiol (Estrovet®) (Bó et al., 1995), en el día 4 se inició la aplicación de la hormona folículo estimulante (Folltropin®) durante 4 días en dosis decrecientes (80mg, 60mg, 40mg y 20mg), el día 7 se retiró el implante, se aplicó una dosis de 500ug. de Cloprostenol (PGF₂∞) (Lutalyse DL®) el día 8 se aplicó 100 ug. de Acetato de Buserelina (Conceptal®). Por la tarde del mismo día se realizó la primera inseminación artificial y el día 9 por la mañana se realizó la segunda inseminación artificial, 7 días después de la primera inseminación se realizó la colecta de embriones con el sistema de circuito cerrado.

Fase II: colecta de embriones

Para la colecta y clasificación de embriones se trabajó según la metodología de (Robertson, 2015); donde se realizó manualmente la evacuación de toda la bosta que se halla en el recto para luego realizar un lavado de toda la parte perianal, posteriormente se realizó un secado total de toda esta zona, mediante palpación rectal se determinó el número de cuerpos lúteos por cada ovario para saber la respuesta ovárica y tener una idea del número de estructuras (ovocitos y embriones) a colectar.

Fase III. Sincronización de celo y transferencia de embriones en receptoras

Las vacas receptoras de embriones fueron sometidas a un protocolo que implica la desparasitación, vitaminización y ejecución del protocolo de sincronización de celo.

Las receptoras seleccionadas fueron hembras mayores a un parto, con una condición corporal mayor a 3,0 (escala del 1 al 5) acorde a su edad, alcanzando el 75% de su peso.

Mediante la evaluación de las vacas se buscó el cérvix sin anomalías, presencia de tono de los cuernos uterinos, y la presencia de estructuras palpables en el ovario (folículos en diversas etapas, cuerpo lúteo y otros).

Para la sincronización de celo se utilizó el protocolo estandarizado por la UNTRM-Amazonas.

La Transferencia de embriones estuvo a cargo de un especialista capacitado y entrenado buscando así obtener buenos resultados en la presente investigación, la transferencia se realizó 7 días post presencia de celo de las receptoras, donde se realizó la transferencia de embriones en fresco a 6 vacas y embriones congelados a otras 6 vacas de la raza Brown Swiss cruzadas.

Los embriones seleccionados a transferir en fresco fueron de un estadio de desarrollo Blastocito inicial (6), con calidad excelente (1).

Los embriones congelados seleccionados fueron

provenientes de una colecta anterior en la estación experimental de Pomacochas – Bongará, la cual se seleccionaron 6 embriones en estadio de desarrollo Blastocito inicial (6), con calidad de excelente (1).

Para realizar la transferencia de embriones frescos se realizó según el Manual (IETS, 2011):

Fase IV. Diagnóstico de gestación

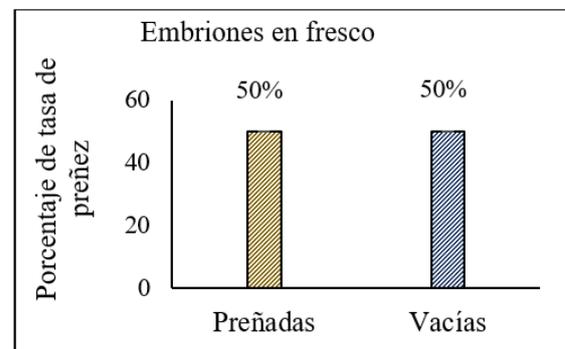
La preñez fue confirmada mediante ecografía rectal a los 45 días de haber realizado la transferencia de embriones tanto en fresco como congelado, utilizando un Ecógrafo Transrectal, la cual fue realizada por un especialista y los resultados obtenidos fueron registrados en una ficha de transferencia.

Para el cálculo de tasa de preñes transferidas en frescos y congelados se trabajó de acuerdo a la fórmula establecida por (Niles et al., 2001).

III. RESULTADOS

Figura 1

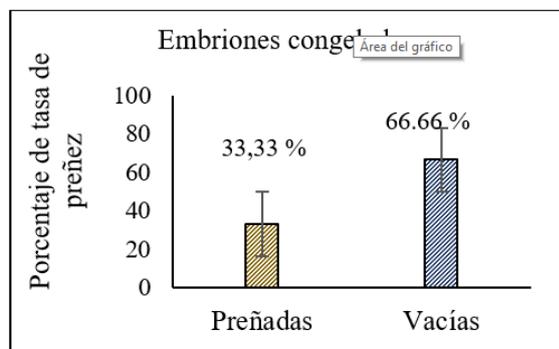
Porcentaje de la tasa de preñez en vacas receptoras Brown swiss cruzadas, transferidas con embriones frescos



En la figura 1 se muestra el porcentaje de la tasa de preñez en vacas receptoras Brown Swiss cruzadas transferidas con embriones en fresco en estadio de desarrollo Blastocito inicial con calidad excelente, donde se determinó que un 50% de vacas receptoras preñaron y un 50% de vacas vacías que no respondieron a la transferencia de embriones.

Figura 2

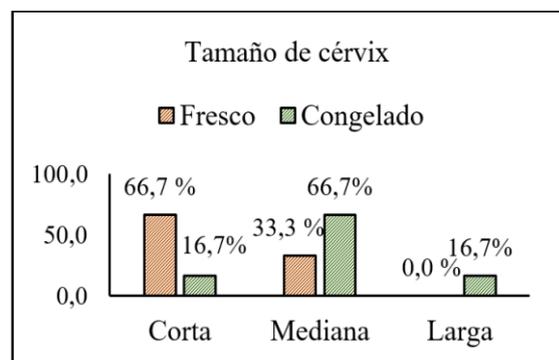
Porcentaje de la tasa de preñez en vacas receptoras Brown swiss cruzadas, transferidas con embriones frescos



En la figura 2 se muestra el porcentaje de la tasa de preñez en vacas receptoras Brown Swiss cruzadas transferidas con embriones congelados en estadio de desarrollo Blastocito inicial con calidad excelente, donde se determinó que el 33.33% de vacas receptoras preñaron y el 66.66% de vacas no respondieron a la transferencia de embriones.

Figura 3

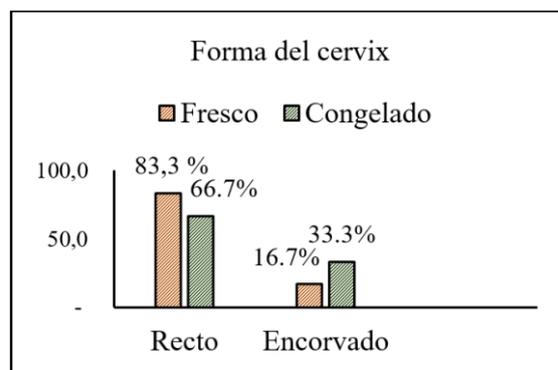
Tamaño del cérvix en vacas receptoras Brown swiss cruzadas, transferidas con embriones frescos y congelados



En la figura 3, se muestra los porcentajes para la variable tamaño del cérvix donde podemos observar que el 66.7% de las vacas receptoras de embriones en fresco presentan un tamaño de cérvix corto y el 33.3% presentan un tamaño de cérvix mediano, por otro lado el 16.7% de las vacas receptoras de embriones congelados presentó un tamaño de cérvix corto, el 66.7% presentó un tamaño de cérvix mediano y el 16.7% un cérvix largo.

Figura 4

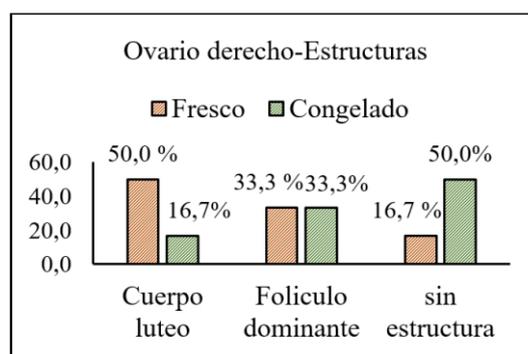
Forma del cérvix en vacas receptoras Brown swiss, cruzadas transferidas con embriones frescos y congelados



En cuanto a la variable forma del cérvix se muestra que el 83.3% de las vacas receptoras de embriones en fresco tiene un cérvix recto y el 16.7% tienen un cérvix encorvado, en cuanto a las vacas receptoras de embriones congelados se muestra que el 66.7% presenta un cérvix recto y el 33.3% un cérvix encorvado como se muestra en la figura 4.

Figura 5

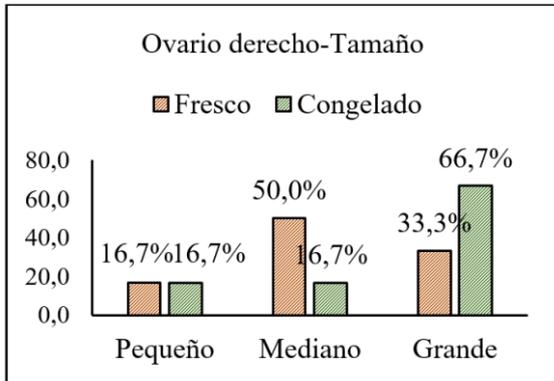
Estructura del ovario derecho en vacas receptoras Brown swiss cruzadas, transferidas con embriones frescos y congelados



En la figura 5, se muestra que el 50.0% de las vacas receptoras de embriones en fresco tienen presencia de cuerpo lúteo, el 33.3% presentan folículos dominantes y el 16.7% no presentan estructuras ováricas, por otro lado el 16.7% las vacas receptoras de embriones congelados presentaran cuerpo lúteo, el 33.3% presentan folículos dominantes y el 50.0% no presentan estructuras ováricas.

Figura 6

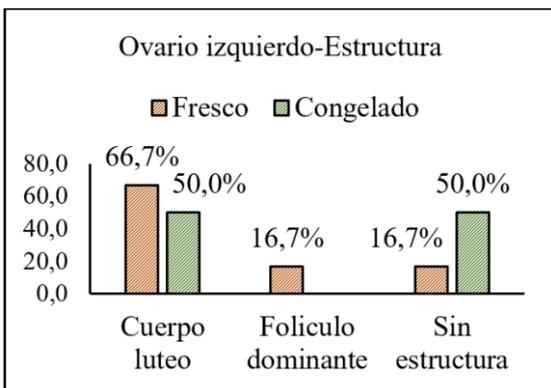
Tamaño del ovario derecho en vacas receptoras Brown swiss cruzadas transferidas con embriones frescos y congelados



En cuanto al tamaño del ovario derecho podemos observar que el 16.7% de las vacas receptoras de embriones en fresco presentan un tamaño pequeño, el 50.0% presentan un tamaño mediano y el 33.3% un ovario grande, en cuanto a las vacas receptoras de embriones congelados se observa que el 16.7% tienen un ovario pequeño, 16.7% un ovario mediano y el 66.7% un ovario grande, como se muestra en la figura 6.

Figura 7

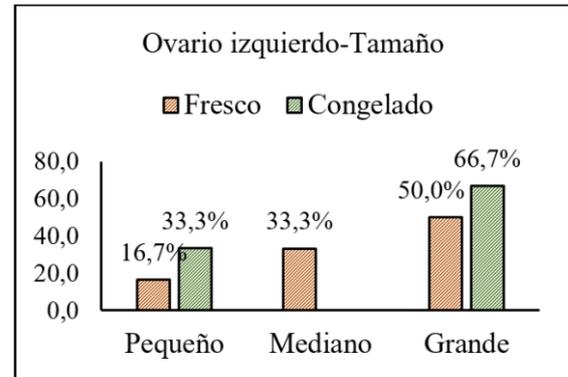
Estructura en el ovario izquierdo en vacas receptoras Brown swiss cruzadas, transferidas con embriones frescos y congelados.



En la figura 7, las vacas receptoras de embriones en fresco presentan un 66.7% de cuerpo lúteo, el 16.7% presentan folículos dominantes y el otro 16.7% no presentan estructuras ováricas.

Figura 8

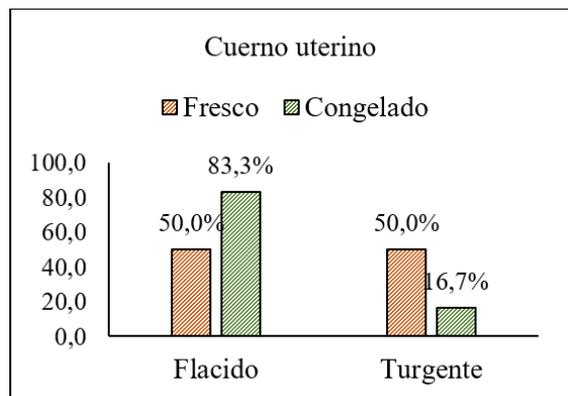
Tamaño del ovario izquierdo en vacas receptoras Brown swiss cruzadas, transferidas con embriones frescos y congelados.



En la figura 8, se muestra que el 16.7% de las vacas receptoras de embriones en fresco presentan ovario pequeño, el 33.3% ovario mediano y el 50.0% presentan un ovario grande, en cuanto a las vacas receptoras de embriones congelados se puede ver que el 33.3% presentan un tamaño pequeño y el 66.7% presentan un tamaño grande.

Figura 9

Estructura del cuerno uterino de las vacas receptoras Brown swiss cruzadas, transferidas con embriones frescos y congelados



En la figura 09, se muestra que el 50.0% de las vacas receptoras de embriones en fresco presentan un cuerno uterino flácido y los otro 50.0% presenta un cuerpo uterino turgente, mientras que el 83.3% de las vacas receptoras de embriones congelados presenta un cerno uterino flácido y el 16.7% un cuerpo uterino turgente.

IV. DISCUSIÓN

Los porcentajes de tasa de preñez para receptoras Brown Swiss transferidas con embriones frescos y congelados de la raza Fleckvieh fueron del 50% y 33.3%, demostrando así una mayor tasa de porcentaje de preñez en las vacas transferidas con embriones frescos. Así mismo en otra investigación que tuvo como objetivo comparar dos métodos de transferencia de embriones en el ganado criollo lechero, realizado por Chacón et al. 2016, demostraron que los niveles de gestación a través del método de criopreservación fueron de 27 y 30%, observándose una mayor tendencia consistente de mayor porcentaje de gestación para receptoras de embriones frescos.

En otras investigaciones realizada en vacas de la raza Bos Taurus x Bos indicus por Gonzáles et al. 1997, observaron niveles de gestación menores a 48.6 %, con embriones criopreservados, así mismo en otra investigación realizada en condiciones templadas y en épocas cálidas por Lozano et al. 2010, obtuvieron bajos resultados con un porcentaje de preñez del 14.0% en receptoras de la raza Holstein, cabe resaltar que las condiciones de calor puede afectar el medio materno interno para establecer la gestación y reducir el desarrollo y viabilidad inicial de los embriones producidos tanto in vivo como in vitro (Jousan y Hansen 2004).

En Brasil, con embriones Holstein congelados transferidos a receptoras Bos indicus x Bos taurus, se obtuvo 41 % de gestación (Bényei et al. 2006). Mientras que en Florida, con embriones Romosinuano y Brahman transferidos a receptoras Angus x Brahman, se obtuvo entre 49 y 54 % de gestación (Hernandez et al. 2004), Según Hasler 2014, menciona que el porcentaje de gestación con embriones producidos in vivo y congelados por vitrificación es 10 % menor al que se obtiene con la transferencia de embriones frescos, lo que concuerda con la presente investigación donde se obtuvo un mayor porcentaje de preñez en vacas transferidas con embriones en fresco.

Según Hansen (2007), el éxito de estos programas depende de diversas variables, entre ellas: la calidad del embrión, experiencia del técnico y nutrición de las receptoras de los embriones, las cuales, dependiendo de diversos factores, le brindará, en menor o mayor porcentaje, la supervivencia y adaptabilidad al embrión, primero a nivel uterino y, luego, si se concibe la preñez, al medioambiente exterior.

Del mismo modo Gómez (2005), indica que las condiciones corporales, el contenido energético y las características reproductivas de las receptoras son muy importantes ya que el animal debe funcionar perfecto en su parte reproductiva, pues su aparato debe estar en óptimas condiciones para alojar un

embrión y llevar a cabo la preñez.

Pues en la presente investigación se evaluó el tamaño y forma del cérvix, determinando que el mayor porcentaje de las vacas receptoras de embriones en fresco presentan un tamaño de cérvix corto de forma recta, mientras que las vacas receptoras de embriones congelados presentaron un tamaño de cérvix mediano.

Además se muestra que el mayor porcentaje de las vacas receptoras de embriones en fresco tienen presencia de cuerpo lúteo, mientras que el mayor porcentaje de las vacas receptoras de embriones congelados no presentan estructuras ováricas.

Demmers, et al. (2001), presume que las bajas tasas de preñez, cuando se transfieren embriones frescos o congelados, podrían estar relacionadas con la calidad del cuerpo lúteo, el grado de sincronía y la raza de la receptora. Para el reconocimiento materno embrionario, el embrión debe encontrar un medio uterino apropiado, influido por la progesterona lútea, ya que esta estimula la producción de una variedad de secreciones endometriales, necesarias para el adecuado desarrollo de los embriones.

Por otra parte, la raza ejerce algún tipo de efecto con respecto al tamaño del cuerpo lúteo (por el tamaño del folículo Ovulatorio y el número de células de la granulosa), lo cual puede estar ejerciendo un efecto positivo o negativo sobre las tasas de concepción, o la raza puede estar, a su vez, actuando directamente sobre las tasas de preñez, como lo reporta Olson (2005).

Hafez (1987), describe que el ovario es responsable de la producción de ovocitos y de la síntesis de hormonas sexuales, estrógenos y progesterona, las cuales promueven y regulan la fertilización del ovocito y el mantenimiento de la gestación. El ovocito se encuentra dentro del folículo ovárico rodeado por células de la granulosa las cuales participan en forma activa en su crecimiento y maduración.

V. CONCLUSIONES

De acuerdo a la investigación realizada se concluye que los embriones transferidos en fresco tienen un mayor porcentaje de preñez con respecto a los embriones congelados transferidos a vacas receptoras de la raza Brown Swiss cruzadas, así lo demuestra esta investigación poniendo en igualdad de condiciones tanto en embriones como receptoras.

Además se determinó que el mayor porcentaje de las vacas receptoras de embriones en fresco presentan un tamaño de cérvix corto de forma recta, mientras que las vacas receptoras de embriones congelados presentaron un tamaño de cérvix mediano, concluyendo que las receptoras con un cérvix corto

de forma recta presentan una mejor tasa de preñez.

Así mismo se concluye que las receptoras con una mayor presencia de cuerpo lúteo presentaron una mejor tasa de preñez.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Akyurt, M., Zaki, G., Habeebullah, B. (2002). *Freezing phenomena in ice water systems. Energy Conversion and Management*, 43, 1771-1789.
- Andino, P. R. (2014). *Evaluación de dos programas de superovulación en vacas lecheras*. ESPOCH. Río Bamba. 0603114059.
- Bényei, B., Komlósi, I., Pécsi, A., Pollott, G., Herald, C.C., y Ocampos, A.C. (2006). *The effect of internal and external factors on bovine embryo transfer results in a tropical environment*. Animal Reproduction, Science.
- Bó, G.A., Moreno, D., Cutaia, L., Caccia, M., Tríbulo, R.J., y Tríbulo, H.E. (2006). *Transferencia de embriones a tiempo fijo: tratamientos y factores que afectan los índices de preñez*. Educación Continua. UNCPBA
- Bó, G.A., Adams, G.P., Caccia, M., Martínez, M., Pierson, R.A., y Mapletoft, R.J. (1995). *Ovarian follicular wave emergence after treatment with progesterone and estradiol in cattle*. Animal Reprod Sci, 39, 193-204.
- Chacón, F.N., Becerril, C.M., Sedano, R., Soto, A., Rosales, F., y Rosendo, A. (2016). *Comparación de dos métodos de transferencia de embriones en el ganado criollo lechero tropical*. Ecosistemas y Recursos Agropecuarios, 3(7), 113-120
- Córdoba, A., Guerra, J.E., Villa, A., Olivares, J., Casino, G., y Pérez, J.F. (2015). *Congelación de embriones bovinos*. Revista Complutense de Ciencias Veterinarias, 9(2), 22-40.
- Cutini, A., Teruel, M., y Cabodevila, J. (2000). *Factores que determinan el resultado de la transferencia no quirúrgica de embriones bovinos*. Revista Taurus, 7, 28-39 y 8, 35-47.
- Demmers KJ, Derecka K, Flint A. Trophoblast Interferon and Pregnancy. *Reproduction* 2001; 8(1): 46-53.
- Díez, M.C. (2003). *Congelación de embriones bovinos producidos in vitro*. Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario. Argentina. Producción Animal.
- Duica, A., Tovio, N., Grajales, H. (2007). *Factores que afectan la eficiencia reproductiva de la hembra receptora en un programa de trasplante de embriones bovinos*. Revista de Medicina Veterinaria, julio-diciembre, 2 (2), 107-124.
- García, P., Quintela, L., Becerra, J., y Peña, A. (2018). *La transferencia de embriones en bovinos*. Departamento de Patología Animal – Universidad de Santiago de Compostela. Portal Veterinaria.
- Gómez, C.J. (2005). *Transferencia de embriones experiencias en Colombia*. Memorias del Congreso Internacional de Reproducción Bovina (Intervet), Bogotá.
- González, R., Velarde, J., Zambrano, S., y Esté, P. (1997). *Producción y trasplante de embriones congelados de bovinos Criollo Limonero*. Archivos Latinoamericanos de Producción Animal, 5(1), 370-372.
- Hafez, E.S.E. (1987). *Reproduction in farm animals, 5th edition*, Lea & Febiger, Philadelphia, PA, USA.
- Hasler, J.F. (2014). *Forty years of embryo transfer in cattle: A review focusing on the journal Theriogenology, the growth of the industry in North America, and personal reminiscences*. Theriogenology, 81, 152-169.
- Hansen J. (2007). *Preparación de embriones producidos in vitro para transferir a receptoras*. Departamento de Ciencia Animal y Clínica de Grandes Especies, Universidad de Florida.
- Hernández, J., Chase, C., Hansen, P. (2004). *Differences in heat tolerance between preimplantation embryos from Brahman, Romosinuano, and Angus Breeds*. Journal Dairy Science, 87, 53-58.
- I.E.T.S. (2011). *Manual de la sociedad internacional de transferencia de embriones. Una guía de procedimientos e información general sobre el uso de tecnología para la transferencia de embriones que enfatiza sobre los procedimientos sanitarios*. 2011. Cuarta Edición. International Embryo Transfer Society. USA, 57-58, 155-158.
- Jousan, D.F., Hansen, P.J. (2004). *Insulin-like growth factor-I as a survival factor for the bovine preimplantation embryo exposed to heat shock*. Biology of Reproduction, 71, 1665-1670.
- Lozano, D.R., Asprón, M.A., Vásquez, G.P., González, E.P., y Aréchiga, C.F. (2010). *Efecto del estrés calórico sobre la producción*

- embrionaria en vacas superovuladas y la tasa de gestación en receptoras. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 1, 189-203.
- Mapletoft, R., Bó, G. A. (2012). *The evolution of improved and simplified superovulation protocols in cattle*. *Reprod Fertil Dev*, 24(1), 278–283.
- Mapletoft, R., Bó, G. A. (2006). *Control del desarrollo folicular y su aplicación en programas de superovulación de donantes de embriones*. *Revista Taurus*, 1, 14-17.
- Merton, J.S., Roos, A.P., Mullaart, E., Ruigh, L., Kaal, L., y Dieleman, S.J. (2003). *Factors affecting oocyte quality and quantity in commercial applications of embryo technologies in the cattle breeding industry*. *Theriogenology*, 59, 651-674.
- Mollo, A., Lora, M., Faustini, M., Romagnoli, S., Cairoli, F. (2007). *Some factors affecting embryo transfer success in dairy cows*. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 6, 496-499.
- Ochoa, J.T. (2011). *Criopreservación de embriones bovinos. Curso de graduación "Buiatría" para obtención de título de Medicina veterinaria y zootecnia. Universidad de Cuenca. Facultad de ciencias agropecuarias. Escuela de medicina veterinaria y zootecnia.*
- Olson T. Composite Breeds in the Tropics. *Thesis, Animal Science Department, University of Florida, 2005.*
- Robertson, E. (2015). *Embryo collection and transfer*. En: *Bovine reproduction*, 1(76), 103-717.
- Niles D, Eicker S, Stewart S. 2001. *Using pregnancy rate to monitor reproductive management*. In: *Proc 5th Western Dairy Management Conference*. Las Vegas, USA.