

# FACTORES QUE DETERMINAN EL RESULTADO DE LA TRANSFERENCIA NO QUIRÚRGICA DE EMBRIONES BOVINOS

Cutini, A., Teruel, M. y Cabodevilla, J. 2000. Taurus, 2(7):28-39.

[www.produccion-animal.com.ar](http://www.produccion-animal.com.ar)

Volver a: [Principal](#) > [Transplante embrionario](#)

## RESUMEN

Los porcentajes de preñez que se obtienen luego de la transferencia no quirúrgica de embriones se han incrementado de manera significativa en las últimas décadas. No obstante, se considera factible mejorar la eficiencia de la técnica en la que intervienen factores relacionados con el embrión, con la receptora y con la transferencia propiamente dicha, produciéndose además interacciones entre ellos. Dentro de los factores embrionarios, la calidad influye claramente en el resultado de la transferencia, independientemente de que los embriones sean frescos, criopreservados, micromanipulados y/o producidos in vitro. La congelación afecta la viabilidad de los embriones producidos in vivo, no obstante, como las diferencias no son sustanciales se compensan con las ventajas que la técnica trae aparejada. La viabilidad post transferencia de los embriones producidos in vitro y/o micromanipulados es marcadamente inferior a la de los embriones producidos in vivo, tales diferencias se acrecientan cuando dichos embriones son criopreservados. En la selección de receptoras son más importantes las condiciones de crianza, el manejo sanitario y el estado nutricional de las mismas que su raza o categoría. Al momento de la transferencia, la receptora ideal es aquella con sincronismo o con un asincronismo de 24 hs, en la que se ha comprobado la presencia del cuerpo lúteo; además se debe relacionar el estadio de desarrollo embrionario con el día del ciclo de la receptora. La experiencia del operario en el manejo del tracto genital y la comodidad con que efectúa la maniobra condicionan el éxito de la transferencia embrionaria, por ello es recomendable utilizar anestesia epidural y sedantes dependiendo del temperamento de la receptora. La transferencia de vesículas embrionarias y la aplicación de tratamientos hormonales, utilizados para aumentar los porcentajes de preñez no han arrojado resultados que justifiquen su aplicación.

## INTRODUCCIÓN

En bovinos, la transferencia de embriones a través del cervix comenzó a ser utilizada en trabajos experimentales en 1949. Dificultades de distinta índole que se presentaron en el desarrollo del método hicieron que el nacimiento del primer ternero se produjera recién en 1964. En las últimas décadas, los porcentajes de preñez se han incrementado de manera significativa posibilitando actualmente obtener porcentajes de alrededor del 60%, aún con la transferencia de embriones congelados.

Teniendo en cuenta un estudio de Xu y col. donde el porcentaje de preñez a primoinseminación promedió 64%, con un rango que varió entre 48 y 79%, un primer análisis comparando los resultados de ambas técnicas llevaría a pensar que con la transferencia no quirúrgica se está cerca de alcanzar el límite biológico. No obstante, al profundizar dicho análisis surgen diferencias. Las hembras que retornan al celo en las primeras 3 semanas post inseminación son aquellas en las que no se produjo la fecundación o que sufrieron mortalidad embrionario temprana; por el contrario en la transferencia embrionaria, las receptoras reciben embriones que al séptimo día de gestación son morfológicamente normales. Según Dunne y col., en la inseminación artificial, un 10% de los ovocitos no son fecundados y la mayor parte de las pérdidas embrionarias ocurren antes del día 14 de gestación. La transferencia embrionaria permite evitar muchas de estas pérdidas, es por ello que pese a los notables progresos registrados, se considera factible incrementar los porcentajes de preñez que se obtienen actualmente con la transferencia no quirúrgica.

El objetivo de este trabajo es efectuar un análisis de aquellos factores que determinan el resultado de la transferencia no quirúrgica. Se abordarán aspectos propios del embrión, de la receptora y del método, sin dejar de lado las interacciones que se producen entre ellos. Finalmente, se discutirán distintas alternativas que han sido utilizadas con la finalidad de mejorar la eficiencia de la técnica.

## FACTORES RELACIONADOS CON EL EMBRIÓN

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, con la puesta a punto de técnicas tales como criopreservación, micromanipulación y más recientemente producción *in vitro* de embriones, 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.

## CALIDAD EMBRIONARIA

La realización de una minuciosa evaluación de la calidad embrionaria es de fundamental importancia para el éxito de la transferencia. Es así que embriones clasificados como excelentes o buenos tienen una alta probabilidad de alcanzar la preñez. No obstante, debe considerarse que embriones calificados excelentes luego de ser transferidos normalmente, no terminan en preñez, mientras que embriones de buena calidad y transferidos con algún tipo de problema, resultan en preñeces y nacimientos normales. Este hecho nos indica que si bien la calidad embrionaria puede determinar los resultados obtenidos, otros factores relacionados con la receptora o con la transferencia podrían modificar dichos resultados.

Resulta dificultoso comparar la información publicada por distintos autores dado que se utilizan diferentes escalas para evaluar la calidad embrionaria. Hasta mediados de la década del 90, se utilizó principalmente una escala de 5 puntos, considerando a los embriones como excelentes, buenos, regulares, malos o degenerados. Actualmente muchos autores optan por la escala propuesta por la Sociedad Internacional de Transferencia Embrionaria que agrupa los embriones según su calidad en 4 grados: excelentes y buenos, regulares, malos o degenerados.

<b>Tabla 1. Efecto de la calidad embrionaria sobre el porcentaje de preñez pos transferencia de embriones sin criopreservar.</b>				
<b>Autores</b>	<b>Calidad embrionaria</b>	<b>Embriones transferidos</b>	<b>Receptoras preñadas</b>	
			<b>n</b>	<b>%</b>
Wright <sup>(68)</sup>	buena	1.748	1.122	64,2 <sup>a</sup>
	regular	438	198	45,2 <sup>b</sup>
	pobre	100	33	33,0 <sup>c</sup>
Hasler y col. <sup>(21)</sup>	buena	5.521	4.037	73,1 <sup>a</sup>
	regular	304	181	59,5 <sup>b</sup>
	pobre	76	31	40,8 <sup>c</sup>
Reinchenbach y col. <sup>(55)*</sup>	excelente	61	33	54,1 <sup>a</sup>
	y buena			
	regular	41	21	51,2
	pobre	27	7	25,9 <sup>b</sup>
Hasler y col. <sup>(22)*</sup>	excelente	1.802	1.035	57,4 <sup>a</sup>
	y buena			
	regular	441	184	41,7 <sup>b</sup>

a, b, c diferencias significativas (p<0.05)  
\* Embriones producidos *in vitro*

En la tabla 1 se muestran algunos resultados de preñez obtenidos luego de la transferencia de embriones frescos (sin criopreservar) donde se observa el efecto de la calidad de los mismos. Por otro lado, se ha reportado una mayor incidencia de muerte embrionaria cuando se transfieren embriones de calidad pobre, que cuando los mismos son morfológicamente normales

Por su parte, los resultados de preñez luego de transferir embriones congelados de calidad excelente pueden diferir de los de calidad buena. Con ambas calidades se obtienen mejores resultados que con aquellos de calidad regular (tabla 2).

**Tabla 2.** Efecto de la calidad embrionaria pre-congelación sobre el porcentaje de preñez post-transferencia.

Autores	Calidad embrionaria pre-congelación	Embriones transferidos		Receptoras preñadas	
		n	%	n	%
Leibo <sup>(1)</sup>	excelente	173	48,6 <sup>a</sup>	84	48,6 <sup>a</sup>
	bucna	220	44,6 <sup>b</sup>	98	44,6 <sup>b</sup>
	regular	83	24,1 <sup>c</sup>	20	24,1 <sup>c</sup>
Arreseigor y col. <sup>(2)</sup>	excelente	233	57,1 <sup>a</sup>	133	57,1 <sup>a</sup>
	bucna	276	52,9 <sup>b</sup>	146	52,9 <sup>b</sup>
	regular	276	31,2 <sup>c</sup>	86	31,2 <sup>c</sup>
Munar y col. <sup>(3)</sup>	excelente	1.633	60,9 <sup>a</sup>	996	60,9 <sup>a</sup>
	bucna	565	53,3 <sup>b</sup>	301	53,3 <sup>b</sup>
	regular	123	39,8 <sup>c</sup>	49	39,8 <sup>c</sup>

a, b, c diferencias significativas (p<0,05)

## ESTADIO DE DESARROLLO

El efecto que puede llegar a tener el estadio de desarrollo embrionario sobre los porcentajes de preñez es un factor que ha sido estudiado por diversos autores con resultados dispares. En algunos casos, blastocistos tempranos y blastocistos resultaron en mayores porcentajes de preñez que mórulas, blastocistos expandidos y blastocistos protruidos. Otros autores, obtuvieron mejores resultados con blastocistos que con mórulas; Dochi y col. observaron que mórulas y blastocistos tempranos resultaron en porcentajes de preñez más elevados que blastocistos o blastocistos expandidos. Contrariamente, otros autores no han hallado efecto del estadio de desarrollo.

Los porcentajes de preñez para embriones frescos producidos in vivo y transferidos en estadio de mórula han sido muy variados oscilando entre 48 y 70%. Cuando los que se transfirieron fueron blastocistos, los porcentajes de preñez fueron del 65-70%. Para embriones producidos in vivo y congelados, los porcentajes de preñez fueron del 40% para mórulas y blastocistos tempranos, disminuyendo a un 27% para blastocistos y blastocistos expandidos. Para blastocistos protruidos se han comunicado resultados de preñez comparables a blastocistos tempranos y blastocistos. Otros autores han obtenido menores porcentajes de preñez con este estadio y lo atribuyen a daños mecánicos durante la recolección, inadecuados sistemas de cultivo o a que sean menos viables por permanecer mayor tiempo en el útero de las donantes superovuladas.

Para embriones producidos in vitro, los mayores porcentajes de preñez (60%) resultaron con blastocistos tempranos, blastocistos y blastocistos protruidos de 7 días de edad que a su vez fueron significativamente mayores que para los mismos estadios pero para una edad de 8 días, lo cual estaría indicando que la edad embrionaria sería lo determinante del éxito de la transferencia y no el estadio en sí.

Coincidentemente, Ling y col. comunicaron mejores resultados de preñez cuando se transfirieron mórulas de día 5 a 6 y blastocistos de día 7 que blastocistos de día 6 y blastocistos expandidos de días 7 a 8 corroborando una interacción entre estos dos factores embrionarios. A su vez, resultados de preñez del 80% fueron comunicados por Takeda y col. cuando se utilizaron embriones de alta calidad, independiente de que fueran mórulas, blastocistos tempranos, blastocistos o blastocistos expandidos, confirmando la interacción del estadio de desarrollo con otro factor embrionario como es la calidad.

## EDAD EMBRIONARIA

Muchos de los datos publicados sobre el efecto de la edad embrionaria y/o del estadio del desarrollo al momento de la transferencia sobre la tasa de supervivencia, derivan del análisis retrospectivo de transferencias, donde el factor edad se confunde con el grado de sincronismo y el método de transferencia, entre otros. La mayoría de los embriones bovinos son recolectados y transferidos con una edad de 6 a 8 días y no queda claro si realmente hay un efecto de la edad en días o del estadio de desarrollo. A su vez, distintos estudios han mostrado que no hubo diferencias en los porcentajes de preñez luego de la transferencia de embriones de estas edades. Por otro lado, la transferencia de embriones de 9 días o más prácticamente no se realiza, pues es dificultoso encontrar los embriones en el medio de lavaje luego que los mismos han perdido la zona pelúcida. No obstante cuando se realizaron transferencias con dichos embriones, los resultados fueron contradictorios y mientras algunos autores no hallaron

disminución en los porcentajes de preñez otros observaron menores valores que cuando utilizaron aquellos de días 6 – 8.

Los resultados de preñez luego de transferir embriones frescos producidos in vitro, de día 6 ó 7 no mostraron diferencias significativas, con valores de preñez al día 40 de gestación de 78 y 68% respectivamente. Por su parte, Hasler y col. Habían comunicado resultados de preñez del 56% para embriones de día 7 y de 43 y 41% para aquellos de

Día 8 y 9 respectivamente, no obstante, la transferencia de embriones clasificados como excelentes y buenos, ya sean de día 7 u 8, resultaron mayores porcentajes de preñez que aquellos de calidad regular. Ling y col obtuvieron mayores porcentajes de preñez con mórulas de día 7 que con blastocitos de día 6 o blastocitos expandidos de día 7 ú 8, quedando demostrado una vez más la interacción entre factores embrionarios.

## CRIOPRESERVACIÓN

El efecto de la criopreservación de los embriones sobre los resultados de preñez es muy variado y ello se debe a que se producen interacciones con otros factores tales como la edad embrionaria, la calidad embrionaria y el estadio de desarrollo y a su vez si los mismos han sido producidos in vivo o in vitro. Es importante considerar además que los porcentajes de preñez resultantes de la transferencia de embriones congelados son inversamente proporcionales al tiempo transcurrido desde la recolección hasta el comienzo de la congelación, dado que la viabilidad embrionaria disminuye significativamente cuando dicho período es mayor de 3 hs. A su vez, la calidad embrionaria post descongelación también afecta los porcentajes de preñez, con valores que oscilan entre 30% y 68% para embriones de calidad regular y excelente, respectivamente.

El método de criopreservación utilizado debe tenerse en cuenta. Cuando los embriones son congelados convencionalmente, las tasas de preñez oscilan entre 50 y 60%, resultando levemente inferiores a las obtenidas con embriones frescos; cuando se utiliza la vitrificación como método de conservación, los porcentajes de preñez oscilan entre 0 y 60%. Las bajas temperaturas a las que son sometidos los embriones así como las altas concentraciones de crioprotectores utilizadas serían la causa de la disminución en la viabilidad de estos embriones.

## MICROMANIPULACIÓN

Actualmente los embriones bovinos son micromanipulados con el fin de obtener algunas células y proceder a la identificación del sexo previo a su transferencia o para ser divididos en dos partes iguales (hemiembriones) y producir mellizos idénticos, lo que permite la disponibilidad de animales idénticos en los programas de transferencia embrionaria.

Con referencia a aquellos embriones que son destinados a la identificación del sexo, los blastómeros son abordados penetrando la zona pelúcida y aspirando 4 a 6 células o cortando la zona y los blastómeros con una navaja. En trabajos realizados con embriones sexados y transferidos frescos, la tasa de preñez fue de alrededor de 45%, observándose además que los resultados dependieron de la calidad embrionaria.

En referencia a los embriones divididos, cuando son transferidos, los porcentajes de preñez dependen de la calidad de los hemiembriones con resultados que van desde un 76,2% de fetos para mitades de calidad muy buena, hasta un 24,7% para aquellas de calidad regular, lo cual sugiere la necesidad de destinar a la micromanipulación sólo aquellos embriones de excelente y buena calidad. La sección de los embriones provoca una pérdida celular embrionaria de aproximadamente 10%, que posiblemente compromete la viabilidad de los embriones de calidad inferior. Las tasas de preñez obtenidas con la transferencia de hemiembriones son muy variables con una media que varía entre 50 y 60%. A su vez, la ausencia de la zona pelúcida en los hemiembriones no afecta los porcentajes de preñez para embriones transferidos frescos.

Un grupo especial de embriones a ser transferidos lo constituyen aquellos que han sido micromanipulados y que posteriormente fueron sometidos a criopreservación. La supervivencia de estos embriones es menor que la de embriones intactos, y esta sensibilidad podría deberse a la perforación de la zona pelúcida y/o a la reducción del número de células que sufren estos embriones. Para mejorar la tasa de supervivencia se implementaron distintas alternativas metodológicas, tales como sellar el orificio practicado en la zona pelúcida cubriendo éste con una zona pelúcida adicional o que el embrión micromanipulado sea embebido en agar, previniendo así la pérdida de blastómeros adicionales, simplemente por una mejor protección física durante el crecimiento de los cristales de hielo. También se ha intentado mejorar la viabilidad de estos embriones realizando cultivos de los mismos en células epiteliales oviductales o modificando los protocolos de congelación mediante el agregado de polivinilpirrolidona. Los resultados obtenidos han sido sin embargo muy variados.

Los porcentajes de preñez obtenidos luego de la transferencia de los embriones micromanipulados generalmente no superan el 30%, siendo a su vez muy variables según las condiciones de cultivo utilizadas, la calidad embrionaria así como el protocolo de congelación empleado.

## PRODUCCIÓN IN VITRO

En referencia a los embriones producidos in vitro, los mismos presentan una serie de características propias que los diferencian de aquellos producidos in vivo y que trae aparejado que los porcentajes de preñez luego de la transferencia embrionaria no exceden en promedio el 40% siendo a su vez muy variables con valores extremos de 24% y 54%. La morfología y la bioquímica de los embriones producidos in vitro están afectadas por las condiciones en que se desarrollan los mismos y que difieren de aquellas que tienen cuando lo hacen in vivo. Dentro de ellas se encuentran la temperatura constante, tensión controlada de oxígeno y dióxido de carbono, un permanente intercambio entre el embrión y la madre, entre otras. Estas diferencias en el medio ambiente en que se desarrollan los embriones, se traducen en que los mismos presentan mayor cantidad de cromosomas anormales, blastómeros irregulares, un espacio perivitelino pequeño, una mala compactación de las mórulas, blastocistos con forma irregular y menor número de células, incremento en la cantidad de vacuolas citoplasmáticas y uniones imperfectas entre blastómeros, entre otras fallas.

Se ha demostrado que cuando son criopreservados embriones producidos in vitro, presentan una viabilidad post descongelación que está correlacionada con la velocidad con que ellos se segmentan luego de la fecundación y por lo tanto con el tiempo que tardan en alcanzar el estadio de blastocisto. Esto se traduce en diferencias en los porcentajes de preñez luego de su transferencia, resultando en 42% para blastocistos de día 7 y sólo 20% para aquellos de día 8. No obstante, la combinación de calidad y edad embrionaria fue la determinante de los porcentajes de preñez, resultando los valores más altos para aquellos embriones fecundados in vitro que presentaron calidad excelente o buena al día 7 (59%). Mientras que los menores porcentajes se lograron con embriones de calidad regular al día 8 (30%). También se ha observado que cuando se emplean embriones producidos in vitro existe una mayor incidencia de abortos tempranos y distocias que lo normal, estas últimas aparentemente relacionadas con un incremento en el peso al nacer de los terneros. Hasler y col. Encontraron entre un 7,6% y 11 % de abortos y hasta un 15,6% de muertes al nacer, después de la transferencia de dichos embriones.

### BIBLIOGRAFÍA

1. Agca. Y., Monsoil, R.L., Norihey,, D.L.. Abas Mazili, O., Rtitiedge I. 1994. Post-thaw survival and pregnancy rates of in vitro Produced bovine embryos after vitrification. *Theriogenology*, 41:154.
2. Agca, Y, Moilsoii, R.L.. Nortliey, D.L., Abas Maziii, O.. Schiafer. D.M and RLitied,-e, -1 -1 1998 Transfer of fresh and cryopreserved IVP bovine embryos: normal calving, birth weight and gestation length. *Theriogenology*, 50:147-162.
3. Almeida, A.P. 1989. NoilsLi@Zical embryo transfer in cattle: The effect of clenbuterol on pre-pregnancy, Yates. *Theriogenology*, 23. 3 1:166.
4. Aller, .F., Alberio, R.H. x Aiberio, R. 1998 Producción de mellizos en bovinos por medio de la transferencia de embriones producidos in vitro. *Therios*, 27:39-46.
5. Arrescia0r. C. J., Sisul, A., Airesei- r. A,E. and Staliniiger, R.C. 1998. Effect of cryoprotectant, thawing method, embryo grade and breed on pregnancy rates of cryopreserved bovine embryos. *Theriogenology*, 49:160.
6. Beal, WE., Hiiisliavv, R,H, and Wfiiiian. S.S. 1998, vitrification embryo freezing method and the site of embryo deposition on pregnancy rate in bovine embryo transfer. *Theriogenology*, 49:241.
7. Bredbacka, p. 1998. Recent developments in embryo sexing and its field application. *Reprod. Nutr. Dev.* 38:605-61 3.
8. Breni, G. 1986. Micromanipulación en embriones bovinos y su aplicación en mejoramiento animal. *Hemisferio Sur, Argentina*, 1-209.
9. Cabodevila, I. 1997. Transferencia de embriones s técnicas derivadas. *Therios. suplemento especial, Reproducción en bovinos*. 35-40.
10. Chesne, P, Heynlan, Y, Chupin, D., Procureur, R. and Menezo,Y. 1987. Freezing cattle demi-embryos: influence of period of culture before splitting and freezing on survival. *Theriogenology*, 27:21.
11. Cutini, A., Teruel, M. y Cabodevila, J. 1999. Criopreservación de embriones de especies de interés pecuario. *Rev. Arg. Prod.* 19:447-469
12. De Lceulv, A.M., den Daas, J.H., Kruip, T.A. and Rali, W.F. 1992. The relative efficacy of bovine embryo cryopreservation by vitrification and conventional slow freezing. In: *Proceedings 22th International Conference on Animal Reproduction and Artificial Insemination*. The Hague, The Netherlands, pp. 1505-1507.
13. Dobrinsky, J.R. 1996. Cellular approach to cryopreservation of embryos. *J-Theriogenology*, 45:17-26.
14. Dochi, O., Yani 1 to, Y, Saga, H., Yosliiba, N., Kano, N., Maeda, J., Miyala, Kan oyaniauchi, A., Tominaga, K., Oda, Y, N"iiiiia, T and Iioliaie, S. 1998. Direct transfer of bovine embryos freeze-thawed in the presence of propylene glycol or ethylene glycol under different conditions in an integrated embryo transfer program. *Theriogenology*, 49:1051-1058.
15. Doiiaidsii, L. E. 1985 Recipients as a source of variation in cattle embryo transfer. *Theriogenology*, 23: 1 88.
16. Doiiaidsoti, L,E, 1986. Day of embryo collection, quality and pregnancy rates in cattle. *Vet. Rec.*, 1 1 8:661-663.
17. Dunne, L.D., Diskin. M.G. and Sreenan, J.M. 2000. Embryo and foetal loss in beef heifers between day 14 of gestation and full term. *Anim. Reprod. Sci.*, 58:39-44.
18. Elsden, R.P and Seidel, G.E. 1990. Evaluation of embryos. Procedures for recovery, bisection, freezing and transfer of bovine embryos. *Animal Reproduction and Biotechnology Laboratory. Colorado State University*, 13-16.

19. J-llfliglón, J.E., Foote, R.H., Farrell, P.F., Hasler, J.F., Webb, J., Liender, W.L. and McGrath, A.B. 1991. Pregnancy rates after the use of a Zonadotropin releasing hormone agonist in bovine embryo transfer recipients. *Theriogenology*, 36:1035-1042.
20. Hillebrand, S.M., Rhodes, R.C., McKellar, L.D. and Randel, R.D. 1979. Successful superovulation and transfer of embryos from ovariectomized collection and 97-108. *Brahman cows. Theriogenology*, 12:
21. Hillier, S.G., McCauley, A.D., Latipour, W.F. and Foote, R.H. 1987. Effect of donor-embryo-recipient interactions on pregnancy rate in a large-scale bovine embryo transfer program. *Theriogenology*, 27:139-168.
22. Hasler, J.F., Henderson, W.B., Hurtgen, P.J., Jin, Z.Q., McCauley, A.D., Mower, S.A., Neely, B., Shuey, L.S., Stokes, J.E. and Trimmer, S.A. 1995. Production, freezing and transfer of bovine 1 VE embryos and subsequent calving results. *Theriogenology*, 43:141-153.
23. Heyman, Y. and Chesné, P. 1984. Freezing bovine embryos: survival after cervical transfer of one pair, one or two blastocysts frozen in straws. *Theriogenology*, 21:240.
24. Hill, R.R. 1996. Ensayos a campo con embriones congelados con glicerol vs etilenglicol. *CABIA* 27:30-33.
25. Hillier, S.G., Perrin, J., Jeanguyot, N., Nibart, M. and Thibier, M. 1987. Effects of age and quality of thawed embryos, synchronization and corpus luteum function on pregnancy rates of bovine embryo recipients. *Theriogenology*, 27:240.
26. Kajilara, Y., Konietzki, N., Shitanaka, Y., Saito, S., Yamaguchi, Y., Hishiyama, K. and Endo, M. 1992. Pregnancy rates and births after the direct transfer of frozen-thawed bovine 1 VE embryos. *Theriogenology*, 37:233.
27. Kippax, I.S., Christie, W.B. and Rowan, T.G. 1991. Effects of method of splitting, stage of development and presence or absence of zona pellucida on foetal survival in commercial bovine embryo transfer of bisected embryos. *Theriogenology*, 35:25-35.
28. Kunkel, R.N. and Stricklin, W.R. 1978. Donor-recipient asynchrony of embryo development and the post-transfer survival of bovine embryos. *Theriogenology*, 9:96.
29. Lee, E.S., Okamoto, Y., Yamashina, H. and Fukui, Y. 1997. Pregnancy rates after transfer of fresh or frozen bovine blastocysts developed from serum-free or protein-free media. *Theriogenology*, 47:350.
30. Lehn-Jensen, H. and Willadsen, S.M. 1983. Deep-freezing of cow half and quarter embryos. *Theriogenology*, 19:49-54.
31. Leibo, S.P. 1986. Commercial production of pregnancies from one-step diluted frozen-thawed bovine embryos. *Theriogenology*, 25:166.
32. Leibo, S.P. and Rall, W.R. 1987. Increase in production of pregnancies by bisection of bovine embryos. *Theriogenology*, 27:245.
33. Lindner, G.M. and Wright, R.W. 1983. Bovine embryo physiology and evaluation. *Theriogenology*, 20:407-416.
34. Lin, Z.J., Shi, D.S., Hwang, H.M., Wei, Y.M., Jian, R.M. and Lo, K.H. 1995. Pregnancy rate following transfer of IVF bovine embryos at different developmental stages. *Theriogenology*, 43:266.
35. Looney, C.R., Oden, A.L., Massey, J.M., Johnson, C.A. and Godke, R.A. 1984. Pregnancy rates following HCG administration at the time of transfer in embryo-recipient cattle. *Theriogenology*, 21:246.
36. Lucas, A. and Nienhuis, H. 1991. In vitro survival of fresh and frozen/thawed bovine demi-embryos. *Theriogenology*, 36:619-627.
37. Markette, K.L., Seidel, G.E. Jr, and Elsden, R.P. 1981. Estimation of embryonic losses in bovine embryo transfer recipients from progesterone profiles and returns to estrus. *Theriogenology*, 23:45-62.
38. Massip, A., Merinillo, P., Van Laing, A. and Dessv, F. 1994. Veatix is the best bovine embryos produced in vitro, which are frozen. *Med. Vet.* 138:333-338.
39. Massip, A., Merinillo, P. and Dinnyes, A. 1995. Morphology, and biochemical and biophysical characteristics of bovine embryos: implications for their cryopreservation. *Hum Reprod*, 10:3004-3011.
40. McEvoy, L.G. and Sreenan, J.M. 1990. Effect of embryo quality and stage of development on the survival of the zona-pellucida-free bovine embryo. *Theriogenology*, 33:1245-1253.
41. Miller, C.J., Nigro, M.A., Burr, E.R. and Vallet, R.A. 1988. Sincronización de celos en receptoras. *CADIA*, 12:54-59.
42. Miller, C.J. and Hasler, J.F. 1989. Results of the first frozen bovine embryos exported from the USA to Argentina. *Theriogenology*, 31:230.
43. Mitter, C., Valdez, A.M. N., Crespo, P.J. 1998. Transferencia de embriones bovinos criopreservados con etilenglicol y con glicerol. In Simposio Internacional de Biotecnologías Aplicadas en Reproducción Animal, 12 - 13 N, 14 de Agosto de 1998, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Lomas de Zamora. Buenos Aires. pp. 108-114.
44. Mitter, L.R., Graded, A.P. and Olds, D. 1964. Successful nonsurgical bovine embryo transfer. *A.J. Digest*, 12:1150.
45. Newcomb, R. and Rowson, L.E.A. 1975. Conception rate after uterine transfer of conceptuses in relation to synchronization of oestrus and age of eggs. *J. Reprod. Fertil*, 43:539-541.
46. Newcomb, R. and Rowson, L.E. 1980. Physiological factors affecting non-surgical transfer. *Theriogenology*, 13:41-49.
47. Nibart, M. and Hillier, S.G. 1997. Le transfer direct des embryons bovin congelés. *M. Elev. El Insemin. Fév.* 2:3-11.
48. Niemann, H., Breiter, G., Saclier, B., Schmidt, D. and Kratisschli, H. 1986. An approach to successful freezing of bovine embryos derived from day-7 bovine embryos. *Theriogenology*, 25:519-524.
49. Overstrom, E.W., Dittus, R.T., Dobrinski, J.R., Robl, J.M., Bannister, A., Lonergan, P., Duff, P., Walsli, J.F., Roche, J.F. and Boland, M.P. 1993. Cytoskeletal damage in vitrified and frozen-thawed embryos. *Theriogenology*, 39:276.
50. Pettit, W. 1985. Commercial freezing of bovine embryos in glass ampoules. *Theriogenology*, 23:13-16.
51. Picard, L., Schneider, U., Betteridge, K. and King, W. 1988. Effect of the zona pellucida, agar embedding, and culture on the survival of micromanipulated bovine embryos after freezing and thawing. *J. In vitro Fert, Embryo Transfer*, 5:268-274.
52. Pollard, J.W. and Leibo, S.P. 1994. Chilling sensitivity of mammalian embryos. *Theriogenology*, 41:101-106.
53. Rall, W.F. 1992. Cryopreservation of oocytes and embryos: Methods and applications. *Anim. Reprod. Sci.*, 28:237-245.

54. Reiiichenbach, H.D., Liebrich, J., Ber,-, U. and Brem, G. 1991. Pregnancy results following transfer of frozen-thawed in vitro produced bovine embryos to recipients. In Fondation M.Mérieux (ed.), Proceedings of the 7th Scientific Meeting of the European Embryo Transfer Association, Cambridge, pp. 198.
55. Reiiichenbach, H.D., Liebrich, J., Berg, U. and Brem, G. 1992. Pregnancy rates and births after unilateral or bilateral transfer of bovine embryos produced in vitro. *J. Reprod. Fertil.*, 95:363-370.
56. Rorie, R.W., Pendleton, R.J., Youngs, C.R. and Godky, R.A. 1986. Viability of demi-embryos produced before and after deep freezing. *Theriogenology*, 25:192.
57. Schmidt, M., Avery, B., Smith, S.D., Pu antara, B. and Greve, T. 1992. The freezability of biopsied bovine embryos. *Theriogenology* 38:615-621.
58. Schiildt, M., Smith, S.D., Avery, B., Purwantara, B. and Greve, T. 1992. Coculture of bovine demiembryos prior to freezing. *Acta Vet. Scand.*, 33:237-243.
59. Seike, N., Sakai, M. and Kanagawa- H. 1991. Development of frozen-thawed demi-embryos and production of identical twin calves of different ages. *J. Vet. Med. Sei.*, 53:37-42.
60. Slica, B, F. 1981. Evaluating the bovine embryo. *Theriogenology*, 15:31-42,
61. Suzuki, T., Saha, S., Sumantri, C., Takagi, M. and Boediono, A. 1995. The influence of polyvinylpyrrolidone in freezing of bovine IVF blastocysts following biopsy. *Cryobiology*, 32:505-510.
62. Tachikawa, S., Otoi, T., Kondo, S., Machida, T. and Kasai, M. 1993. Successful vitrification of bovine blastocysts, derived by in vitro maturation and fertilization. *Mol. Reprod. Dev.*, 34:266-271.
63. Fakeda, T., Hallowell, S.V., McCauley, A.D. and Hasler, J.F. 1986. Pregnancy rates with intact and split bovine embryos transferred surgically and nonsurgically. *Theriogenology*, 25:204.
64. Thibier, M. and Nibart, M. 1995. The sexing of bovine embryos in the field. *Theriogenology*, 43:71-80.
65. Touati, K. and Ectors, F. 1991. Congélation de demi-embryons par la méthode au glycérol-sucrose et transfert direct: premiers résultats. *Ann. Méd. Vét.*, 135:287-289.
66. Van Soom, A., Mijten, P., Van Vlaenderen, I., Van den Branden, J., Mahmoudzadeh, A.R. and de Kruif, A. 1994. Birth of double-muscling Belgian Blue calves after transfer of in vitro produced embryos into dairy cattle. *Theriogenology*, 41:855-867.
67. Van Wagendonk-de Leeuw, A.M., den Daas, J.H.G. and Rall, W.F. 1994. Pregnancy rates in a comparative field trial of vitrification and one-step dilution or conventional slow freezing and three-step dilution of bovine embryos are similar. *Theriogenology*, 41:326.
68. Wright, J.M. 1981. Non-surgical embryo transfer in cattle embryo-recipient interactions. *Theriogenology*, 15:43-56.
69. Wright, J.M. 1985. Commercial freezing of bovine embryos in straw. *Theriogenology*, 23:17-29.
70. Wurth, Y.A., Reinders, J.M.C. Rall, and Kruif, T.A.M. 1994. Developmental potential of in vitro produced bovine embryos following cryopreservation and single-embryo transfer. *Theriogenology*, 42:1275-1284.
71. Li, X.X., Burton, J.R., Burton, L.J. and Macmillan, K.L. 1995. Reproductive performance of synchronised lactating dairy cows. *Proc. N.Z. Soc. Anim. Prod.*, 55:242-243.

Volver a: [Principal](#) > [Transplante embrionario](#)