



## Inseminación artificial y transferencia de embriones a tiempo fijo en bovinos de carne bajo condiciones de trópico seco

Jorge L. Flores Rodríguez<sup>1</sup> , Francisco J. Trejo<sup>1</sup> , Hilario Del Ángel Reyes<sup>1</sup> ,  
Juan Rosales Hilario<sup>1</sup> , Livia Ivonne Pérez Torres , Hugo B. Barrios García  ,  
Arnoldo González Reyna<sup>2</sup>  

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Tamaulipas. México

### Artificial insemination and fixed-time embryo transfer in beef cattle under dry tropical conditions

**Abstract.** Gestation percentage was assessed after fixed time embryo transfer (FTET) and artificial insemination (FTAI) programs as a means to evaluate its use to improve reproductive efficiency in beef herds in Tamaulipas, under dry tropic conditions. Two FTET programs were conducted in the north of the state, the first, at the ranch Puesta de Sol (Burgos), where 30 beef crossbred heifers were treated with CIDR plus estradiol benzoate and cypionate for FTET; the second was conducted at La India (Reynosa), where 95 beef crossbred heifers using the same treatment. Embryos from Beefmaster donors were produced at the Laboratorio FIV of UGRT and transferred fresh, to 23 heifers at Puesta de Sol and 77 heifers at La India, where 8 and 32 gestations were obtained, for 35 and 42%, respectively, for a total gestation rate of 40%. The FTAI program was conducted at the ranch San Isidro (Guémez), where 133 registered Red Brangus (50 cows) and Charolaise (88 cows) were treated with the protocol described for FTET, plus an injection of 330 IU of eCG to nursing cows and cows in poor body condition. A total gestation rate of 41% was obtained, gestation rate was greater for Red Brangus (50%) than for Charolaise (35%) cows; partial gestation rates were 34 and 24% and 23 and 16%, respectively for both programs and breeds. Differences for both FTET and FTAI programs were not significant. These results allow recommendation the use of such biotechnological tools to improve reproductive efficiency in beef herds in Tamaulipas.

**Keywords:** Beef cattle, fixed time embryo transfer, fixed time artificial insemination, fixed time protocols.

**Resumen.** Se determinó el porcentaje de gestación (PG) para transferencia de embriones (TETF) e inseminación artificial (IATF) a tiempo fijo, para bovinos de carne, Tamaulipas, bajo condiciones de trópico seco. Se realizaron dos programas de TETF en el norte de Tamaulipas, el primero en el Rancho Puesta de Sol, Burgos, donde se trataron 30 vaquillas con CIDR mas benzoato de estradiol (BE) y cipionato de estradiol (ECP) al retiro del CIDR; el segundo programa se realizó en el Rancho La India (Reynosa), donde se sincronizaron 95 vaquillas cruzadas, con el mismo tratamiento. Se realizaron 23 transferencias en Puesta de Sol y 77 transferencias en La India, con embriones de FIV, de la raza Beefmaster, los cuales fueron producidos en el Laboratorio FIV, de la UGRT. Se obtuvieron 8 y 32 gestaciones, para 35 y 42%, respectivamente, para Puesta de Sol y la India, para un total de 40% de gestación total. El programa de IATF se realizó en el Rancho San Isidro (Guémez), utilizando 133 vacas de registro, 50 Brangus Rojo y 88 Charolais, se utilizó el mismo tratamiento que para TETF, además, las vacas paridas y en condición corporal menor de 2.5, se trataron con 330 UI de eCG, al retiro del CIDR, las vacas se inseminaron entre 55 y 60 horas post-retiro del CIDR; las vacas vacías se re-sincronizaron, utilizando el mismo protocolo. Se obtuvo PG de 41%, y 50% en Brangus Rojo y 35% en Charolais; los parciales para PG fueron de 34 y 24% y de 23 y 16%, respectivamente para ambos programas y ambas

<sup>1</sup>Laboratorio FIV, Unión Ganadera Regional de Tamaulipas, México

<sup>2</sup> Autor para la correspondencia: [aglezr1952@gmail.com](mailto:aglezr1952@gmail.com)

razas. Las diferencias no fueron significativas en TETF ni para IATF. Se concluye que se pueden implementar programas de TETF e IATF, para mejorar la eficiencia reproductiva de los hatos en Tamaulipas.

**Palabras clave:** Bovinos de carne, transferencia de embriones, inseminación artificial, sincronización para programas a tiempo fijo.

## Inseminação artificial e transferência de embriões em tempo fixo em bovinos de corte sob condições tropicais secas

**Resumo.** A porcentagem de gestação (PG) foi determinada para transferência de embriões (TETF) e inseminação artificial (AIF) em tempo fixo, para bovinos de corte, Tamaulipas, sob condições tropicais secas. Dois programas de TETF foram realizados no norte de Tamaulipas, o primeiro em Rancho Puesta de Sol, Burgos, onde 30 novilhas foram tratadas com CIDR mais benzoato de estradiol (BE) e cipionato de estradiol (ECP) após a retirada do CIDR; O segundo programa foi realizado no Rancho La India (Reynosa), onde foram sincronizadas 95 novilhas cruzadas, com o mesmo tratamento. Foram realizadas 23 transferências em Puesta de Sol e 77 transferências em La India, com embriões FIV da raça Beefmaster, produzidos no Laboratório de FIV da UGR. Obtiveram-se 8 e 32 gestações, para 35 e 42%, respectivamente, para Puesta de Sol e Índia, para um total de 40% da gestação total. O programa IATF foi realizado no Rancho San Isidro (Guémez), usando 133 vacas registradas, 50 Red Brangus e 88 Charolês, o mesmo tratamento que para TETF foi usado, além disso, vacas paridas e com condição corporal inferior a 2,5, foram tratadas com 330 UI de eCG, na retirada do CIDR, as vacas foram inseminadas entre 55 e 60 horas após a retirada do CIDR; vacas vazias foram ressinclonizadas, usando o mesmo protocolo. Obteve-se PG de 41%, sendo 50% no Brangus Vermelho e 35% no Charolês; as parciais para PG foram 34 e 24% e 23 e 16%, respectivamente para ambos os programas e ambas as raças. As diferenças não foram significativas no TETF nem no IATF. Conclui-se que os programas TETF e IATF podem ser implementados para melhorar a eficiência reprodutiva dos rebanhos em Tamaulipas.

**Palavras-chave:** Bovinos de corte, transferência de embriões, inseminação artificial, sincronização para programas de tempo fixo.

## Introducción

La ganadería en Tamaulipas, México de tipo extensivo, la alimentación ocurre bajo pastoreo, y orientado a la producción de becerros, para exportación o engorda nacional. Existen innovaciones tecnológicas que permiten mejorar la eficiencia reproductiva y productiva de los hatos, como la aplicación de biotecnologías reproductivas (BR's), lo que requiere contar con hatos, con prácticas básicas de manejo sanitario, alimenticio y reproductivo (Seidell Jr., 2011). También se puede aumentar la productividad, mediante la regulación artificial de la reproducción (Shelton, 1990). Diversas BR's se han aplicado en bovinos productores de carne, para mejorar el comportamiento reproductivo, las cuales iniciaron a partir de la inseminación artificial (IA), desde principios del siglo XX. Se han publicado reportes sobre BR's (Shelton, 1990; Seidell Jr., 2011), y su aplicación en investigación y desarrollo (Thibier, 2006; Seidell Jr., 2011). Algunas BR's, como la IA, la congelación y sexado de semen y la producción y transferencia de embriones (TE) *in vivo* (PEIV), mediante superovulación (SPO), la producción de embriones *in vitro* (AF-FIV), se han utilizado en bovinos (Thibier, 2005, 2006). De cierta forma estas BR's inician con la IA, propiamente, con la primera observación del espermatozoide por Leeuwenhoek (1678, citado por Foote, 2002), posterior-

mente, Spallanzani (1784, citado por Foote, 2002) realiza por primera vez la IA y para 1899, Ivanoff (1922, citado por Foote, 2002) realiza la IA de manera organizada en varias especies; y a partir de 1949 se reporta la congelación de semen (Polge *et al.*, 1949).

El desarrollo de la IA ha contribuido significativamente a la producción de embriones *in vivo*, directamente y vía SPO y TE, la primera TE se realizó en conejos por Heap (1891, citado por Foote, 2002) y 70 años después se realizó en bovinos (Willett *et al.*, 1951); enseguida, inicia la producción en gran escala de embriones *in vivo*, con esquemas de SPO y TE (MOET, Nicholas y Smith, 1983). Posteriormente, se desarrolla la metodología de PEIV, con producción masiva de embriones (Hasler *et al.*, 1995), cuya eficiencia mejoró considerablemente con la aspiración folicular y fecundación *in vitro* (AF-FIV, Pieterse *et al.*, 1988; Ward *et al.*, 2000); hoy en día se lleva a cabo de manera comercial en varios países (Trejo *et al.*, 2020; Watanabe *et al.*, 2017). Además, la IA y la producción masiva de embriones, originó el desarrollo de programas de manejo intensivo de la reproducción (BR's), lo que ha permitido la aplicación de IA y TE a tiempo predeterminado (IATF y TETF, Ambrose *et al.*, 2010; Baruselli *et al.*, 2013). Se documentan resultados de la aplicación de programas de IATF y TETF, bajo condiciones de trópico seco del noreste de México.



## Materiales y Métodos

El estudio se ubicó en el Centro de Desarrollo de Capacidad Productiva y Mejoramiento Genético de la ganadería Dr. Jorge R. Arnáez Gómez, Unión Ganadera Regional de Tamaulipas (Centro-UGRT), ubicado en el km 13 Carretera Victoria-Soto La Marina, coordenadas 23°44'06" latitud N y 99°07'51" longitud O, a 327 msnm. El Centro-UGRT cuenta con clima BS1 (h') hw, semi-seco con lluvias en verano, precipitación media mensual de 62.25 mm, temperatura máxima de 45 °C y una mínima de 20 °C durante el verano y una humedad relativa promedio de 70 % (INEGI, 2017)

Se analizó la información de los programas de IATF y TETF, realizados durante 2019, en ranchos de productores participantes y beneficiarios de los programas del Centro-UGRT. La TETF se realizó con embriones en fresco, producidos *in vitro* en el Laboratorio FIV del Centro-UGRT, de acuerdo protocolos para AF-FIV y TETF, previamente validados; de igual forma, los protocolos de IATF ya han sido previamente validados (González, 2020; Trejo *et al.*, 2020; Watanabe *et al.*, 2017). Brevemente, para la producción de embriones se utilizó el método de AF-FIV inicialmente descrito (Callesen *et al.*, 1987; Pieterse *et al.*, 1988), el cual ha sido validado en varios países (Watanabe *et al.*, 2017), incluyendo México (González, 2020; Trejo *et al.*, 2020).

El protocolo para TETF se realizó con la sincronización de la ovulación y/o el estro de las receptoras, mediante la aplicación de un dispositivo vaginal con progesterona (Crestar o CIDR, Zoetis, México) durante siete días, con la aplicación intramuscular (IM) de 1 mg de benzoato de estradiol (BE, Estrol, Loeffler, México), al retiro del dispositivo (Día 7) se aplicó (IM), 1 mg de cipionato de estradiol (ECP, Zoetis, México); las vacas en condición corporal menor de 2.5 (Escala 1 a 5) o lactantes, recibieron también 333 UI de eCG (INTERVET, México), IM, al retiro del dispositivo. La TETF se realizó 9 días después del retiro del dispositivo, solamente a aquellas vacas que tenían un cuerpo lúteo de calidad 1 o 2 (Escala 1 a 3); bajo anestesia epidural (5 ml, Lidocaina 2%, LAPISA, México), utilizando un aplicador para TE (WTA, Brasil). La eficiencia de la TETF se evaluó mediante el diagnóstico de gestación (PG), 30 días después de la TETF, mediante palpación rectal y

ultrasonido de tiempo real (Mindray DP 10, China).

Para IATF, se utilizó un protocolo similar al utilizado para TETF, la IATF se realizó a las 52-55 horas post-retiro del dispositivo, con una dosis de semen congelado, con motilidad progresiva de al menos 50% (El semen utilizado fue procesado en el Centro de Procesamiento de Semen, UGRT), la IATF fue realizada por el mismo técnico. La eficiencia de la IATF se determinó mediante PG, 30 días después de realizada la IATF, mediante palpación rectal y ultrasonido de tiempo real (Mindray DP 10, China).

Se analizaron los resultados de dos programas de TETF, realizados en el norte del estado (Municipio de Reynosa), en el primer programa, se utilizaron 30 vaquillas Beefmaster X Brahman, de 18 meses de edad, en condición corporal (CC) de 3.5 (escala 1-5); en el segundo programa, se utilizaron 95 vaquillas Beefmaster X Brahman, en CC de 3.5; en ambos casos, las vaquillas fueron vacunadas y desparasitadas y suplementadas con una mezcla mineral, previo al inicio del protocolo y se pastorearon en praderas de zacate buffel.

El programa de IATF se realizó en la zona centro del estado, se utilizaron vacas adultas de la raza Charolais (88) y Brangus Rojo (50), las vacas se pastorearon en praderas de zacate buffel y de sorgo forrajero, se vacunaron, desparasitaron, vitaminaron y suplementaron con una mezcla mineral comercial, se trataron con un protocolo para IATF durante 7 días, se inseminaron de 55 a 60 horas, después del retiro del dispositivo. La eficiencia de este ensayo de IATF se determinó mediante diagnóstico de gestación, realizado mediante palpación rectal y ultrasonido de tiempo real (Mindray, DP 10, China), 30 días después de la IATF. Las vacas que no quedaron gestantes, se re-sincronizaron, utilizando el mismo protocolo.

Los datos se analizaron mediante pruebas de chi cuadrada para establecer diferencias en los valores para PG, entre los grupos de animales y así establecer diferencias entre ranchos y programas, para TETF y IATF, las diferencias significativas se establecieron a una probabilidad de 0.05 (SAS, 2004).

## Resultados

Se realizaron dos programas de TETF en la región noroeste de Tamaulipas, en el primero (Puesta de Sol), se sincronizaron 30 receptoras, de las cuales se transfirieron 23 (77%); en el segundo programa, se sincronizaron 95 receptoras (La India) y se transfirieron 77 (81%), la

eficiencia del tratamiento no fue diferente en los dos programas. El número de gestaciones obtenidas en ambos sitios fue de 8 y 32, con 35 y 42%, de gestación, para ambos, respectivamente; los resultados se resumen en el Cuadro 1.



**Cuadro 1.** Porcentaje de gestación en vacas receptoras, programadas para transferencia de embriones a tiempo fijo, bajo condiciones de trópico seco.

Características/Rancho	Puesta de Sol	La India
Vacas tratadas (n)	30	95
Vacas transferidas (n)	23	77
Vacas gestantes (n)	8	32
Porcentaje de gestación*	35	42

\* No se observaron diferencias significativas entre ranchos, mediante análisis de chi cuadrado  $P < 0.05$ .

Se utilizaron 138 vacas de registro, 50 Brangus Rojo y 88 Charolais, las vacas fueron sincronizadas para IATF en dos ocasiones consecutivas (Cuadro 2), en el primer ensayo, 37 vacas quedaron gestantes, para lograr 28% para PG total, 34% en las vacas Brangus Rojo y 24% en las vacas Charolais

En el segundo programa de IATF, se sincronizaron 101 vacas, 33 vacas Brangus Rojo y 68 Charolais, de las cuales quedaron gestantes 8 y 11, respectivamente, obteniéndose 19% para PG; se obtuvieron valores para PG, de 24% en Brangus Rojo y 16% en vacas Charolais. En ambos ensayos, las vacas Brangus Rojo lograron un mayor PG

**Cuadro 2.** Porcentaje de gestación en vacas de razas de carne de registro, programadas para inseminación a tiempo fijo, de manera consecutiva, bajo condiciones de trópico seco.\*

Rancho/Raza	Brangus Rojo	Charolais	Total/ programa
<b>San Isidro 1</b>			
Vacas tratadas	50	91	141
Vacas IATF	50	88	133
Vacas gestantes	17	20	37
Gestación (%)*	34	23	28
<b>San Isidro 2</b>			
Vacas tratadas	33	68	101
Vacas IATF	33	68	101
Vacas gestantes	8	11	18
Gestación (%)*	24	16	19
IATF1 + IATF2	25/50	31/88	56/138= 40.6%

\* No se observaron diferencias significativas entre razas mediante análisis de chi cuadrada  $P < 0.05$ .

que las vacas Charolais, aunque las diferencias no fueron significativas. Se obtuvieron 56 vacas gestantes, obteniéndose 41% para PG; el PG total fue 50% para vacas Brangus Rojo y 35% para las vacas Charolais.

### Discusión

Los programas de IATF y TETF se diseñaron para economizar tiempo y esfuerzo en la detección de estro (Baruselli *et al.*, 2012; Bo y Baruselli, 2014; Bo *et al.*, 2018). El PG en programas de TETF y de IATF fue de 40% y 41%, respectivamente; resultados considerados como aceptables. Los resultados para IATF se consideran aceptables, ya que, el PG logrado en el empadre anterior del mismo rancho, apenas alcanzó el 20%.

La TETF de PEIVT ha aumentado en los últimos años, y el PG obtenido en bovinos de carne (Bo *et al.*, 2018, Watanabe *et al.*, 2017, Baruselli *et al.*, 2010), Watanabe *et al.* (2017). Se ha reportado 40% para PG, en transferencias realizadas con embriones de FIV en fresco; por otro lado Bo *et al.* (2018) reportaron rangos de variación para PG de 40 a 49%, en receptoras sincronizadas con J Synch o CIDR, resultados de Baruselli *et al.* (2010) indican variaciones para PG de 39 a 56%. Por otro lado, la TETF también se ha utilizado en vacas de razas lecheras, con los valores para PG de 38 a 43% (Ambrose *et al.*, 2010).

En este reporte, el PG varió de 35 a 42%, utilizando vaquillas *Bos taurus* x *Bos indicus* como receptoras, resultados que son similares a los reportados en la

literatura. En otros reportes, utilizando semen sexado para PEIVT, y protocolos para TETF, en vacas cruzadas, la PG varió de 36 a 40% (Pontes *et al.*, 2010). La raza de la donadora afecta los valores para PG, resultados de Watanabe *et al.* (2017) indican PG para Nelore (40.7%) y Gyr (27.3%), que fueron superiores a los de Senepol (16.7%) o Holstein (24%); resultados similares a los encontrados por Pontes *et al.* (2010), para donadoras Gyr (40%) o Holstein (36%), resultados que concuerdan con los encontrados en este estudio (De 35 a 42%), en donadoras Beefmaster. El PG varía de acuerdo a la calidad del cuerpo lúteo, manejo de la receptora y el protocolo de sincronización, valores de respuesta de 40 a 90 %, se han reportado (Baruselli *et al.*, 2010; Bo *et al.*, 2018). En este ensayo, se utilizó una dosis de 330 UI de eCG, con PG de 35 a 42%.

La IA permite el mejoramiento en bovinos, a una tasa mas acelerada (Baruselli *et al.*, 2012, Bo y Baruselli, 2014, Colazo y Mapletoft, 2014), sin embargo, el uso de la IA en gran escala en bovinos de carne no se ha generalizado, principalmente, debido a varios factores de manejo (Baruselli *et al.*, 2012). En base a lo anterior, se desarrollaron protocolos de sincronización del estro y/o la ovulación y que no requieran la detección de estro, como



inducir la ovulación de un folículo dominante, con prostaglandinas y GnRH (Pursley *et al.*, 1995) o sincronizar la emergencia de una onda folicular con EB, ECP y progesterona (Baruselli *et al.*, 2012, Bo y Baruselli, 2014); ambos protocolos permiten la IATF. En este estudio se encontró 40.6% para PG, en ambos programas y para las dos razas, Brangus Rojo y Charolais, los porcentajes parciales fueron 34 y 24% y 23 y 16%, los porcentajes combinados (Programas 1 y 2) fueron 50% y 35%, respectivamente para Brangus Rojo y Charolais.

En un estudio realizado con vacas Brangus (Baruselli *et al.*, 2004), se reportaron valores de 26 a 46% para PG,

con efectos del protocolo, CIDR (46%) u OvSynch (33%) y aumento con monta (90 días), aumentó a 79 a 88%; con efectos de raza, condición ovárica y la eCG; el PG fue menor en vacas Braford (31%), en que en Nelore (47%) o cruzadas (45%), resultados similares a los encontrados en este estudio. Colazo y Mapletoft (2014) reportaron variaciones mas amplias para PG (de 30 a 64%) en vacas Angus. En otro reporte, utilizando IATF (Bo *et al.*, 2016) se reportaron PG de 54.9% y 48.7% para vacas *Bos taurus* y *Bos indicus*, respectivamente; con variación de 6 a 100%. En otra revisión (Baruselli *et al.*, 2012) se observó variación de 10.4 a 65%, con efectos de paridad, raza y CC.

### Conclusión

En conclusion, los estudios realizados con protocolos para IATF y TETF en bovinos de carne indican que se obtienen resultados aceptables para PG y aunque la

variación es amplia (6 a 65%), en este estudio se obtuvieron PG de 16 a 50%.

### Agradecimientos

Los autores agradecen el apoyo financiero otorgado por la Unión Ganadera Regional de Tamaulipas y la

participación de los Criadores participantes, para la realización del proyecto.

**Conflicto de intereses:** Los autores declaran que no existe ningún conflicto de interés

### Literatura Citada

- Ambrose, D. J., M. G. Colazo, and J. P. Kastelic. 2010. The applications of timed artificial insemination and timed embryo transfer in reproductive management of dairy cattle. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 39(Supl.):383-392. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982010001300042>
- Baruselli, P. S., J. N. S. Sales, G. A. Crepaldi, M. O. Marques, R. M. Ferreira, F. M. F. de Sá, and L. M. Vieira. 2013. Uso de la eCG asociada al control de la dinámica folicular: IATF, TETF y SPO. *Revista Taurus*, 62:32-42.
- Baruselli, P. S., R. M. Ferreira, M. F. Sa Filho, L. F. T. Nasser, C. A. Rodrigues, and G. A. Bó. 2010. Bovine embryo transfer recipient synchronization and management in tropical environments. *Reproduction, Fertility and Development*, 22(1):67-74. <https://doi.org/10.1071/RD09214>
- Baruselli, P. S., J. N. S. Sales, R. V. Sala, L. M. Vieira, and M. F. Sá Filho. 2012b. History, evolution and perspectives of timed artificial insemination programs in Brazil. *Animal Reproduction*, 9(3):139-152.
- Bó, G. A. and P. S. Baruselli. 2014. Synchronization of ovulation and fixed-time artificial insemination in beef cattle. *Animal*, 8(Supl. 1):144-150. <https://doi.org/10.1017/S1751731114000822>
- Bó, G. A., E. Huguenine, J. J. De La Mata, R. Núñez-Olivera, P. S. Baruselli, and A. Menchaca. 2018. Programs for fixed-time artificial insemination in South American beef cattle. *Animal Reproduction*, 15(Suppl. 1):952-962. <http://dx.doi.org/10.21451/1984-3143-AR2018-0025>
- Bó, G. A., J. J. De La Mata, P. S. Baruselli, and A. Menchaca. 2016. Alternative programs for synchronizing and resynchronizing ovulation in beef cattle. *Theriogenology*, 86(1):388-396. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.04.053>
- Callesen, H., T. Greve, and F. Christensen. 1987. Ultrasonically guided aspiration of bovine follicular aspiration. *Theriogenology* 27:217 (Abstract).
- Colazo, M. G., and R. J. Mapletoft. 2014. A review of current timed-AI (TAI) programs for beef and dairy cattle. *Canadian Veterinary Journal* 55(8):772-780. <https://doi.org/10.2746/0895-4646/55080772>
- Footo, R. H. 2002. The history of artificial insemination: Selected notes and notables. *Journal of Animal Science*, 80(1):1-10. [https://doi.org/10.2527/animalsci2002.80E-Suppl\\_21a](https://doi.org/10.2527/animalsci2002.80E-Suppl_21a)



- González Reyna, A. 2020. Producción de embriones de donadoras de bovinos de carne en el trópico seco de México. Editorial Académica Española, Beau Basin, Mauritius. 273 p. ISBN 978-620-0-43029-8
- Hasler, J. F., W. B. Henderson, P. J. Hurgten, Z. Q. Jin, and A. D. McCauley. 1995. Pregnancy rates in heifers given hCG at the time of transfer of IVF-derived embryos. *Journal of Reproduction and Fertility*, 15: 18. Abstract.
- INEGI. 2017. Anuario Estadístico del Estado de Tamaulipas. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática, México. 414 p.
- Nicholas, F. W., and C. Smith. 1983. Increased rates of genetic changes in dairy cattle by embryo transfer and splitting. *Animal Science*, 36(3):341-353. <https://doi.org/10.1017/S0003356100010382>
- Pieterse, M. C., K. A. Kappen, Th. A. M. Kruip, and M. A. M. Taverne. 1988. Aspiration of bovine oocytes during transvaginal ultrasound scanning of the ovaries. *Theriogenology*, 30(4):751-762. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(88\)90310-X](https://doi.org/10.1016/0093-691X(88)90310-X)
- Polge, C., A. U. Smith, and A. S. Parkes. 1949. Revival of spermatozoa after vitrification and dehydration at low temperatures. *Nature (London)*, 164:666. <https://doi.org/10.1038/164666a0>
- Pontes, J. H. F., K. C. F. Silva, A. C. Basso, A. C. Rigo, C. R. Ferreira, G. M. G. Santos, B. V. Sanches, J. P. F. Porcionato, P. H. S. Vieira, F. S. Faifer, F. A. M. Sterza, J. L. Schenk, and M. M. Seneda. 2010. Large-scale *in vitro* embryo production and pregnancy rates from *Bos taurus*, *Bos indicus* and *Bos indicus-taurus* dairy cows using sexed sperm. *Theriogenology*, 74:1349-1355. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2010.06.004>
- Pursley, J. R., M. O. Mee, and M. C. Wiltbank. 1995. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF<sub>2</sub>α and GnRH. *Theriogenology*, 44:915-923. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(95\)00279-H](https://doi.org/10.1016/0093-691X(95)00279-H)
- Seidell Jr., G. E. 2011. 50 years of applying reproductive technology to breeding cattle. Range Beef Cow Symp., University of Nebraska, Lincoln, NE. Art No. 295, 9p. <https://digitalcommonsunl.edu/rangebeefcowssymp/295>.
- Shelton, J. N. 1990. Reproductive technologies in animal production. Review of Science and Technology Office International Epizootees, 9(3):825-845. Doi:10.20506/rst.9.3.521.
- Statistical Analysis Systems. S. A. S. 2013. Base SAS® 9.4 Procedures Guide. S. A. S. Institute Inc. 2004, 32-55. Cary, NC, USA.
- Thibier, M. 2005. The zootechnical applications of biotechnology in animal reproduction: Current methods and perspectives. *Reproduction, Nutritional and Development*, 45:235-242. <https://doi.org/10.1051/rnd:2005016>
- Thibier, M. 2006. IETS Data Retrieval Committee, Annual Report. IETS Embryo Transfer Newsletter 24(4):121-18.
- Trejo Meza, F. J., Y. Bautista Martínez, M. Ruiz Albarrán, E. A. López Acevedo, y A. González Reyna. 2020. El efecto de la raza de la donadora sobre la producción de embriones *in vitro* bajo condiciones de trópico seco del noreste de México. In: Producción de embriones de donadoras de bovinos de carne en el trópico seco de México, A. González Reyna (Ed.), Edit. Acad. Esp., Beau Basin, Mauritius, pp. 69-156. ISBN 978-620-0-43029-8.
- Ward, F. A., P. Lonergan, B. P. Enright, and M. P. Boland. 2000. Factors affecting recovery and quality of oocytes for bovine embryo production *in vitro* using ovum pick-up technology. *Theriogenology*, 54:433-446. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(00\)00360-5](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(00)00360-5)
- Watanabe, Y. F., A. H. Souza, R. D. Mingoti, R. M. Ferreira, E. O. S. Batista, A. Dayan, O. Watanabe, F. V. Meirelles, M. F. G. Nogueira, J. B. S. Ferraz, and P. S. Baruselli. 2017. Number of oocytes retrieved per donor during OPU and its relationship with *in vitro* embryo production and field fertility following embryo transfer. *Animal Reproduction*, 14:635-644. <http://dx.doi.org/10.21451/1984-3143-AR1008>
- Willett, E. L., W. G. Block, L. E. Casida, W. H. Stone, and P. J. Buckner. 1951. Successful transplantation of a fertilized bovine ovum. *Science*, 113(2931):247. DOI: [10.1126/science.113.2931.247](https://doi.org/10.1126/science.113.2931.247)