Comparación técnica y económica de dos métodos de mejoramiento genético: Transferencia de Embriones y Fertilización *in* vitro en la hacienda El Trébol, Santa Cruz, Bolivia

María Gabriela Arias Arroyo

Zamorano, Honduras

Diciembre, 2010

ZAMORANO CARRERA DE CIENCIA Y PRODUCCIÓN AGROPECUARIA

Comparación técnica y económica de dos métodos de mejoramiento genético: Transferencia de Embriones y Fertilización *in* vitro en la hacienda El Trébol, Santa Cruz, Bolivia

Proyecto especial presentado como requisito parcial para optar al título de Ingeniera Agrónoma en el Grado Académico de Licenciatura

Presentado por

María Gabriela Arias Arroyo

Zamorano, Honduras

Diciembre, 2010

Comparación técnica y económica de dos métodos de mejoramiento genético: Transferencia de Embriones y Fertilización *in* vitro en la hacienda El Trébol, Santa Cruz, Bolivia

	Presenta	do por:
	María Gabriela	Arias Arroyo
Aprobado:		
Isidro A. Matamoros, Ph.D. Asesor principal		Abel Gernat, Ph.D. Director Carrera de Ciencia y Producción Agropecuaria
John Jairo Hincapié, Ph.D. Asesor.		Raúl Espinal, Ph.D. Decano Académico
John Jairo Hincapié, Ph.D. Coordinador del Área de Zoo	tecnia	Kenneth L. Hoadley, D.B.A. Rector

RESUMEN

Arias, M. G. 2010. Comparación técnica y económica de dos técnicas de mejoramiento genético: Transferencia de Embriones (TE) y Fertilización *in vitro* (FIV) en la hacienda El Trébol, Santa Cruz, Bolivia. Proyecto especial de graduación del programa de Ingeniería Agronómica, Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano. Honduras. 13 p.

La TE consiste en causar una superovulación mediante la aplicación de hormonas en las vacas donantes, inseminarlas y posteriormente recolectar los embriones mediante un lavado uterino, para luego transferirlos en las receptoras. La FIV consiste en la aspiración folicular de los oocitos en las donantes que luego son fertilizados in vitro con semen congelado y transferidos a las receptoras. El objetivo de este estudio fue comparar resultados técnicos y costo de ambas técnicas en la hacienda El Trébol, dedicada al mejoramiento genético de ganado cebuíno en Santa Cruz, Bolivia. Se analizaron los datos obtenidos de ambas técnicas en dicha hacienda durante el 2008. Se trabajó con 42 donantes en total, 20 de TE y 22 de FIV, seleccionadas por su valor genético y potencial de producción. Las receptoras fueron sincronizadas con el mismo protocolo para ambas técnicas, y se usó semen congelado proveniente de Brasil. El porcentaje de preñez fue mayor en TE que en FIV (P<0.05) y el número de terneros nacidos por vaca, el porcentaje de abortos y de muertes al nacimiento fue similar (P>0.05) entre ambos tratamientos. En el tratamiento TE se obtuvo una mayor media de Embriones Transferidos por vaca, y el porcentaje de embriones transferidos, estructuras recuperadas y media de terneros producidos por vaca no mostró diferencia significativa (P>0.05). Los costos para producir un ternero por medio de FIV son mayores que en TE.

Palabras clave: Aspiración folicular, colecta de embriones, superovulación, tasa de preñez.

CONTENIDO

	Portadilla	i
	Página de firmas	ii
	Resumen	iii
	Contenido	
	Índice de Cuadros y Anexos.	V
1	INTRODUCCIÓN	1
2	MATERIALES Y MÉTODOS	3
3	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	6
4	CONCLUSIONES	9
5	RECOMENDACIONES	10
6	LITERATURA CITADA	11
7	ANEXOS	13

ÍNDICE DE CUADROS Y ANEXOS

Cuadr	TO .	Página
1.	Protocolo FIV para donantes	4
2.	Protocolo de superovulación en TE	4
3.	Protocolo de sincronización de receptoras	. 5
4.	Porcentaje de Preñez (PP), Porcentaje de Abortos (PA), Porcentaje de Nacimientos (PN) y Porcentaje de Muertes al Nacimiento (MN)	
5.	Número de superovulaciones/aspiraciones (n), media de Estructuras Recuperadas (ER) por evento por vaca, media de Embriones Transferidos (ET) por evento por vaca, porcentaje de Embriones Transferidos y media de terneros por vaca obtenidos en los trabajos	S S
_	realizados durante el 2008	
6.	Costos variables en USD de los tratamientos, costos promedio por los nueve trabajos realizados de cada tratamiento, costos por preñez y por ternero nacido	
	ternero nacido	8
Anexo	o .	Página
1.	Costos variables de TE y FIV	13

1. INTRODUCCIÓN

Bolivia cuenta con 6,5 millones de cabezas de ganado, de las cuales 2,1 millones se encuentran en Santa Cruz, lo cual equivale al 32% del ganado a nivel nacional. Según el Plan de Uso de Suelo de Santa Cruz, dos tercios del territorio departamental tienen vocación ganadera. La tasa de crecimiento de la ganadería nacional es de 2.5 a 3% (FEGASACRUZ 2010).

Las razas que predominan en dicha zona son del tipo cebú: Nelore, Brahman y Gyr. Para mejorar genéticamente los animales, se utilizan tres métodos principales de reproducción: Inseminación Artificial, Transferencia de Embriones y Fertilización *in vitro*. Estas técnicas se utilizan en el mejoramiento genético con el objetivo de obtener la mayor cantidad posible de descendientes a partir de animales genéticamente superiores (Cabodevila y Torquati 1993).

La Transferencia de Embriones (TE) ha estado disponible en el mundo por más de tres décadas para los productores ganaderos y ha sido el método más utilizado en los últimos años (Thibier 2003). Consiste en hacer superovular por medio de hormonas a las vacas donantes, y posteriormente inseminarlas con dos dosis de semen del toro seleccionado. Con la superovulación se provoca una mayor producción y maduración de folículos mediante la aplicación de altas dosis de gonadotropinas (Del Campo 1984). Se utiliza la Hormona Folículo Estimulante Porcina (FSH-P) obtenida de la glándula pituitaria de cerdos al sacrificio y la gonadotropina sérica (PMSG) o Gonadotropina Coriónica equina (eCG) obtenida de yeguas preñadas. El tratamiento con FSH-P consiste en suministrar dos dosis diarias a las hembras donantes durante cuatro o cinco días desde el día nueve del ciclo estral, ya que en esos días se inicia la segunda onda folicular, en la cual la presencia de un cuerpo lúteo funcional previene la liberación de Hormona Luteinizante (Bó y Mapletoft 1999).

La Respuesta Superovulatoria (RS) puede variar dependiendo de varios factores: la gonadotropina y dosis usada, dosis y frecuencia de administración de Prostaglandina ($PGF_2\alpha$), esquema de tratamiento utilizado, estado del ovario en el momento del tratamiento y la edad, raza y estado nutricional de la donante (Palma y Brem 1993). Las dosis de gonadotropinas utilizadas para la superovulación de las donantes son de suma importancia para la respuesta de éstas al tratamiento, ya que una sobre estimulación tiene efectos negativos en la cantidad de oocitos transferibles (Cabodevila y Torquati 1993). Usando TE se pueden hacer de cinco a seis colectas por vaca al año; y en promedio, se produce en cada colecta de cuatro a cinco embriones, obteniendo un promedio de 15 a 20 preñeces por año (Nogueira 2007) y una tasa de preñez de 60 a 70% (Seidel et al. 2003).

La Fertilización *in vitro* (FIV) consiste en realizar una aspiración folicular a las vacas donantes, en la cual los oocitos son colectados y posteriormente fertilizados en el laboratorio. La aspiración folicular para FIV se puede realizar en cualquier momento del ciclo estral, incluso durante el inicio de la gestación, por lo que la cantidad de terneros producidos por donante y por unidad de tiempo puede ser mayor en comparación con TE. Los oocitos también pueden ser colectados de los ovarios de hembras en matadero. De estos se pueden obtener entre 15 y 18 oocitos por animal, de los cuales 57 a 70% resultan viables para su maduración (Palma y Brem 1993).

Este método presenta algunas desventajas que dificultan su realización: el costo es muy alto comparado con el de TE, la eficiencia es relativamente baja y los oocitos pueden congelarse para trabajos posteriores, pero con una sobrevivencia extremadamente baja (Hasler 1998). Con FIV se pueden obtener de cuatro a ocho oocitos viables por colecta, de los cuales el 30% resulta en embriones transferibles. El cultivo in vitro de embriones puede provocar una reducción en las tasas de gestación, mayores tasas de muerte perinatal, malformaciones y Síndrome de las Crías de Gran Tamaño (SCGT; Gordon 2006). El porcentaje de preñez promedio es de 40-50% y el promedio de terneros obtenidos es menor que en TE (Seidel *et al.* 2003). El porcentaje de abortos generalmente puede llegar a 33% (Berg *et al.* 1991).

La sincronización y manejo de las receptoras para FIV se hace de la misma manera que para TE. A las vacas donantes para FIV no se les hace ningún tratamiento para poder aspirar los oocitos, por lo que son menos afectadas después de varios trabajos, en comparación con las que se usan para TE. La cantidad de semen es menor en FIV, ya que con una dosis de semen se pueden fertilizar varios oocitos en el laboratorio, mientras que en TE, para obtener una cantidad muy variable de embriones viables, se requiere por lo menos dos dosis de semen por cada vaca donante. El objetivo de este estudio fue comparar la efectividad técnica y el costo por ternero producto de ambas técnicas.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Bolivia cuenta con nueve departamentos, de los cuales Santa Cruz es el más grande, con 370,621 km², es decir, el 33.74% del territorio nacional. Se encuentra situado en la zona Este del país, a una altura de 437msnm, con una precipitación anual de 1,244mm, temperatura promedio anual de 24.2°C, distribuidas en cuatro estaciones al año: verano, otoño, invierno y primavera.

El estudio se realizó entre enero y abril del 2010 en la hacienda de mejoramiento genético El Trébol, en Santa Cruz, Bolivia, donde se trabaja con ganado de carne cebuíno, principalmente Nelore y Brahman. Esta hacienda se localiza en el Municipio de Cabezas, Provincia Cordillera, que es parte del Departamento de Santa Cruz de la Sierra. Se encuentra a una altura de 493 msnm y presenta una precipitación promedio anual de 1,053 mm. Ocupa un área de 960 hectáreas totalmente estructurada para la crianza del hato ganadero.

Se evaluaron las técnicas TE y FIV, con base en los resultados obtenidos en el 2008. Para ello se utilizaron los registros de aspiraciones, colectas de embriones, transferencias y preñeces de los trabajos realizados en dicho año en la hacienda.

Las vacas utilizadas como donantes para TE y FIV, así como los toros a usar para cada donante, fueron seleccionadas por un técnico especializado, mediante la evaluación visual de sus crías y su genealogía. El semen fue importado directamente de Brasil en el caso de TE, y proporcionado por el laboratorio Embriza en el caso de FIV.

El primer tratamiento corresponde a FIV, en el cual se trabajaron 22 vacas Nelore, a las cuales les fueron aspirados los oocitos para luego ser fertilizados *in vitro* en el laboratorio y posteriormente transferidos a las receptoras (Cuadro 1).

El segundo tratamiento fue la TE mediante superovulación de las donantes. Se usaron 16 vacas Nelore y 4 Brahman, para un total de 20 donantes, las cuales fueron tratadas con hormonas para inducir la superovulación, e inseminadas dos veces. Los embriones fueron colectados mediante lavado uterino y transferidos a las vacas receptoras (Cuadro 2).

Cuadro 1. Protocolo FIV para donantes

Día	Tratamiento
-1	Aspiración de oocitos
-1-0	Maduración de oocitos en laboratorio
0	Fertilización in vitro con semen congelado
1-7	Cultivo de embriones en laboratorio
7-8	Implantación de embriones en receptoras
40	Palpación de receptoras (diagnóstico de preñez)
55-65	Sexado y confirmación de preñeces

Cuadro 2. Protocolo de superovulación en TE

Día	Momento de la aplicación*	Tratamiento
0	am	Colocación de DIB [®] (Dispositivo Intravaginal Bovino)
		+ 2 mg Benzoato de Estradiol
4	am	150 UI Pluset® (Hormona Folículo estimulante porcina)
	pm	150 UI Pluset [®]
5	am	125 UI Pluset [®]
	pm	125 UI Pluset [®]
6	am	75 UI Pluset® + 500 μg D-Cloprostenol (2 mL
		Ciclase [®] DL) + retiro de DIB [®]
	pm	75 UI Pluset® + 500 μg D-Cloprostenol (2 mL
		Ciclase®DL)
7	am	50 UI Pluset®
	pm	50 UI Pluset® + detección de celo
8	am	Detección de celo
-	pm	Inseminación Artificial
9	am	Inseminación artificial
15	pm	Colecta de embriones

^{*}Las aplicaciones se hicieron con intervalos de 12 horas.

Cuadro 3. Protocolo de sincronización de receptoras.

Día	Tratamiento
-1	Colocación de DIB [®] + 2 mg de Benzoato de Estradiol (BE)
5	500 μg D-Cloprostenol (2 mL Ciclase®DL) + 400 UI Gonadotropina Coriónica Equina (2 mL Novormon®)
7	Retirar implante
8	1 mg BE
16	Transferencia de embriones

Se determinaron las siguientes variables:

Porcentaje de preñez
Porcentaje de abortos
Porcentaje de nacimientos
Porcentaje de terneros muertos al nacimiento
Cantidad de terneros promedio por vaca
Media de estructuras recuperadas por vaca
Media de embriones transferidos por vaca
Costo variable de cada técnica por ternero nacido

Se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA), donde las variables porcentuales: Porcentajes de preñez, nacimientos, abortos y partos distócicos se analizaron con el método de Chi cuadrado, y las variables numéricas con el Análisis de Varianza (ANDEVA) y separación de medias. Para el análisis estadístico se utilizó el programa Statistical Analysis System (SAS 2009). El nivel de significancia exigido fue de (P≤ 0.05).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las vacas receptoras que recibieron embriones producto de la superovulación y la TE tuvieron un mayor (P≤0.05) Porcentaje de Preñez (PP) que las receptoras que recibieron embriones producto de FIV (Cuadro 4). Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Bousquet *et al.* (2003) de 55.2% en TE y 48.9% en FIV. El porcentaje de preñez en TE es mayor al obtenido por Soleto (2000), de 45.5% con celo sincronizado, y es inferior al rango reportado por Bogart y Taylor (1998) de 55 a 65%. El porcentaje de preñez obtenido con FIV fue de 38.4% y es similar al observado por Hoshi (2003) de 39.6 y 32.8% en diferentes medios de cultivo de embriones, y menor al obtenido por Reichenbach *et al.*(1992) de 48%, Berg *et al.* (1991) de 49% y Hasler (1998) de 54% en vacas Holstein.

Las tasas de nacimientos, abortos y muertes al nacimiento no tuvieron diferencia significativa entre los tratamientos (P>0.05). El porcentaje de abortos en FIV es de 27.2% y es similar al obtenido por Berg *et al.* (1991) de 33% en transferencia unilateral, y mayor a los encontrados por Hoshi (2003) de 14.8 y 13.6%. El porcentaje de abortos en TE es 21.0%, y es superior a los obtenidos por King *et al.* (1985) de 7.4 y 5.2%; y en ambos tratamientos son mayores a los encontrados por Hasler *et al.* (1998), quienes obtuvieron 11% de abortos en FIV y 5.3% en TE. El porcentaje de nacimientos es de 73.5% en FIV, el cual es inferior al obtenido por Hoshi (2003) de 85.2 y 86.4%. El porcentaje de terneros muertos al nacimiento fue de 8.3% en TE y de 12% en FIV. Estos resultados son similares a los reportados por Hasler *et al.* (1998) de 9% en TE y 15.6 y 10% en FIV, Hoshi (2003) obtuvo resultados similares de muertes al nacimiento en FIV de 13.6%.

Cuadro 4. Porcentaje de Preñez (PP), Porcentaje de Abortos (PA), Porcentaje de Nacimientos (PN) y Porcentaje de Muertes al Nacimiento (MN).

	<i>,</i> ,		\ /		
Tratamiento ²	PP (%)	PA (%)	PN (%)	MN (%)	
TE	52.5a	21.0	69.6	8.3	
FIV	38.4 ^b	17.5	73.5	12.0	
P	0.0003	0.4422	0.6078	0.3150	

¹Valores en la misma columna con distinta letra, difieren significativamente entre sí (P≤0.05).

FIV= Fertilización in vitro

²TE= Transferencia de Embriones

De las 20 vacas de TE, 6 no respondieron a la superovulación (16.2%), mientras que el restante 83.8% de vacas respondieron al tratamiento. Estos datos concuerdan con Hincapié y Pipaon (2004), quienes establecen un rango entre 15 y 20% de no respuesta al tratamiento superovulatorio. También fueron superiores a los obtenidos por Donaldson (1984) quien encontró que el 68% de las hembras inducidas a la superovulación produjeron embriones transferibles, y difieren de los resultados obtenidos por Mejía y Vásquez (2002), quienes obtuvieron 100% de respuesta a la superovulación. En este aspecto, la FIV presenta la ventaja de poder aprovechar las hembras de alto valor genético que no responden a la superovulación.

Con base en el número de vacas que respondió a la superovulación se hizo el cálculo de media de terneros por vaca (Cuadro 5). En ambos trabajos, las vacas fueron tratadas varias veces durante el año, debido a esto el número de observaciones es mayor al número de vacas. El número de muertes al nacimiento, nacimientos y abortos fue similar en ambas técnicas, obteniendo resultados similares a los de Berg *et al.* (1991).

En el tratamiento TE se obtuvo un mayor porcentaje de embriones transferidos, se recuperó en promedio menos estructuras que en FIV, la media de embriones transferidos por vaca fue mayor en TE (Cuadro 5), pero la media de terneros producidos por vaca no mostró diferencia significativa (P≥0.05). El porcentaje de Embriones Transferidos (ET) en TE fue de 74.5%. Este resultado es similar al obtenido por Mejía y Vásquez (2002) de 70.5%, y superior los encontrados por Gordon (1996) de 59%, Mapletoft (1980) de 66.6% y Wu *et al.* (1988) de 52%.

La media de Embriones Transferibles obtenida en FIV es de 8.77 por vaca. Este resultado es mayor al obtenido por Lonergan (2003) de 5.63 embriones transferibles por vaca en 25 países europeos en el 2002. La media de Embriones Recuperados (ER) por vaca en FIV es de 11.34, la cual es similar al obtenido en Scientific Meeting in the AETE (1996) de 9 embriones por vaca, usando donantes con enfermedades crónicas, lastimadas o seniles.

Cuadro 5. Número de superovulaciones/aspiraciones (n), media de Estructuras Recuperadas (ER) por evento por vaca, media de Embriones Transferidos (ET) por evento por vaca, porcentaje de Embriones Transferidos y media de terneros por evento por vaca obtenidos en los trabajos realizados durante el 2008.

Tratamiento ²	n	media	media	% ET	media terneros /vaca
		ER/evento/vaca	ET/evento/vaca		
TE	37	10.7 ±7.6	$8.8^{a} \pm 6.6$	74.5	7.1 ± 5.1
FIV	89	11.3 ± 9.6	$5.6^{b} \pm 4.4$	43.9	6.4 ± 6.0

¹Valores en la misma columna con distinta letra, difieren significativamente entre sí $(P \le 0.05)$.

FIV= Fertilización in vitro

²TE= Transferencia de Embriones

Se estimaron los costos marginales para la producción de un ternero con cada tratamiento. No se tomaron en cuenta los costos fijos, que son en los que se incurre independientemente del tratamiento que se utilice, como los costos de alimentación, sincronización y mantenimiento de receptoras y manejo sanitario.

Los costos variables fueron mayores en FIV (Cuadro 6), debido al alto costo del trabajo en laboratorio. Estos costos incluyen el costo del trabajo de aspiración o colecta, la transferencia de los embriones a las vacas receptoras, el semen utilizado y, en el caso de TE, el tratamiento superovulatorio. El costo total del semen es similar en ambos casos, ya que para TE se utiliza mayor cantidad de dosis, pero los toros usados para FIV son generalmente de mayor valor genético. Los costos variables por preñez y por ternero nacido son mayores en FIV. En TE, el costo por preñez es de US\$41, similar al estimado por Mejía y Vázquez (2002) de US\$33.

Cuadro 6. Costos variables en USD de los tratamientos, costos promedio por los nueve trabajos realizados de cada tratamiento, costos por preñez y por ternero nacido.

Tratamiento ¹	n	Costos variables	Costo por trabajo	Costo/preñez	Costo/ternero
TE	37	5,952.35	160.87	43.13	62.00
FIV	89	52,689.32	592.01	309.94	421.51

¹TE= Transferencia de Embriones

FIV= Fertilización in vitro

El costo de FIV fue casi 7 veces mayor que el de TE, sin embargo resulta en un mayor número de terneros producidos por vaca en un año.

4. CONCLUSIONES

- El mayor porcentaje de preñez se obtiene en la TE, sin embargo, el número de terneros nacidos por vaca, el porcentaje de abortos y de muertes al nacimiento fue similar entre TE y FIV.
- La media de embriones transferidos por evento fue mayor en TE, y la cantidad de terneros nacidos al finalizar el año fue mayor en FIV.
- La utilización de FIV resultó en un costo 7 veces mayor al de TE, y resultó en un mayor número de crías nacidas por vaca donadora en un año de trabajo.

5. RECOMENDACIONES

- Realizar un estudio a mediano y largo plazo sobre el efecto del tratamiento de la superovulación en la salud e integridad de las vacas donantes.
- Seguir usando la Transferencia de Embriones como método de mejoramiento genético.

6. LITERATURA CITADA

- Berg, U.; Reichenbach, H.D.; Liebrich, J. 1991 Twin pregnancies after transfer of *in vitro* produced bovine embryos. 7ed. Cambridge. 122 p.
- Bó, G. A.; Mapletoft R. J. 1999. Control del desarrollo folicular y su aplicación en programas de superovulación de donantes de embriones. Instituto de Reproducción Animal Córdoba, Argentina. Taurus p. 14-27.
- Bogart, R.; Taylor, E.R. 1998. Producción commercial de animales de granja. Editorial Limusa. México D.F. 503 p.
- Busquet, D.; Burnside, E.B., Van Doormaal, B.J. 2003. Biotechnologies of reproduction applied to dairy cattle production: embryo transfer and IVF. Canadian Journal of Animal Science. 83: 403-407.
- Cabodevila, J.; Torquati, S. 1993. Biotecnología en producción animal En: Transferencia de Embriones y Biotecnología de la Reproducción en la Especie Bovina. Buenos Aires, Argentina. Editorial Hemisferio Sur. p. 33-36.
- Del Campo, M. R. 1984. Transferencia de embriones en bovinos: métodos y técnicas. Monografías de Medicina Veterinaria. 6 (2).
- Donaldson, L. 1984. Cattle breed as a source of variation in embryo transfer. Theriogenology 21: 1013-1018.
- FEGASACRUZ. 2010. Datos Estadísticos. (en línea). Santa Cruz, Bolivia. Consultado 6 abril 2010. Disponible en http://www.fegasacruz.org/index.php?option=com_content&task=view&id=15&Itemid=4
- Gordon, I. 1996. Controlled reproduction in cattle and buffaloes. Cambridge, Inglaterra. CAB International. 492 p.
- Gordon, I. 2006. Tecnología de la Reproducción de los animales de granja. Traducido por: David George. Zaragoza, España. Editorial Acribia. 441 p.
- Hasler, J. F. 1998. The current status of oocyte recovery, *in vitro* embryo production, and embryo transfer in domestic animals, with an emphasis on the bovine. Journal of Animal Science, 76: 52-74.

Hincapié, J.J.; Pipaon, E.C. 2004. Técnicas para mejorar la eficiencia reproductiva en animales de granja. Tegucigalpa, Honduras. Ed. Litocom. 233 p.

Hoshi, H. 2003. *In vitro* production of bovine embryos and their application for embryo transfer. Theriogenology 59:675-685.

King, K.; Seidel, G.; Elsden, R. 1985. Bovine embryo transfer pregnancies. I. Abortion rate and characteristics of calves. Journal of Animal Science. 61: 747-757.

Lonergan, P. 2003 Overall bovine embryo transfer activity in Europe in 2002. Proceedings 19th meeting European Embryo Transfer Association (Rostock). p. 77.

Mapletoft, R. 1980. Effect of a progestagen ear implant on superovulatory response I the cow. Theriogenology. 13:102.

Mejía, R.; Vásquez C. 2002. Evaluación de la técnica de transferencia de embriones bajo las condiciones de Zamorano. Tesis Ing. Agr. Escuela Agrícola Panamericana. Tegucigalpa, Honduras. 31 p.

Nogueira, E. 2007. Fertlilización *in vitro*: Adelanto tecnológico. Campo Grande, Brasil. 99 diapositivas, color.

Palma, G.A.; Brem, G. 1993. Transferencia de embriones y biotecnología de la reproducción en la especie bovina. Buenos Aires, Argentina. Ed. Hemisferio Sur. 503 p.

Reichenbach, H.D.; Liebrich, J.; Berg, U. 1992. Pregnancy rates and births after unilateral or bilateral transfer of bovine embryos produced *in vitro*. Journal of Reproduction Fertility 95:363-370.

SAS. 2009. SAS User Guide. Statistical Analysis Institute Inc. Cary N.C.

Scientific Meeting in the AETE (12, Lyon, Francia. 1996). Proceedings. Embryo production from valuable individual salvage cows. Eds. Green, D.; McGuirk, B.J. p.134

Seidel, G.; Elsden, R.P.; Hasler, J.F. 2003. Embryo Transfer in dairy cattle. 3 ed. Wisconsin. Hoard's Dairyman. 96 p.

Soleto, R. 2000. Sincronización de celos para inseminación artificial y transferencia de embriones en vaquillas de carne y doble propósito. Tesis Ing. Agr. Escuela Agrícola Panamericana. Tegucigalpa, Honduras. 25 p.

Thibier, M. 2003. More than a half million embryos transferred in 2002. Embryo Transfer Newsletter. IETS. p. 12-19.

Wu, M.; Wang, H.; Murphy, B.; Mapletoft, R. 1988. Superovulation of beef cows with Folltropin: a dose trial. Theriogenology 29:332.

7. ANEXOS

Anexo 1. Costos variables TE y FIV (U.S. \$)

TE

# Colecta	Costo Semen	Costo Trabajo	Total
1	954.43	540	1,494.43
2	203.30	170	373.30
3	916.02	340	1,256.02
4	197.07	390	587.07
5	157.68	150	307.68
6	107.44	180	287.44
7	580.00	150	730.00
8	234.43	290	524.43
9	181.98	210	391.98
			5,952.35

FIV

# Aspiración	Costo Semen	Costo Trabajo (\$300/preñez)	Total
1	244.24	1,800	2,044.24
2	281.16	3,000	3,281.16
3	312.4	7,800	8,112.40
4	198.8	3,900	4,098.80
5	232.88	5,100	5,332.88
6	201.64	4,800	5,001.64
7	1,059.32	9,000	10,059.32
8	417.48	6,300	6,717.48
9	241.4	7,800	8,041.40
			52,689.32