

INCIDENCIA DE CUERPOS LÚTEOS COMPACTOS (CLcom) O CAVITARIOS (CLc), *IN VIVO* Y SU EFECTO SOBRE LOS RESULTADOS DE PREÑEZ DESPUÉS DE LA TRANSFERENCIA DE EMBRIONES BOVINOS PRODUCIDOS *IN VITRO*

Reinaldo De Armas*^{1,2}, Jennipher Marie De Gracia², Alex Solís Corrales^{1,2}



¹Universidad de Panamá, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Centro de Investigaciones en Biotecnologías Agropecuarias (CIBA).

²Universidad de Panamá, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Departamento de Zootecnia.

@ *reinaldo.dearmas@up.ac.pa, jenniphermarie0925@gmail.com, alex.solis@up.ac.pa

RESUMEN

Esta investigación fue desarrollada con el objetivo de conocer la incidencia de Cuerpos Lúteos (CL), cavitarios (CLc) o compactos (CLcom), al momento de la selección para la transferencia de embriones producidos *in vitro* y posteriormente, relacionarlo con los índices de preñez alcanzados. Para la exploración de los ovarios se empleó un ecógrafo veterinario portátil (SIUI, CTS 800) con una sonda lineal de 7.5 MHz. Del total de hembras sincronizadas (200 vacas cruzadas Cebú x Holstein o Brown Swis), para la transferencia de embriones a tiempo fijo (TETF), el 77.5% presentaron ovulaciones, evidenciadas por la presencia de un cuerpo lúteo el día de la transferencia. La aparición de CLc, fue ligeramente inferior que la de CLcom (92 vs 63 para un 46 vs 31.5% respectivamente), lo que pudo ser solamente una tendencia matemática, apreciada en este grupo de hembras. Al evaluar los resultados de gestación registrados ecográficamente a los 45 días de la transferencia en las 155 hembras empleadas como receptoras de embriones, los porcentajes de preñez fueron ligeramente superiores en las hembras que presentaron CLc en comparación con las que se les diagnosticó CLcom (49.2 y 41.3% respectivamente); evidenciando un diferencial en el éxito de la transferencia de un 7.9%, lo cual a pesar de no arrojar diferencias estadísticas, es apreciable cuando se proyectan trabajos de TETF en explotaciones grandes con alta población. Se concluye que la presencia de cavidad en el CL no afectó los resultados de gestación en programas de transferencia de embriones producidos *in vitro* a tiempo fijo (TEPIVTF), por lo que es posible emplear para programas de TE tanto hembras receptoras con presencia CLc como CLcom sin afectar los resultados de gestación.

PALABRAS CLAVES: Cuerpo Lúteo, Cuerpo Lúteo Cavitario, Cuerpo Lúteo Compacto, transferencia de embriones, embriones producidos *in vitro*.

INCIDENCE OF COMPACT CORPUS LUTEUM (CLcom) OR CAVITARY (CLc) IN VIVO AND ITS EFFECT ON PREGNANCY RESULTS AFTER TRANSFERRING BOVINE EMBRYOS PRODUCED *IN VITRO*

ABSTRACT

This research was carried out with the aim of knowing the incidence of Cavitary (CLc) or compact Corpus Luteum (CLcom), at the time of selection for transfer of embryos produced *in vitro* and correlate it to pregnancy results. For the exploration of the ovaries, a portable veterinary ultrasound scanner (SIUI, CTS 800) with a linear probe of 7.5 MHz was used. From the total of synchronized females (200 cows Cebu x Holstein or Brown Swis), for embryo transfer at fixed time (ETFT), 77.5% presented ovulations evidenced by the presence of a corpus luteum on the day of the transfer. CLc presentation was slightly lower than CLcom (92 vs 63 46 vs 31.5% respectively), which could be due a mathematical trend, appreciated in this group of females. When evaluating the pregnancy results recorded by ultrasonography at day 45 after transfer, from the 155 females used as embryo recipients, the pregnancy rate was slightly higher in females that presented CLc compared to those that were diagnosed with CLcom (49.2 and 41.3% respectively); evidencing a differential in success of 7.9%, which despite not showing statistical differences, is appreciable when large projects of ETFT are projected in large farms with a high population. It is concluded that the presence of cavity in CL did not affect the pregnancy results in transfer programs using embryos produced *in vitro* at fixed time (TEPIVTF), so we concluded that is possible to use for ET programs both females with the presence of CLc or CLcom without affect the results of pregnancy.

KEY WORDS: Corpus Luteum, Cavitary Corpus Luteum, Compact Corpus Luteum, embryo transfer, *in vitro* produced embryos.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, la explotación eficiente de las posibilidades productivas de los animales de granja es un reto que nos impone las necesidades siempre crecientes de alimentación y nutrición humana a nivel mundial. Tomando en cuenta esto, se ha trabajado fuertemente para que los procesos productivos sean eficientes en los distintos tipos de empresas ganaderas. El desarrollo del mejoramiento genético, aunado a un manejo adecuado han permitido lograr una mayor productividad en la ganadería. Estas condiciones nos han obligado a implementar procedimientos biotecnológicos para avanzar más rápidamente en la mejora genética. Sin embargo, para la aplicación de estos procesos biotecnológicos se requiere de conocer ampliamente sobre las

condiciones y mecanismos dentro de los procesos fisiológicos reproductivos, y así poder alcanzar mayores niveles de eficiencia (Duica *et al.*, 2007).

Biología es el término aplicado para varias técnicas que utilizan la capacidad de los seres para proporcionar productos o servicios. Fue utilizada por primera vez antes del siglo XX para actividades tradicionales como la como la manufactura de derivados lácteos, de pan y de vino. Actualmente ninguna de estas técnicas es considerada como biotecnologías, en la acepción moderna del término. La biotecnología moderna no se basa en el principio de utilizar varios organismos, sino las técnicas para hacerlo (De Armas, 2012).

Decuadro (2012), sostuvo que, durante los últimos 50 años, la producción animal creció en volumen y se ha diversificado en la mayoría de los países. Tal evolución se debió no sólo a la alta eficiencia de las especies animales, sino al mejoramiento en las áreas de fisiología, manejo, nutrición, genética y reproducción.

Las biotecnologías de la reproducción en bovinos han avanzado vertiginosamente en los últimos años. A pesar de esto la inseminación artificial ha demostrado ser la biotecnología que más ha impactado en la mejora genética del ganado bovino a pesar de los inconvenientes que acarrea. La técnica de inseminación artificial a tiempo fijo (IATF), en la actualidad está bien establecida y los resultados son satisfactorios y previsibles. Esta biotecnología es capaz de sortear, con relativo éxito, los principales problemas que reducen la eficiencia reproductiva en hembras sometidas a programas de inseminación artificial (IA). Entre estas dificultades, se pueden mencionar la escasez de mano de obra calificada en el campo, mantenimiento de contenedores de nitrógeno líquido y las fallas en la detección del celo. Luego de numerosos estudios para ajustar técnicamente los protocolos de IATF, surgió la necesidad de adecuarla a la rutina de manejo de los establecimientos ganaderos donde se realizaban trabajos voluminosos de transferencia de embriones (TE) y que presentaban estos mismos problemas dando lugar a la transferencia de embriones a tiempo fijo TETF (Baruselli *et al.*, 2015 y Mojica, 2013).

La TE en vacunos se comenzó a practicar en los años 60 a través del uso de cirugía. En el 1970 se inicia la técnica sin la necesidad de ésta, utilizando en sustitución un catéter con el cual se podía extraer los embriones del útero de la vaca. De inmediato esta técnica se extendió a todos los países desarrollados y subdesarrollados del mundo. México fue uno de los primeros países de ganadería subdesarrollada que adoptó esta técnica. Para el 1976, México estaba diseminando esta tecnología por toda su amplia extensión territorial. Costa Rica, Argentina, Uruguay, Cuba, Colombia, Venezuela y el resto de los países de América Latina exceptuando Haití y la República Dominicana, tienen desde hace varios años centros para la realización y propagación de ésta interesante innovación (Transferencia de Embriones, 2010).

La técnica de la TE en bovinos requiere de la selección y el manejo, tanto físico como farmacológico, de las donadoras y las receptoras. Los beneficios de esta técnica permiten obtener de una sola vaca con características productivas excepcionales una gran cantidad de terneros que no se podrían concebir de manera natural (Transferencia de embriones, 2010). Mediante la TE es posible acelerar el progreso genético, maximizando el potencial gamético de la hembra, ya que al aumentar el número de embriones y terneros se puede potenciar y evaluar más estrictamente el valor genético de la hembra. Por esta razón la eficiencia de los programas de selección y cruzamiento aumentan considerablemente con la aplicación de la TE.

A pesar de que a través de las biotecnologías reproductivas se ha logrado un gran avance y eficiencia en la producción animal se hace necesario determinar y conocer los factores que afectan la eficiencia tras aplicar estas técnicas. Panamá no se encuentra fuera de este contexto y se han producido avances de gran importancia apostando hacia la utilización de las biotecnologías, asociadas a la reproducción animal. Tomando en cuenta el gran incremento en la difusión de la IA y la técnica de TE, debemos destacar que nuestro país es el tercer país que más embriones producidos por fertilización *in vitro* transfiere a nivel de Centroamérica, técnica la cual comenzó a implementarse en Panamá hace apenas 5 años.

La ecografía no es más que una técnica que emplea ondas de sonido de alta frecuencia para producir imágenes de los tejidos blandos y órganos internos, los cuales podemos visualizar a través de la pantalla del ecógrafo (Bicalho *et al.*, 2008). Torres (2012), sostuvo que, la aplicación de la

ecografía en las especies bovina y equina se inició en los años 80, sin embargo, su desarrollo y perfeccionamiento para el estudio de los eventos reproductivos se ha acelerado en la presente década y su empleo en los estudios de funcionamiento ovárico, han permitido grandes avances en el conocimiento del tema. Resulta importante mencionar la gran relevancia que tiene la ecografía para la aplicación exitosa de la técnica de TE, ya que en la actualidad con el perfeccionamiento de la producción de embriones *in vitro* se ha salvado el problema de la generación de grandes cantidades de embriones, por lo que el problema que enfrentamos hoy es la disponibilidad de hembras receptoras sincronizadas y con un cuerpo lúteo (CL), que tenga las características que nos garanticen una producción adecuada de progesterona al momento de la transferencia para asegurar la gestación. Por esto, una evaluación exhaustiva del CL se hace necesaria y ha quedado demostrada la superioridad de la ecografía sobre la exploración clínica por palpación manual para diagnóstico ovárico según plantean Bicalho *et al.* (2008) y Trujillo y Peña (2014). De esta forma se eliminaría la subjetividad por parte del técnico al realizar un diagnóstico manual incorrecto, que podría eliminar receptoras que si presentan un CL adecuado para ser receptoras de embriones. Muchos transferencistas sostienen la teoría de que los cuerpos lúteos cavitarios (CLc), no garantizan el soporte hormonal necesario para garantizar una preñez, motivo por el cual resulta necesario la realización de estudios que rechacen o apoyen este planteamiento.

El Cuerpo Lúteo, es una glándula endocrina transitoria, secretora de progesterona (P4), la cual juega un papel importante en el mantenimiento de la preñez en los mamíferos domésticos (Uribe *et al.*, 2011). Se han realizado estudios donde se ha planteado que aquellos ovarios que presentan un cuerpo lúteo compacto (CLCom) de mayor tamaño (estimado ecográficamente), presentan una mayor cantidad de células luteales funcionando y produciendo P4, lo cual ha sido correlacionado con altos porcentajes de preñez en las técnicas de TE e IA (Spencer *et al.*, 2004 y Rodríguez *et al.*, 2007), mientras otros investigadores como Trujillo y Peña (2014), plantearon que el efecto no es tan aparatoso si alcanzan ciertas dimensiones. Se ha observado que existen CL compactos (CLcom) y cuerpos lúteos que presentan una cavidad llena de líquido en su interior. De forma tal que si después de la ovulación, se produce un (CLc), que morfológicamente en su forma exterior presenta un tamaño similar o igual a un CLcom, obviamente esta cavidad estará relacionada con una menor cantidad de tejido luteal presente, lo que pudiese representar una menor cantidad de P4 secretada por el CL. Basándose en esto diversos autores han planteado que esta condición pudiese

ser responsable de una baja fertilidad en la TE. Como se conoce que los porcentajes de preñez con embriones congelados o producidos *in vitro* resultan un poco menores que los alcanzados con los generados *in vivo*, a nosotros se nos creó la necesidad de realizar este estudio, para determinar si estas condiciones del CL pudieran influir en los resultados de preñez. A su vez este estudio permitiría el no rechazar receptoras potenciales que pudieran ser sacadas de los programas al momento de la transferencia de forma injusta, ocasionando pérdidas económicas considerables.

MATERIALES Y MÉTODOS

En el presente estudio se emplearon un total de 200 hembras bovinas de cruces lecheros (Pardo Suizo x Brahman), de edades entre 4 y 6 años, ubicadas en la Hacienda Ecos del Porvenir, Cantagallo, Distrito de Alanje, Provincia de Chiriquí, con una condición corporal ente 3 y 4 en escala de 5, descrita por Edmondson *et al.* (1989).

Estas hembras candidatas a receptoras de embriones, fueron tratadas con un protocolo sincronización de celo en tiempo fijo referido por múltiples autores (Baruselli *et al.*, 2015, Irouléguy, 2011, Kayser, 2014, Sala *et al.*, 2016), consistente en: aplicación en el día 0 de 2ml Sincrodiol IM (benzoato de estradiol 1mg/ml) y la colocación de un dispositivo intravaginal liberador de progesterona (Sincrogest® 1g), el cual se mantuvo intravaginal por 8 días. Al culminar este periodo fue retirado el dispositivo y se acompañó de aplicación IM de 2ml de Sincrocio® (526 mg de coprostenol sódico) + 1ml de SincroCP (Cipionato de estradiol 1mg/ml) + 333 UI de Sergón (Gonadotropina coriónica equina). La transferencia se ejecutó no quirúrgicamente sin previa observación de celos (TETF), 9 días después del retiro del dispositivo intravaginal (día 17 del ensayo). En todos los casos se utilizaron embriones producidos *in vitro* con 7 días de edad y en estadios de blastocistos expandidos.

Para la selección de las hembras que podían recibir embriones, se examinaron ambos ovarios empleando un equipo de ecografía (SIUI. CTS-800), con una sonda lineal de 7.5MHz. Manualmente se colocó el ovario contra el transductor para obtener una mejor imagen y observar si presentaban un CL y determinar si el mismo era cavitario o compacto, según fue descrito por Kito *et al.* (1986) y como se ejemplifica en la figura 1.:



Figura 1. Imágenes ecográficas de ovarios (a): ovario sin cuerpo lúteo, (b): ovario con CLc, (c): ovario con CLcom.

Solamente fueron transferidas aquellas hembras que presentaron un cuerpo lúteo desarrollado, registrándose si poseían cavidad o no y se rechazaron las que no presentaron CL.

Análisis Estadísticos: (Tabla 1, 2).

y = parámetro a medir

y1 = índice positivo de éxito → cuantas resultan preñadas

y2 = índice negativo de éxito → cuantas no resultan preñadas

Tabla 1. Cuadro de incidencia por distribución.

CLASE DE EMBRIÓN	RESULTADO DEL IMPLANTE	
	+	-
<i>Embriones producidos in vitro</i>		

Tratamiento

T1 = Embriones producidos *in vitro*.

R = 155 receptoras

Y = éxito, fracaso

Tabla 2. Cuadro de tratamiento.

CLASIFICACIÓN DEL EMBRIÓN	TIPO DE CUERPO LÚTEO	
	Compacto	Cavitario
<i>In vitro</i>		

Diseño Básico (Randomizado)

$$y_{ij} = M + A_i + e_{ij}$$

y_{ij} = profundidad del Cuerpo Lúteo (y_{1mm}); amplitud (y_{2mm})

M = media general

A_i = tipo de Embrión Usado [I_{mo} = I{producido *in vitro*}

e_{ij} = Residuo Experimental

Parámetros a evaluar

Presencia de CL en las hembras sincronizadas

Presencia de CL cavitarios (CL_c) y compactos (CL_{com}) en las hembras transferidas.

Cantidad de preñeces en receptoras del programa de TEPIV (transferencia de embriones producidos *in vitro*) comparando el tipo de CL que se observó durante la exploración ecográfica.

Los análisis estadísticos se desarrollaron empleando el sistema de análisis estadístico, SAS (2001).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De acuerdo con lo planteado por Kayacik *et al.* (2005), los CL cavitarios no afectan la longitud del ciclo estral ni los niveles de P4 o el establecimiento de la preñez, por lo cual deben ser diferenciados de los quistes luteales. Por esta razón a pesar de que la eficiencia del reconocimiento de los cuerpos lúteos cavitarios por palpación en nuestros estudios (De Armas *et al.*, 2016), fue de 77.4%, recomendamos el uso de la ecografía en concordancia con lo publicado por autores como Thyjssen *et al.* (2011), McDougall y Rhodes (2011) y Trujillo y Peña (2014), ya que las diferencias entre operadores que realicen la palpación, es una fuente de variación muy importante, que pudiera influir negativamente en la selección de las receptoras y los posteriores resultados de preñez.

Como ha sido planteado por Oyuela y Jiménez (2009), el CL presente al momento de la implantación del embrión juega un papel importante en los resultados de la TE, ya que se espera que secreta suficiente cantidad de P4 para el mantenimiento de la preñez del embrión transferido.

Tabla 3. Distribución del tipo de cuerpo lúteo diagnosticado ecográficamente en hembras bovinas seleccionadas para la transferencia de embriones luego de ser sincronizadas a tiempo fijo.

Diagnóstico ecográfico	Seleccionadas para la transferencia	Porcentaje
Sin CL	45	22.5
CLc	63	31.5
CLcom	92	46
Total	200	100

Si apreciamos los resultados del proceso de sincronización de las hembras receptoras (Tabla 3), observaremos que el mismo logró inducir la ovulación y generar un CL apto para que fueran seleccionadas para la transferencia de embriones en el 77.5% de los animales tratados. Estos resultados fueron similares a los logrados en nuestro medio por Mojica (2013), que refirieron un 80% de ovulaciones y por otros investigadores (Bo *et al.*, 2004; Duica *et al.*, 2007; Irouléguy, 2011; Matews, 2009; Rodríguez *et al.*, 2007), en otras latitudes, corroboradas por la presentación de un CL al momento de la transferencia. Del total de hembras seleccionadas el 31.5% presentaron CLc, mientras que en el 46% los CL evaluados por ecografía fueron compactos, lo que nos mostró que la incidencia de presentación de CLc al momento de la selección de las hembras que se van a transferir resulta alto, en coincidencia con los resultados obtenidos en estudios anteriores (De Armas *et al.*, 2016), en ovarios colectados en matadero.

Tabla 4. Eficiencia del tipo de CL en vacas escogidas como receptoras para un programa de TE.

Tipo de CL	Transferencias N°	Porcentaje	Preñeces	Porcentaje
CLc	63	40.65%	31	49.2%
CLcom	92	59.35%	38	41.3%
Total	155	100%	69	44.5%

En la tabla 4 se refleja una pequeña diferencia porcentual entre las dos categorías de CL (CLc y CLcom), la cual no fue significativa desde el punto de vista estadístico. Donde fueron transferidos 155 embriones en la misma cantidad de receptoras; de las cuales 63 animales presentaron CL cavitarios, dentro las cuales hubo 31 preñeces lo que equivale al 49.2%, mientras que en los 92 animales que presentaron CL compactos se lograron 38 preñeces, lo que representó un 41.3%. Estos resultados son similares a los alcanzados por diferentes autores citados por De Armas (2012) y más recientemente se puede mencionar los logrados por Sala et al. (2016).

Como se ha establecido, para que el embrión transferido logre una preñez, en el útero de la receptora deben aparecer ciertas condiciones; las mismas están dadas entre otros factores por la existencia de agentes luteotrópicos y la inhibición de los factores luteolíticos. Rodríguez *et al.* (2007), citan en su trabajo que para exista el reconocimiento materno, el embrión debe encontrar un medio uterino apropiado, influido por la P4 lútea, ya ésta estimula la producción de una variedad de secreciones endometriales tales como el MUC-1 (mucina glicoproteína-1), lactógeno placentario, osteopontinas, necesarias para el desarrollo de armónico de los embriones. Por lo tanto, debe detenerse el proceso luteolítico mediante la secreción del interferón-tau por el trofoblasto embrionario, evitando la mortalidad embrionaria precoz (Demmers, 2001 citado por Rodríguez *et al.*, 2007), favoreciendo la acción de la P4 sobre el endometrio, lo que conlleva a la inactivación de la producción de prostaglandina F₂ α (PGF₂ α) de forma prematura evitando la formación de cuerpos lúteos de corta duración (Spencer et al. 2004). El efecto de la cantidad de cuerpos lúteos o del área total de CL todavía está en discusión. Por ejemplo, Mann 2009, planteó que el tamaño y peso del CL era correlacionado con la cantidad de P4 secretada hasta el día 8 y posteriormente esta relación se perdía, de tal manera que entre los días 8 y 16 el incremento en tamaño y peso no eran tan importantes. Mientras que la mayoría de los autores (Henry *et al.*, 2010; Irouléguy, 2011; Kayser, 2014), indican que estos son uno de los factores que afectan los resultados de gestación, por lo que debe de seguir investigándose debido a la variabilidad que existe entre los resultados publicados.

Barceló-Fimbres *et al.* (2009) analizaron entre otros factores el CL encontrando que no hay diferencias en la tasa de preñez cuando se transfirieron embriones PIV, en receptoras que al momento de la transferencia tenían CL compactos (n=47), versus receptoras con CL con una

cavidad observada a la ultrasonografía (n=26). Encontrando 34% y 46% de preñez respectivamente; esto pudo deberse a que el CLc podría tener la misma actividad de producción de P4 que el CLcom y así no afectar las tasas de preñez (Oyuela y Jiménez 2009). En nuestro estudio se apreció que el área de los CLc fue mayor que la de los CLcom, lo que pudiera compensar la falta de tejido luteal en la cavidad y lograr producir niveles de P4 suficientes para que el embrión alcance la nidación y posteriormente el mantenimiento de una gestación exitosa. De acuerdo con Uribe *et al.* (2011), quienes expresaron que se ha evidenciado que en bovinos los CL cavitarios son originados a partir de mayores folículos preovulatorios, los cuales al tener mayor cantidad de células tecales, las cuales tienen una importante participación en la secreción de P4 en el cuerpo lúteo originado a partir de los mismos, lo cual pudiera ser una explicación en la no diferencia de los resultados de gestación con uno u otro tipo de CL.

CONCLUSIÓN

La presencia de cavidad en el CL al momento de la selección de las receptoras para la transferencia de embriones no afecta los resultados de gestación en programas de transferencia de embriones producidos *in vitro* a tiempo fijo.

RECOMENDACIONES

Emplear para la transferencia de embriones tanto en hembras con CLc como CLcom, lo que disminuiría los rechazos de receptoras al momento del diagnóstico del CL previo a la transferencia, lo cual permitirá transferir más embriones, haciendo más eficientes los programas de TEPIV.

Se recomienda también completar este estudio con la determinación de niveles séricos de progesterona y su correlación con el área del CL y su cavidad, teniendo en cuenta los resultados de preñez a la TE.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Barceló-Fimbres M., Brink Z. y Seidel G. E. Jr. (2009). Effects of phenazine ethosulfate during culture of bovine embryos on pregnancy rate, prenatal and postnatal development. *Theriogenology*, 71, 355–368.
- Baruselli, P. S., Marques, M. O., Vieira, L. M., Konrad, J. L. y Crudeli, G. A. (2015). Aplicación de biotecnologías para una mayor producción de terneros. *Revista Veterinaria*, 26(2), 154-159.
- Bicalho, R. C., Galvao, K. N., Guard, C. L. y Santos, J. E. (2008). Optimizing the accuracy of detection a functional corpus luteum in dairy cows. *Theriogenology*, 70(2), 199-207.
- Bó, G.A., Moreno, D., Cutaia, L., Caccia, M. (2004). Transferencia de embriones a tiempo fijo: Tratamientos y factores que afectan los índices de preñez. *Taurus*, 4(21), 25-45.
- De Armas, R. (2012). Transferencia de embriones y su aceptación en la ganadería panameña. *Revista Investigación Agropecuaria*. Ed: FCA-UP. 1, 11-15.
- De Armas, R., De Gracia, J. M. y Solís, A. (2016). Cuerpos lúteos cavitarios, efectos sobre la preñez en transferencia de embriones bovinos producidos *in vitro*. XXV Congreso Panamericano de Medicina Veterinaria. 3 al 7 de octubre de 2016. Ciudad Panamá. Rep. de Panamá. Abs. p: 37.
- Duica, A., Tovio, N. y Grajales H. (2007). Factores que afectan la eficiencia reproductiva de la hembra receptora en un programa de transplante de embriones bovinos. *Revista de Medicina Veterinaria*, 14, 107-124.
- Decuadro, G. (2012). *Biotecnologías Reproductivas: Avances* (en línea). Recuperado de: <http://www.engormix.com/MA-ganaderia-carne/genetica/articulos/avance-biotecnologias-reproductivas-t4439/103-p0.htm>.
- Edmondson, A. J., Lean, I. J., Weaver, C. O., Farver, T. y Webster. G. (1989). A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. *Journal Dairy Science*, 72, 68-78.
- Henry, L., Hernández, V. y Prieto, E. (2010). Niveles de progesterona durante el ciclo normal y silencioso en bovinos en el trópico colombiano. *Revista Mvz Córdoba*, 15(2), 2060-2069. Recuperado de: <http://www.redalyc.org/pdf/693/69315067004.pdf>.
- Irouléguy, J. M. (2011). *Transferencia de embriones frescos a tiempo fijo: Algunas variables prevenir la tasa de preñez*. Engormix. Recuperado de: <https://www.microsofttranslator.com/bv.aspx?from=en&to=es&a=https%3A%2F%2Fwww.engormix.com%2Fganaderia-carne%2Farticulos%2Ftasa-de-prenez-en-vacas-t28708.htm>.

- Kayacik, V., Salmanoğlu, M. R., Polat, B., y Özlüer, A. (2005). Evaluation of the corpus luteum size throughout the cycle by ultrasonography and progesterone assay in cows. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Science*, 29, 1311-1316.
- Kayser, Y. (2014). *Tasa de gestación en receptoras bovinas posterior a la transferencia de embriones criopreservados realizada a tiempo fijo vs. estro detectado*. Tesis como requisito parcial para obtener el Grado de: Maestro en Ciencia Animal. Universidad Veracruzana, México. Recuperado de: <https://cdigital.uv.mx/bitstream/handle/123456789/39982/kayseralarconyasser.pdf;jsessionid=08D84D12F7D0B4347106EE21B62C2B04?sequence=1>.
- Kito, S., Okuda, K. Miyazawa, K. y Sato, K. (1986). Study on the appearance of the cavity in the corpus luteum of cows by using ultrasonic scanning. *Theriogenology*, 25, 325-333.
- Mann, G. (2009). Corpus luteum size and plasma progesterone concentration in cows. *The Journal of Emergency Medicine*, 115(1-4), 296-299. Recuperado de: [https://www.jem-journal.com/article/S0378-4320\(08\)00469-7/fulltext](https://www.jem-journal.com/article/S0378-4320(08)00469-7/fulltext).
- Matews, C. L. (2009). *Celo: Biología básica y mejoramiento de la detección del celo*. Recuperado de: http://www.produccionanimal.com.ar/informacion_tecnica/inseminacion_artificial/161-celo_biologia.pdf.
- McDougall, S. y Rhodes, F. M. (2011). Detection of a corpus luteum in apparently anoestrous cows by manual palpation, transrectal ultrasonography and plasma progesterone concentration. *New Zealand Veterinary Journal Volumen* 47(2), 13-17.
- Mojica, K. (2013). *Evaluación de un tratamiento de sincronización de celo para inseminación a tiempo fijo en novillas de la raza brahmán*. Tesis para optar por el título de Ingeniero Agrónomo Zootecnista. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad de Panamá. p: 65.
- Oyuela A. y Jiménez C. (2010). Factores que afectan la tasa de preñez en programas de transferencia de embriones. *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*, 57(3), 159-167.
- Rodríguez, J. M., Giraldo, C., Castañeda, S., Ruiz, T. y Olivera, M. (2007). Análisis multifactorial de las tasas de preñez en programas de transferencia de embriones en Colombia. *Revista Mvz, Córdoba*, 12(2), 978-984.
- Sala, R., Carrenho-Sala, L., Fosado, M. C., Tosta, L. D., Tosta, R., Stoll, M. F., Moreno, J Monteiro, B., Baruselli, P., García, A. C. y Wiltbank, M. (2016). Comparison of methods for synchronizing recipients of *in vitro* produced embryos. Proceedings of the Annual Conference of the International Embryo Transfer Society, Louisville, Kentucky. Abst. 109.
- SAS. (2001). General Lineal Models. En: Statistical Analysis System. Raleigh, North Caroline, NC, USA.

- Spencer, T., Burghardt, R., Johnson, G. y Bazer, F. (2004). Conceptus signals for establishment and maintenance of pregnancy. *Animal Reproduction Science*, 82, 537-550.
- Thyssen, J., Herzog, K., Weijers, G., Brockhan-Luedemann, M., Starke, A., Niemann, H., Bollwein, C. y de Korte, L. (2011). Ultrasound image analysis offers the opportunity to predict plasma progesterone concentrations in the estrous cycle in cows: A feasibility study. *Animal Reproduction Science*, 127(1), 7-15. Recuperado de: www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378432011001813.
- Torres, M. (2012). *La ecografía como medio diagnóstico y evaluación de los procesos reproductivos en el bovino*. Recuperado de: http://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/ecografia_ultrasonido/36-ecografia_reproduccion.pdf
- Transferencia de Embriones. (2010). *Técnica mejora genética de Vacunos*. Recuperado de: <http://transferenciadeembriones.blogspot.com/>.
- Trujillo, A. y Peña, S. L. (2014). *Medición de la eficiencia entre el diagnóstico del chequeo reproductivo por palpación rectal, ecografía y niveles séricos de progesterona*. Tesis pregrado programa de Medicina Veterinaria, Universidad de la Salle Facultad de Ciencias Agropecuarias. Colombia. Recuperado de: <http://repository.lasalle.edu.co/bitstream/handle/10185/17503/T14.14%20T789m.pdf?sequence=3>.
- Uribe, L., Osorio, J. y Correa, A. (2011). *El Cuerpo Lúteo una Visión Inmunológica*. Universidad de Caldas (en línea). Volumen 10, No. 2. p.88. Recuperado de: http://biosalud.ucaldas.edu.co/downloads/Biosalud10%282%29_9.pdf.