

## Capítulo LVII

### Historia y evolución de las biotecnologías aplicadas a la reproducción

**Julio A. Landínez Aponte, Ing Agr**  
**Hugo Hernández-Fonseca, PhD**

---

#### INTRODUCCIÓN

Las biotecnologías aplicadas a la reproducción animal inician un crecimiento vertiginoso a mediados del siglo pasado, cuando en países de Europa y en los Estados Unidos se implementa la inseminación artificial (IA) en un importante número de rebaños bovinos. Estas tecnologías fueron evolucionando y perfeccionándose gracias a los avances de la ciencia y de esta forma podemos hablar de transferencia de embriones, producción *in vitro* de embriones y de animales transgénicos ampliamente difundidos en el mundo.

Palma y Brem (2001), modificando la clasificación inicial realizada por Thibier (1990) establecieron que las biotecnologías surgieron por generaciones. Estos autores señalan que la primera generación fue la inseminación artificial (1908), luego como segunda generación aparece el control hormonal del estro y la ovulación, la transferencia de embriones y la congelación de gametos a partir de 1970. La tercera generación es el sexado de embriones y espermatozoides y la producción *in vitro* de embriones en 1987. La cuarta generación es la clonación de células somáticas en 1997 y por último aparece como quinta generación la transgénesis en el año 2000.

Es importante reconocer el gran esfuerzo que tanto a nivel mundial como a nivel nacional los diferentes grupos de investigación han destinado para que estas biotecnologías permitan en la actualidad aumentar la productividad de las unidades de producción, además de servir como herramientas en la aplicación de otras biotecnologías, realizar selección y mejoramiento genético y disminuir la difusión de enfermedades entre otras ventajas propias de cada biotecnología.

En Venezuela, el desarrollo de algunas de estas biotecnologías ha sido interrumpido por la falta de control de algunos factores de manejo a nivel de las unidades de producción, donde destacan la falta de registros de producción, adecuados planes alimenticios y sanitarios, un mercado inestable, entre otros, siendo estos factores obligatorios al

momento de aplicar cualquier biotecnología. En este capítulo se abordaran algunos aspectos históricos de las principales biotecnologías desarrolladas en el país, como la inseminación artificial, la transferencia de embriones y la producción *in vitro* de embriones.

## INSEMINACIÓN ARTIFICIAL (IA)

Desde sus inicios en 1785, la IA ha demostrado ser una herramienta de gran ayuda en el manejo reproductivo, en especial en el ganado bovino, ya que permite la utilización de machos probados facilitando el proceso genético de los rebaños. Por otra parte, la IA ayuda a evitar la transmisión de enfermedades venéreas, y posee ventajas económicas al reducir los costos generados por la estadía de machos en las unidades de producción (Pérez, 2000; Moreno, 2002). Según Brackett (1998) los mayores aportes de la IA surgieron a partir de 1940 cuando se desarrollaron y perfeccionaron técnicas para el manejo de los gametos masculinos. Uno de ellos fue el uso de la vagina artificial para la extracción de semen creada por el italiano Lazzaro Spallanzani. En 1948 se comienza a utilizar el electro eyaculador por Laplaud y Cassou y por Thibault y su grupo (citado por Brackett, 1998).

Luego se enfrentó un manejo más eficiente del semen creando los dilutores con yema de huevo, yema de huevo-citrato y leche descremada de vaca, seguida por la incorporación de antibióticos a los dilutores para evitar la transmisión de patógenos. Por otra parte, se incorpora el uso de crioprotectores como el glicerol, propilenglicol y etilenglicol para la congelación del semen diluido en diferentes especies. Finalmente se perfeccionan los envases para acondicionar el semen y conservar hasta su aplicación, destacan el diseño de Cassou en 1966 denominado “paillette” y los “pellets” (citado por Brackett, 1998).

En Venezuela la IA se inicia en la década de los años 40, mediante el uso de semen fresco, estableciéndose rutas de inseminación integradas por fincas cercanas a los centros donde el Ministerio de Agricultura y Cría (MAC) mantenía toros de razas puras. A partir de 1960, se introduce el semen congelado lo que permitió que la IA se pudiese practicar en forma rutinaria a nivel de finca (Manual para Prácticos Inseminadores, Viateca).

En pequeños rumiantes grandes esfuerzos se vienen realizando en el área de la IA desde hace varias décadas. Un evento importante que se destaca en el país es el nacimiento del primer cordero (raza Dorper, Peso al nacer: 4800 g) a través de la aplicación de IA vía laparoscópica en la Hacienda Santo Domingo en Perijá, Zulia (Rodríguez-Márquez *et al.*, 2006).

A partir del establecimiento de tratamientos hormonales para controlar el ciclo estrual y la ovulación de animales domésticos complementado con el conocimiento de la dinámica folicular, se ha mejorado la utilización de la sincronización debido a que se conoce con mayor exactitud el momento óptimo para la IA, evitando los problemas asociados a la detección del celo (Pursley *et al.*, 1995; Pursley *et al.*, 1997; Hiers *et al.*, 2003; LeBlanc y Leslie, 2003; Cerri *et al.*, 2004). En vacas *Bos indicus* y sus mestizos el tamaño que alcanza el folículo ovulatorio varía entre 11 y 13 mm, mientras que en vacas *Bos taurus* mide entre 15 y 20 mm (Gutiérrez, 2007).

En el Cuadro 1 se presenta el porcentaje de preñez en novillas y vacas de primer parto en las cuales se aplicaron diferentes tratamientos farmacológicos para sincronizar celo y ovulación. Es evidente una alta variabilidad en la respuesta de los animales a dichos tratamientos y la factibilidad de aplicar estos métodos para mejorar los índices reproductivos posparto.

**Cuadro 1**  
**Efecto del protocolo de sincronización del estro y la ovulación en el porcentaje de preñez de novillas y vacas**

Protocolo	Porcentaje de Preñez		Fuente
	Novillas	Vacas*	
<b>Ovsynch</b> (GnRH-PGF2 $\alpha$ -GnRH-IATF)	35,1 (N=77) <sup>a</sup>	37,8 (n=156)	(1)
<b>Control</b> (PGF2 $\alpha$ -PGF2 $\alpha$ )	74,4 (N=78) <sup>b</sup>	38,9 (n=154)	
GnRH-PGF2 $\alpha$ -MGA	-	82	(2)
<b>Ovsynch</b> (GnRH-PGF2 $\alpha$ -GnRH-IATF)	-	70 (16/23) <sup>e</sup>	(3)
<b>Sin tratamiento</b>	-	45 (9/20) <sup>f</sup>	
<b>SelectSynch</b> (PGF2 $\alpha$ -PGF2 $\alpha$ - GnRH-PGF2 $\alpha$ -celo IA)	36	35	(4)
<b>HeatSynch</b> (PGF2 $\alpha$ -PGF2 $\alpha$ - GnRH-ECP-IATF)	40	49	
<b>Ovsynch</b> (GnRH-PGF2 $\alpha$ -GnRH-IA 24 HUI)		50 (7/14) <sup>a</sup>	(5)
<b>Ovsynch</b> (GnRH-PGF2 $\alpha$ -GnRH-IA 16 HUI)		45,5 (5/11) <sup>a</sup>	
<b>Control</b>		50 (3/12) <sup>b</sup>	
<b>PregnaHeat-E®</b> Epoca seca > 70 DPP		59,3 (16/27)	(6)
<b>PregnaHeat-E®</b> Epoca seca < 70 DPP		64,7 (11/17)	
<b>PregnaHeat-E®</b> Epoca lluviosa > 70 DPP		55 (11/20)	
<b>PregnaHeat-E®</b> Epoca lluviosa < 70 DPP		87,5 (7/8)	

(1) Pursley *et al.*, (1997); (2) Hiers *et al.* (2003); (3) Sepúlveda *et al.* (2003); (4) Cerri *et al.* (2004); (5) Gutiérrez *et al.* (2005) y (6) Gutiérrez *et al.* (2006).

\* Las inseminaciones se realizaron luego del periodo de espera voluntario (60-80 días posparto).

Letras diferentes en columnas indica diferencias significativas. <sup>a-b</sup>; <sup>c-d</sup>P<0.01; <sup>e-f</sup>P<0.05.

GnRH: Hormona Liberadora de Gonadotropina; PGF2 $\alpha$ : Hormona Prostaglandina F2 $\alpha$ ; MGA: Acetato de Melengestrol; ECP; Ciprionato de Estradiol; IATF: Inseminación Artificial a Tiempo Fijo; celo IA: Detección de Celos e Inseminación Artificial; PregnaHeat-E: día 0 Esponja impregnada en medroxi-acetato de progesterona (MAP) + MAP im. + 17- $\beta$  estradiol im., día 6 eCG im., + PGF2 $\alpha$ , día 8: retiro de esponja, día 9 17- $\beta$ -estradiol y IA por detección de celo.

## OVULACIÓN MÚLTIPLE Y TRANSFERENCIA DE EMBRIONES (MOET)

La transferencia de embriones (TE) en ganado bovino da sus primeros pasos en 1950, cuando se obtenían y se transferían embriones por medio de técnicas quirúrgicas, lo que ocasionaba problemas de fertilidad tanto en donadoras como en receptoras debido a los problemas ocasionados por el largo periodo de tiempo necesario para la recuperación de los animales (Hasler, 1992; Hansen y Block, 2004).

Esta biotecnología se divulga gracias al descubrimiento de la metodología para extraer y purificar la hormona folículo estimulante (FSH), que induce el crecimiento de un mayor número de folículos ováricos y de ovocitos ovulados. Esto se traduce en un mayor número de embriones recuperados por lavado uterino (Elsden *et al.*, 1978; Lacaze *et al.*, 1997; Bols *et al.*, 1997; De Roover *et al.*, 2005). Sin embargo, la respuesta a los tratamientos de superovulación varía de forma amplia, siendo necesario ajustar la dosis de FSH para cada estado y tipo de animal (Hasler, 1992). La recuperación de embriones bovinos se realiza comercialmente a partir de la década de los 70 (Hasler, 1992) a pesar que un alto número de embriones bovinos se descartaban por no poseer suficientes receptoras para ser transferidos. Esto conllevó a que se desarrollaran métodos para conservar estos embriones (2-8 células), conservándose los primeros embriones (murinos) a  $-196^{\circ}\text{C}$  desde 1972. Estos embriones transferidos a hembras receptoras permitió obtener las primeras crías de embriones criopreservados (Whittingham *et al.*, 1972) y el nacimiento del primer becerro proveniente de embriones criopreservados (Wilmot y Rowson, 1973).

En la actualidad se han desarrollado numerosos procedimientos para criopreservar embriones bovinos garantizando altas tasas de sobrevivencia y de preñez, al ser descongelados (Seidel, 2006). Entre los procedimientos más comunes están la criopreservación lenta, rápida y ultrarrápida (vitrificación) que utilizan una alta gama de crioprotectores destinados a evitar que el embrión sufra daños por enfriamiento (cristales de hielo dentro de las células) garantizando la viabilidad del embrión (Abe *et al.*, 2005).

En Venezuela los esfuerzos por dominar esta biotecnología comienzan a partir de 1979 naciendo la primera cría el año 1981 (Frosty Zulia) gracias a esfuerzos de los Prof. Rumualdo González y Eleazar Soto (comunicación personal). Los primeros embriones fueron recuperados de vacas Criollo Limonero y transferidos a receptoras mestizas Cebú x raza lechera), obteniendo 48,6% de preñez; los embriones que no se transfirieron fueron congelados (González *et al.*, 1997). Ellos concluyeron que la técnica de TE era una herramienta efectiva para la difusión y mejoramiento genético del ganado Criollo Limonero, creando el primer banco de germoplasma de este ganado en Venezuela.

Entre 1994 y 1996 se realizó un convenio con la Asociación de Ganaderos Romosinuano, el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, la Universidad de Florida y la Universidad Central de Venezuela a través del cual se obtuvieron 140 embriones viables de ganado Romosinuano a partir de 45 vacas, los cuales fueron exportados a Estados Unidos; al ser transferidos a receptoras, naciendo 70 crías con 50% de tasa de parto (Fernández, 2000).

En el Cuadro 2 se presentan algunos resultados de tasa de preñez y tasa de parto encontrados en diversos trabajos de investigación, en los cuales se utilizan embriones bovinos producidos por protocolos de superovulación y transferidos frescos o congelado. Se puede evidenciar la eficiencia de la técnica, lo que genera la posibilidad de crear bancos de embriones provenientes de animales elites.

**Cuadro 2**  
**Tasas de preñez y tasas de parto obtenidas por transferencias de embriones en diferentes estudios seleccionados para ilustrar le eficiencia de la técnica**

Estado del Animal	Embrión Transferido	Número de Vacas	Tasa de Preñez (%) 40-60 d*	Tasa de Parto (%)	Fuente
<b>Producción de leche</b>					
Vaca lactando	Fresco	199	53,7		(1)
Vaca seca	Fresco	444	59,7		
Novilla	Fresco	677	63,1		
<b>Producción de leche**</b>					
Vaca	Congelado	482	28,9		(2)
Novilla	Congelado	791	46,2		
<b>Producción de leche</b>					
Vaca	Fresco	844	52,8		(3)
Novilla	Fresco	6612	70,5		
Vaca	Congelado	518	47,1		
Novilla	Congelado	3477	60,9		
<b>Holstein</b>					
Vaca Lactando	Fresco	82	50,0	48,8	(4)
Novilla	Fresco	46	58,7	52,2	
Vaca Lactando	Congelado	83	34,9	28,9	
Novilla	Congelado	196	50,5	48,5	
<b>Holstein</b>					
Lactando Invierno	Congelado	140	44,3		(5)
Lactando Verano	Congelado	41	34,2		
<b>Criollo Limonero</b>					
Vacas	Congelado	60	48,3		(6)

(1) Pursley *et al.* (1997); (2) Jordan *et al.* (2002); (3) Hiers *et al.* (2003); (4) Sepúlveda *et al.* (2003); (5) Cerri *et al.* (2004) y (6) Gonzalez *et al.* (1997).

\* Las inseminaciones se realizaron luego del periodo de espera voluntario (60-80 días posparto).

Letras diferentes en columnas indica diferencias significativas. <sup>a-b</sup>; <sup>c-d</sup> P<0.01; <sup>e-f</sup> P<0.05.

GnRH: Hormona Liberadora de Gonadotropina; PGF2 $\alpha$ : Hormona Prostaglandina F2 $\alpha$ ; MGA: Acetato de Melengestrol; ECP; Ciprionato de Estradiol; IATF: Inseminación Artificial a Tiempo Fijo; celo IA: Detección de Celo e Inseminación Artificial.

## FECUNDACIÓN *IN VITRO* (FIV)

El nacimiento del primer becerro por FIV mostró la factibilidad de esta tecnología que ofrece grandes perspectivas, ya que permite extender la vida útil de animales de alto valor genético al obtener sus ovocitos en cualquier estado fisiológico, los cuales pueden ser madurados, fecundados para luego cultivar los cigotos formados hasta etapas donde puedan ser transferidos a una receptora o congelarlos para su posterior utilización (Brackett *et al.*, 1982). Además se pueden incluir animales jóvenes o adultos con problemas de infertilidad causados por algún patógeno o trastorno en el tracto reproductivo.

Esta técnica ofrece diferentes ventajas entre las que destaca el servir de base para otras biotecnologías como la clonación y la transgenesis. Además la FIV permite la utilización más eficiente de los gametos masculinos y femeninos (Smidt y Niemann, 1999). Por otra parte, señala que la producción de embriones *in vitro* juega un papel importante en los sistemas de producción de leche y carne, ya que permite una mejora genética, al poder producir gran cantidad de embriones en periodos de tiempo relativamente cortos (Hansen, 2006). Asimismo permite seleccionar animales de alto valor genético, siendo una prueba eficiente de la fertilidad del macho, al permitir identificar individuos que producen embriones con alta competencia para desarrollarse hasta las etapas de blastocisto).

Se ha reportado el uso potencial de la FIV en la construcción de bancos de germoplasma con embriones viables congelados de animales de alto valor genético o de especies autóctonas (Pukazhenthil y Wildt, 2004). De igual manera, resalta la posibilidad de utilizar la técnica como “rescate genético”, al poder madurar y fecundar ovocitos de animales de alto valor genético que deben ser sacrificados antes de tiempo debido a problemas reproductivos y enfermedades no hereditarias o de animales que ya cumplieron su vida productiva (Galli *et al.*, 2003).

La FIV podrá ser aplicada en beneficio del productor, al demostrar que es una tecnología eficiente, adaptable a sus necesidades y cuyo producto genere beneficios, que justifiquen los costos de su aplicación (Hernández, 2002). Para poder aplicar de manera adecuada la FIV hay que superar limitaciones en la calidad de los embriones, como son la baja tasa de sobrevivencia embrionaria y la baja resistencia a la congelación, las cuales son producto de una expresión genética alterada por las condiciones *in vitro* en las que son producidos estos embriones (Wrenzyki *et al.*, 1996).

Inicialmente la técnica FIV consistía en la recuperación de ovocitos a partir de ovarios obtenidos en mataderos, obteniendo entre 2-4 embriones viables por vaca; luego surge la utilización de protocolos de estimulación de folículos ováricos y la aspiración por vía transvaginal de folículos antrales con una aguja guiada por ultrasonido en donadoras vivas de alto valor genético (Galli *et al.*, 2003). La utilización de la técnica OPU (del Inglés: Ovum Pick Up) reportado desde 1988 (Pieterse *et al.*, 1988) permite la recuperación de ovocitos a partir de animales vivos en cualquier estado fisiológico, incluso en becerras y animales gestantes hasta de 3 meses. Luego los ovocitos recolectados son madurados, fecundados y los embriones obtenidos cultivados *in vitro* (Pieterse *et al.*, 1991; Kruij *et al.*, 1993; Meintjes *et al.*, 1993).

Los resultados obtenidos con la utilización de esta tecnología varían ampliamente entre los laboratorios, debido a que hay diferentes protocolos de FIV (Hernández, 2005); además existen diferentes medios y condiciones de cultivo (pH, temperatura, concentraciones de O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> y N<sub>2</sub>, humedad). También influyen las diferentes formas de obtener los ovocitos (ovarios de matadero u OPU), a la vez que se ha señalado que las tasas de preñez, tasas de parto y pesos al nacer de los becerros varían ampliamente entre los diferentes grupos de investigación y los tratamientos que aplican para producir los embriones (Hansen y Block, 2004).

Como se mencionó en la TE, los procedimientos de criopreservación han sido empleados para poder almacenar embriones *in vitro*, para ser utilizarlos en el momento adecuado (Donnay *et al.*, 1998; Galli *et al.*, 2003; Hansen, 2006). En el Cuadro 3 se presentan los resultados obtenidos en diferentes trabajos en la tasas de división embrionaria y de formación de mórula y blastocistos, donde se evidencia la fluctuación en cuanto a los resultados de los diversos laboratorios y las posibilidades de la biotecnología para producir masivamente embriones que serán utilizados en los sistemas de producción con bovinos.

**Cuadro 3**  
**Tasa de división, formación de mórula y blastocistos (%) de embriones producidos *in vitro***

Tratamiento	Número de Ovocitos	Tasa de División (%)	Mórula (%)	Blastocisto (%)	Fuente
TCM-199	126	50 (39,7) <sup>a</sup>		10 (7,9) <sup>c</sup>	(1)
TCM-199 + LH	181	133 (73,5) <sup>b</sup>		51 (28,2) <sup>d</sup>	
Control*	139	87 (62,6) <sup>c</sup>	54 (38,8) <sup>c</sup>	39 (28,1) <sup>c</sup>	
2h, 36°C	126	72 (60,0) <sup>cd</sup>	46 (38,3) <sup>c</sup>	32 (26,7) <sup>c</sup>	
2 h, 5°C	126	60 (47,6) <sup>d</sup>	31 (24,6) <sup>d</sup>	19 (15,1) <sup>d</sup>	
OPU 1/sem	30	15 (50,0)	-	8 (26,7)	
OPU 1/sem + FsH	33	19 (57,6)	-	10 (30,3)	
OPU 2/sem	30	198 (63,3)	-	8 (26,7)	
OPU 2/sem + FSH	27	87 (29,6)	-	0	
<b>Ovarios Matadero</b>					
TCM-199	10118	62 <sup>c</sup>	-	26 <sup>c</sup>	(3)
Menezo-B2	5653	73 <sup>d</sup>	-	36 <sup>d</sup>	
<b>OPU</b>					
TCM199	1939	57	-	21	
Menezo-B2	1640	56	-	22	
MIV-CYS	333	241 (72,4±4,1)	-	51 (15,3±1,3) <sup>c</sup>	(4)
MIV + CYS	322	249 (77,3±2,5)	-	66 (20,5±0,9) <sup>d</sup>	

(1) Zuelke y Brackett (1990); (2) Goto *et al.* (1995); (3) Merton *et al.* (2003); (4) Balasubramanian y Rho (2007).

Letras diferentes indican diferencia significativa, <sup>a-b</sup> P<0,01; <sup>c-f</sup> P<0,05.

TCM-199: Medio de cultivo Tisular 199 (medio de maduración de ovocitos); MIV: Maduración *in vitro* de ovocitos; OPU: Ovum Pick up; CYS: Cisteína; Menezo-B2: Medio de cultivo de ovocito; Control\*: Ovocitos madurados inmediatamente después de la extracción.

En el Cuadro 4 se presentan los resultados de tasas de preñez, tasas de parto y pesos al nacer de los becerros producidos *in vitro* donde se evidencia la variabilidad entre los diferentes trabajos de investigación. La obtención de tasas de preñez y partos satisfactorias, indican la factibilidad de utilizar la FIV en el mejoramiento genético del ganado bovino.

**Cuadro 4**  
**Resultados de tasas de preñez, tasas de parto y pesos al nacer de becerros producidos *in vitro***

Tratamiento	Número de Embriones	Tasa Preñez (%)	Tasa Parto (%)	Peso al Nacer Kg	Fuente
<b>MIV (horas)</b>					
18	18	9/18(50,0) <sup>a,b</sup>	7/9 (77,8)	24,6 ± 0,5 <sup>a</sup>	(1)
24	30	9/30 (30,0) <sup>b</sup>	7/9 (77,8)	32,0 ± 2,2 <sup>b</sup>	
KSOM 5% O <sub>2</sub>	26	12 (46,15)	10 (38,5)	36,7 ± 1,8	
KSOM 20% O <sub>2</sub>	25	14 (56,0)	11 (44,0)	44,4 ± 1,7	
SOF, 5% O <sub>2</sub>	24	9 (37,5)	8 (33,3)	41,8 ± 2,0	(2)*
SOF, 20% O <sub>2</sub>	24	9 (37,5)	6 (25)	41,7 ± 2,3	
SOF	44		24,24 (7/23)	46,28 ± 1,42	
SOF + Suero	24		30,43 (8/33)	46,86 ± 2,04	(3)

(1) Park *et al.* (2005); (2) Fischer-Brown *et al.* (2005)<sup>1</sup>; (3) Nava *et al.* (2005).

Letras diferentes entre columnas indica diferencias significativas. <sup>a,b</sup>P<0,05.

\*En este trabajo dos becerros murieron por sofocación, causada por la distocia, los becerros pesaron 50 y 54 kg.

MIV: Maduración *in vitro* de ovocitos; KSOM: Medio Optimizado con Potasio Simple (Utilizado en cultivo de embriones); SOF: Medio Fluido Sintético de Oviducto (Utilizado en cultivo de embriones).

En Venezuela desde hace algunos años se viene trabajando en esta biotecnología, resultando en el nacimiento de los primeros becerros *in vitro* gracias a esfuerzos de equipos nacionales, los cuales se resumen el Cuadro 5.

**Cuadro 5**  
**Resumen de los primeros becerros *in vitro* en el país**

Equipo de Investigación	Método de Obtención	Resultado
Pacheco Luis (Venezuela); C. Galli (Italia) Comunicación personal	Madurado y fecundado <i>in vitro</i> , y cultivado <i>in vivo</i> en el exterior y transferido en Venezuela	Nacimientos no reportados de algunos becerros, fecundados <i>in vitro</i> y cultivados en oviducto de ovejas.
Hernández, LUZ, VIATECA, University of Georgia	Embriones congelados producidos <i>in vitro</i> en Estados Unidos, transferidos en Venezuela	Más de 55 becerros nacidos, entre los cuales se encuentra <b>Chinco</b> , primer becerro producido totalmente <i>in vitro</i> .
Kowalski, UCLA	Embriones frescos y congelados producidos <i>in vitro</i> y transferidos en Venezuela	Varias decenas de becerros nacidos entre los que se encuentra <b>Eva</b> , primera becerro nacida por FIV-utilizando semen sexado



## CONCLUSIÓN

Desde hace más de 40 años, investigadores venezolanos han impulsado el desarrollo y establecimiento de diversas biotecnologías aplicadas a la reproducción animal en el país. Entre ellas se encuentran algunas de las tecnologías revisadas en este capítulo. En algunos casos la industria ganadera y la investigación científica han logrado beneficios de algunas de las ventajas innatas de cada técnica. Es importante conservar una memoria escrita de los esfuerzos y eventos más resaltantes que nos permitan recapitular sobre los errores, aciertos y a la vez nos permitan valorar la factibilidad de su aplicación. Hemos llegado a la conclusión, que la mayoría de estas tecnologías son aplicables en el entorno de la producción bovina nacional, además de permitirnos mantener controlada la brecha tecnológica entre los países desarrollados y nuestros países.

## LITERATURA CITADA

- Abe Y, Hara K, Matsumoto H, Kobayashi J, Sasada H., Ekwall H, Rodríguez-Martínez H, Sato E. 2005. Feasibility of a Nylon-Mesh Holder for Vitrification of Bovine Germinal Vesicle Oocytes in Subsequent Production of Viable Blastocysts. *Biol Reprod* 72: 1416-1420.
- Balasubramanian S, Rho G. 2007. Effect of cysteamine supplementation of *in vitro* matured bovine oocytes on chilling sensitivity and development of embryos. *Anim Reprod Sci* 98:282-292.
- Bols P, Ysebaert M, Van Soom A, De Kruif A. 1997. Effects of leedle tip bevel and aspiration procedure on the morphology and developmental capacity of bovine compact cumulus oocyte complexes. *Theriogenology* 47: 1221-1236.
- Brackett B. 1998. 1948-1998: Artificial Insemination to Current Gamete Biotechnology. In: *Gametes: Development and Function*. Lauria, A. Gndolfi, F. Enne, G. Gianaroli, L. (Ed). 50<sup>th</sup> ICAR 1998. pp 31-68.
- Brackett B, Bousquet D, Boice M, Donawick W, Evans J, Dressel M. 1982. Normal development following *in vitro* fertilization in the cow. *Biol Reprod* 27: 147-158.
- Cerri RJ, Santos S, Juchem K, Galvão, Chebel R. 2004. Timed Artificial Insemination with Estradiol Cypionate or Insemination at Estrus in High- Producing Dairy Cows. *J Dairy Sci* 87: 3704-3715.
- Chagas e Silva J, Lopes de Costa L, Robalo Silva J. 2002. Plasma progesterone profiles and factors affecting embryo-fetal mortality following embryo transfer in dairy cattle. *Theriogenology* 58:51-59.
- De Roover R, Genicot G, Leonard S, Bols P, Dessy F. 2005. Ovum pick up and *in vitro* embryo production in cows superstimulated with an individually adapted superstimulation protocol. *Anim Reprod Sci* 86:13-25.
- Dochi O, Yamamoto Y, Saga H, Kano N, Maeda J, Miyata K, Yamauchi A, Tommaga K, Oda Y, Nakashima T, Inohae S. 1998. Direct transfer of bovine embryos frozen- thawed in the presence of propylene glycol or ethylene glycol under on-farm conditions in an integrated embryo transfer program. *Theriogenology* 49: 1051-1058.
- Donnay IP, Auquier S, Kaidi C, Carolan P, Lonergan P, Mermillod, Massip A. 1998. Vitrification of *in vitro* produced bovine blastocysts: methodological studies and developmental capacity. *Anim Reprod Sci* 52: 93-104.

- Drost M, Brand A, Aarts M. 1976. A device for nonsurgical recovery of bovine embryos. *Theriogenology* 6: 503-507.
- Elsden R, Hasler J, SeideGL. 1976. Non surgical recovery of bovine eggs *Theriogenology* 6: 523-532.
- Elsden R, Nelson L, Seidel G. 1978. Superovulating cows with follicle stimulating hormone and pregnant mare's serum gonadotrophin. *Theriogenology* 9: 17-26.
- Fernández A. 2000. Impacto de la biotecnología en la reproducción animal. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Ciencias Veterinarias. Instituto de Reproducción Animal e Inseminación Artificial. Maracay. Edo. Aragua.
- Fischer-Brown A, Crooks A, Leonard S, Monson R, Nothey D, Rutledge J. 2005. Parturition following transfer of embryos produced in two media under two oxygen concentrations. *Anim Reprod Sci* 87: 215-228.
- Galli C, Duchi R, Crotti G, Turíni P, Ponderato N, Colleoni S, Lagutina I, Lazzari G. 2003. Bovine embryos technologies. *Theriogenology* 59: 599-616.
- Gonzalez R, Velarde J, Zambrano S, Este P. 1997. Producción y transplante de embriones congelados de bovinos Criollo Limonero. *Arch Latinoam Prod Anim* 5: 370-372.
- Goto K, Tanimoto Y, Fujii W, Taniguchi S, Takeshita K, Yanagita K, Ookutsu S, Nakanishi Y. 1995. Evaluation of once versus twice -weekly transvaginal ultrasound-guided follicular oocyte aspiration with or without FSH stimulation from the same cows. *J Reprod Dev*.41: 303-309.
- Gutiérrez J, Palomares R, Sandoval J, De Ondiz A, Portillo G, Soto E. 2006. Uso del protocolo ovsynch en el control del anestro postparto en vacas mestizas de doble propósito. *Revista Científica FCV-LUZ XV*(1): 7-13.
- Gutiérrez J, Palomares R, Aranguren J, González R, Portillo G, Soto E. 2006. Efecto de los días postparto, predominio racial, número de partos y época del año sobre la respuesta reproductiva de vacas mestizas en anestro tratadas con un progestágeno intravaginal mas ecG y PGF2 $\alpha$ . *Revista Científica FCV-LUZ XVI* (5): 544-555.
- Gutiérrez J. 2007. Aplicación de la ultrasonografía en la evaluación del aparato reproductor de la hembra bovina y sus anomalías frecuentes. En, *Aplicaciones de la Ultrasonografía en la Reproducción Animal*. Gutierrez, JC. (Ed). Ediciones Astro Data S.A. Maracaibo-Venezuela. Cuaderno Científico Girarz 3. 22-31.
- Hansen P, Block J. 2004. Towards an embryocentric world: The current and potential uses of embryo technologies in dairy production. *Reprod Fertil Dev* 16: 1-14.
- Hansen P. 2006. Realizing the promise of IVP in cattle-an overview. *Theriogenology* 65: 119-125.
- Hasler J. 1992. Symposium: Reproductive technology and genetic improvement. Current status and potential of embryo transfer and reproductive technology in dairy cattle. *J Dairy Sci* 75: 2857-2879.
- Hasler J. 2001. Factors affecting frozen and fresh embryo transfer pregnancy rates in cattle. *Theriogenology* 56: 1401-1415.
- Hernandez H. 2002. La fertilización *in vitro* como herramienta en el mejoramiento de la ganadería doble propósito. En, *Avances en la ganadería Doble Propósito*. C. González-Stagnaro, E. Soto Belloso, L. Ramirez Iglesia (eds). Fundación Girarz. Ediciones Astro Data S.A. Maracaibo-Venezuela. Cap. XXXVI: 577-584.

- Hernandez H. 2005. Fecundación *in vitro*. En: Manual de Ganadería Doble Propósito. C. González-Stagnaro, E. Soto Belloso (eds). Fundación Girarz. Ediciones Astro Data S.A. Maracaibo-Venezuela. Cap. VIII: 615-619.
- Hiers E, Barthle C, Dahms M, Portillo G, Bridges G, Rae D, Thatcher W, Yelich J. 2003. Synchronization of *Bos indicus* x *Bos Taurus* cows for timed artificial insemination using gonadotropin-releasing hormone plus prostaglandin F<sub>2α</sub> in combination with melen-gestrol acetate. *J Anim Sci* 81: 830-835.
- Kruip T, Boni R, Roelofsen M, Wurth Y, Pieterse M. 1993. Application of OPU for embryo production and breeding in cattle. *Theriogenology* 39: 215.
- Lacaze S, Marquant-Le Guienne B, Delalleau N, Richet L, Maunas S, Nibart M, Humblot P. 1997. Centralized *in vitro* embryo production after ultrasound guided bovine oocyte collection: Effects of parity and superovulation treatment. *Theriogenology* 47: 161.
- LeBlanc S, Leslie K. 2003 Short Communication: Presynchronization Using a Single Injection of PGF<sub>2α</sub> Before Synchronized Ovulation and First Timed Artificial Insemination in Dairy Cows. *J Dairy Sci* 86: 3215-3217.
- Meintjes M, Bellow M, Broussard J, Paul J, Godke R. 1993. Transvaginal aspiration of bovine oocytes from hormone-treated pregnant beef cattle for IVF. *Theriogenology* 39: 266.
- Merton J, De Roos A, Mullaart E, De Ruigh L, Kaal L, Vos P, Dieleman J. 2003. Factors affecting oocyte quality and quantity in comercial application of embryo technologies in the cattle breeding industry. *Theriogenology* 59: 651-674.
- Moreira F, Badinga L, Burnley C, Thatcher W. 2002. Bovine somatotropin increases embryonic development in superovulated cows and improves post-transfer pregnancy rates when given to lactating recipient cows. *Theriogenology* 57: 1371-1387.
- Moreno L. 2002. Aportación a la historia de la inseminación artificial ganadera en España: su significado en el desarrollo pecuario y la repercusión económica en el periodo 1931-1971. Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Veterinaria. pp 386.
- Nava-Trujillo H, De Ondiz A, Soto E, Velarde J, Hernandez H, Brackett B. 2005. Calves born under tropical conditions after direct transfer of cryopreserved *in vitro* produced embryos. *Revista Científica FCV-LUZ XV*(5): 429- 36.
- Palma G, Brem G. 2001. Biotecnología de la Reproducción. En *Biotecnología de la Reproducción*. G. Palma (Ed). Instituto Nacional de tecnología Agropecuaria. pp 1-19.
- Park Y, Kim S, Kim J, Park H, Byun M. 2005. The effects of duration of *in vitro* maturation of bovine oocytes on subsequent development, quality and transfer of embryos. *Theriogenology* 64: 123-134.
- Pérez T. 2000. Biotecnología de la reproducción. Conferencia de la Real Academia de Ciencias Veterinarias de España.
- Pieterse M, Kappen K, Kruip T, Taverne M. 1988. Aspiration of bovine oocytes during transvaginal ultrasound scanning of the ovaries. *Theriogenology* 30: 751-762.
- Pieterse M, Vos P, Kruip T, Wurth Y, van Beneden T, Willemsse A, Taverne M. 1991. Transvaginal ultrasound guided follicular aspiration of bovine oocytes. *Theriogenology* 35: 19- 4.
- Pukazhenthil B, Wildt D. 2004. Which reproductive technologies are most relevant to studying, managing and conserving wildlife?. *Reprod Fert Dev* 16: 33-46.

- Pursley J, Mee M, Wiltbank M. 1995. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF<sub>2α</sub> and GnRH. *Theriogenology* 44: 915-923.
- Pursley J, Wiltbank M, Stevenson J, Ottobre J, Garverick H, Anderson L. 1997. Pregnancy Rates Per Artificial Insemination for Cows and Heifers Inseminated at a Synchronized Ovulation or Synchronized Estrus. *J Dairy Sci* 80: 295-300.
- Putney D, Thatcher W, Drost M, Wright J, DeLorenzo M. 1988. Influence of environmental temperature on reproductive performance of bovine embryo donors and recipients in the southwest region of the United States. *Theriogenology* 30: 905-922.
- Rodríguez-Márquez J, Rodríguez M, Morales R, Hidalgo G. 2006. Nace primer cordero por Inseminación artificial vía laparoscópica en Venezuela. *Contacto veterinario*. 6: 11: 13.
- Seidel G. 2006. Modifying oocytes and embryos to improve their cryopreservation. *Theriogenology* 65: 228-235.
- Sepúlveda N, Risopatron J, Rodríguez F, Rodero E. 2003. Fertilidad en vacas lecheras asociada a la sincronización de celos e inseminación a tiempo fijo utilizando GnRH y PGF<sub>2α</sub>. *Revista Científica FCV-LUZ*. XIII (3): 182- 86.
- Smidt D, Niemann H. 1999. Biotechnology in genetics and reproduction. *Livest Prod Sci* 59: 207-221.
- Thibier M. 1990. New technologies en cattle reproduction. *Proc 7th FAVA Cong. Pattaya (Thailand)* 512-524.
- VIATECA. Manual para prácticos Inseminadores. Venezolana de Inseminación Artificial y Transplante de Embriones, C.A. Villa del Rosario-Perijá-Venezuela.
- Whittingham D, Leibo S, Mazur P. 1972. Survival of mouse embryos frozen to -196° and -269°C. *Science* 178: 411-414.
- Wilmot I, Rowson L. 1973. Experiments on the low-temperature preservation of cow embryos. *Vet Rec* 92: 686.
- WrenzycKi C, Herrmann D, Carnwath J, Niemann H. Expression of the gap junction gene connexin 43 (Cx43) in preimplantation bovine embryos derived in vitro or in vivo. *J Reprod Fertil* 108: 17-24.
- Zuelke K, Brackett B. 1990. Luteinizing hormone-enhanced *in vitro* maturation of bovine oocytes with and without protein supplementation. *Biol Reprod* 43: 784-787.