

PARTO MULTIPLE POR TRANSFERENCIA DE UN EMBRIÓN *in vitro* EN VACAS PREVIAMENTE INSEMINADAS¹

Raúl H. De León-García²; Roderick A. González M.³; Pedro Guerra M.⁴; Jair O. Jaén⁵

RESUMEN

Con el objetivo de determinar el efecto que tiene el sitio de colocación de un segundo embrión en vacas previamente inseminadas sobre la tasa de preñez y de gestaciones dobles, se realizó el presente trabajo de investigación en el Laboratorio de Biotecnología Animal del Instituto de Innovación Agropecuaria de Panamá (IDIAP). Para ello, se seleccionaron 20 hembras múltiparas con diferentes encastes de Brahman, las cuales se sincronizaron utilizando una dosis de 3 cc (0,75 mg) de Cloprostenol (Lutaprost[®] 250, Pharmadix. Corp) vía intramuscular profunda. A las 48 horas de la aplicación, las hembras fueron inseminadas mientras que, al mismo tiempo, en laboratorio, se procedió a realizar la fertilización de los ovocitos colectados y madurados *in vitro*, procedentes de ovarios *post mortem*. Siete días después de la inseminación, el lote de vacas inseminadas fue separado en dos grupos de 10 hembras y se les transfirieron los embriones, en estadios de blastocistos. Al primer grupo (T₁), se les colocó el embrión ipsilateral al cuerpo lúteo (CL) (T₁) y al segundo grupo (T₂) se le colocó el embrión colateral al cuerpo lúteo (T₂). La confirmación de la gestación se realizó a los 30, 60 y 90 días post transferencia, utilizando para ello un ecógrafo SonoVet 2000 (SV2000 Medison) con un transductor lineal de 7,5Mhz. Los resultados obtenidos indicaron una diferencia significativa ($p < 0,05$) para el sitio de colocación del embrión. La información obtenida fue analizada utilizando la prueba de Chi-cuadrado con un alfa del 0,05. Para el T₂ se logró un 70% de sobrevivencia de los embriones, mientras que para el T₁ solo se alcanzó el 30%. A los 60 días, el 57,1% de las hembras que recibieron un embrión colateral al CL presentaron gestaciones dobles y para los 90 días el 75% de las mismas presentaron gestaciones dobles. Del total de gestaciones dobles en ambos grupos, solo el 20% de las mismas llegó a término con un nacimiento doble. Se concluye que es posible inducir partos dobles mediante la transferencia de un segundo embrión siete días post inseminación en la hembra bovina.

Palabras clave: Brahman, colateral, ipsilateral, parto múltiple, sincronizaron.

¹Recepción: 27 de abril de 2023. Aceptación: 18 de noviembre de 2023. Trabajo para optar por el Título de Ing. Agr. con orientación en Producción Animal. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad de Panamá. Financiado por el Proyecto Mejoramiento de las Técnica de Biotecnología Animal utilizadas en el Mejoramiento Animal del Instituto de Innovación Agropecuaria de Panamá (IDIAP).

²IDIAP. Centro de Innovación Agropecuaria Oriental. Subcentro de Buena Vista. Ing. Agr. Zootecnista. e-mail: raul.deleon@idiap.gob.pa ; ORCID <https://orcid.org/0000-0001-6223-5380>

³IDIAP. Centro de Innovación Agropecuaria de Chiriquí. M.Sc. en Producción animal. Estación Experimental de Gualaca. e-mail: roderickagm@gmail.com

⁴IDIAP. Centro de Innovación Agropecuaria de Chiriquí. M.Sc. Mejoramiento genético. Estación Experimental de Gualaca. e-mail: pedroguerram16@gmail.com; ORCID iD: <https://orcid.org/0000/0001/6731/3624>

⁵Universidad de Panamá. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Estudiante graduando.



Este trabajo está licenciado bajo una [licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

MULTIPLE PREGNANCY BY TRANSFER OF AN *in vitro* EMBRYO IN PREVIOUSLY INSEMINATED COWS

ABSTRACT

In order to determine the effect of the site of placement of a second embryo in previously inseminated cows on the rate of pregnancy and double gestation, the present research work was carried out in the Animal Biotechnology Laboratory of the Instituto de Innovación Agropecuaria de Panamá (IDIAP). To do this, 20 multiparous females with different Brahman cross were selected, which were synchronized using a dose of 3 cc (0.75mg) of Cloprostenol (Lutaprost® 250, Pharmadix. Corp) deep intramuscular route. 48 hours after application, the females were inseminated while, at the same time, in the laboratory, the fertilization of the oocytes collected and matured *in vitro*, from *post-mortem* ovaries, was carried out. Seven days after insemination, the batch of inseminated cows was separated into two groups of 10 females and the embryos were transferred to them, in blastocyst stages. In the first group (T₁), the ipsilateral embryo was placed in the corpus luteum (CL) (T₁) and second group (T₂) the collateral embryo was placed in the corpus luteum (T₂). Confirmation of gestation was carried out at 30, 60 and 90 days after transfer, using a SonoVet 2000 ultrasound scanner (SV2000 Medison) with a linear transducer of 7.5Mhz. The results obtained indicated significant differences (p<0.05) for the site of placement of the embryo. The obtained information was analyzed using the Chi-square test with an alpha of 0.05. For T₂, 70% of the embryos' survival was achieved, while for T₁ only 30% was achieved. At 60 days, 57.1% of the females who received a collateral embryo to the CL presented double pregnancies and by 90 days 75% of them presented double pregnancies. Of the total number of double pregnancies in both groups, only 20% of them achieved a double birth. In conclusion, it is possible to induce double births by transferring a second embryo seven days after insemination in the bovine female.

Keywords: Brahman, collateral, ipsilateral, multiple birth, synchronized.

INTRODUCCIÓN

El objetivo fundamental de la ganadería moderna no es solo incrementar la productividad del hato, sino llegar a ser competitiva, sostenible y resiliente ante una economía globalizada, de manera tal que el empleo de las biotecnologías de la reproducción, para lograr grandes avances en el mejoramiento genético, han representado una importante herramienta.



Este trabajo está licenciado bajo una [licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Dentro de los programas de mejoramiento se deben distinguir dos etapas: la primera consiste en lograr la mejora a través de la selección de individuos superiores tomando en cuenta su superioridad genética con relación a ciertas características determinadas, y la segunda es la diseminación de este valor genético dentro de una población comercial. Es en esta segunda etapa donde la biotecnología viene a jugar un papel preponderante.

La contribución de un individuo al progreso genético de su especie está condicionada por el número de descendientes que se puedan obtener de él durante su vida reproductiva o en un periodo de tiempo determinado. En este contexto, las biotecnologías de la reproducción se emplean para reducir el intervalo generacional y aumentar la presión de selección obtenidos a partir de animales de alto valor genético. Con el propósito de lograr esta meta se emplean soluciones tecnológicas a fin de reducir la intervención de estos animales en la reproducción al mínimo imprescindible y cuya máxima expresión sería la producción de gametos (Palma, 2008).

Inducir la producción de gemelos en el ganado ha sido objeto de interés y esfuerzos de investigación durante varios años. En la actualidad, la inducción de partos múltiples se está considerando como un medio para combatir el aumento dramático en el costo de alimentación que se han producido durante los últimos años. Para lograr este objetivo, se han considerado tres enfoques para la inducción artificial de la gestación gemelar en bovinos: selección genética, tratamiento con gonadotropina exógena y transferencia embrionaria (Anderson, 1978).

En los bovinos, la incidencia de partos dobles es una característica de baja heredabilidad (0,03) y repetibilidad (0,06) y se estima que la frecuencia de nacimientos dobles puede variar entre 1% y 5% dependiendo, principalmente de la raza, la edad y las condiciones ambientales (Morris, 1984). Sin embargo, se ha demostrado que es posible obtener una alta incidencia de gestaciones dobles al transferir dos embriones bilateralmente al útero de hembras receptoras (Rowson et al., 1971).



Este trabajo está licenciado bajo una [licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Trabajos de investigación realizados por Gordon et al. (1962) y Gordon (1989) sugerían que una de las posibles aplicaciones de la técnica de transferencia de embriones debería ser la colocación de un segundo embrión en el útero de vacas previamente cubiertas. Esta recomendación podría ser aplicada hoy día, puesto que la mayoría de las inducciones de mellizos en bovinos, se realizan depositando el embrión en el cuerno uterino colateral al cuerpo lúteo (CL), aunque existen evidencias que sugieren que la transferencia embrionaria al cuerno ipsilateral podría presentar ventajas comparativas al método colateral, para lograr preñeces dobles en receptoras (Penny et al., 1995).

Cerca del 18% de las receptoras previamente inseminadas, no tendrán su embrión nativo viable en el cuerno uterino ipsilateral al día siete post estro, debido a fallas en la fecundación y mortalidad embrionaria temprana, según Sreenan y Diskin, 1986. Por otro lado, Silvia (1994) señala que para el día 20 post inseminación, la mayor parte de la mortalidad embrionaria ya ha ocurrido y ésta llega a afectar al 30% de los embriones.

El principal objetivo al transferir el embrión colateral al cuerno en donde está el CL, es evitar la coexistencia de dos embriones en un mismo cuerno, ya que Rowson et al. (1971) y Hanarahan (1983) han reportado que las ovulaciones dobles unilaterales coinciden con altas tasas de mortalidad embrionaria en comparación con ovulaciones dobles bilaterales u ovulaciones únicas. Además, de establecerse la gestación doble en un solo cuerno, las posibilidades de aborto, de acuerdo a Reichenbach et al. (1992), serían mayores que si ésta fuera bilateral. Sin embargo, existen otros antecedentes, que indican que no habría diferencia en el porcentaje de abortos presentados por vacas gestando mellizos uni o bilateralmente (Sreenan y Diskin, 1986). Rowson et al. (1969 a y b) demostraron que la transferencia quirúrgica de embriones ipsilateral al cuerpo lúteo, produce mayor porcentaje de preñeces.

Por otra parte, la transferencia de un segundo embrión colateral al CL tiene la desventaja que su sobrevivencia es altamente dependiente de la sobrevivencia del embrión nativo que se encuentra en el cuerno ipsilateral al CL (Gordon, 1989; Sinclair et al., 1995), siendo altamente improbable que el embrión transferido se desarrolle a menos que el embrión nativo haya podido sobrevivir más allá del día 20 post ovulación (Penny et al., 1995).



Este trabajo está licenciado bajo una [licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Es por ello que, con el propósito de comparar el efecto del lugar de transferencias de un segundo embrión, ipsilateral o colateral al cuerpo lúteo (CL), sobre la tasa de gestación doble, realizamos el presente trabajo de investigación.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización

La investigación se llevó a cabo en la Estación Experimental Carlos M. Ortega (EE-CMO) del Instituto de Innovación Agropecuaria de Panamá, ubicada en el corregimiento de Gualaca, distrito de Gualaca, provincia de Chiriquí, que se caracteriza por estar a una altitud de aproximadamente 100 msnm, tener una precipitación anual de 4200 mm y su temperatura media anual es de 26,5° C.

Animales experimentales

Para el estudio se seleccionaron 20 vacas multíparas con diferentes encaste de Brahman, con buen estado de salud y condición corporal de 5 a 6 (escala de 1 a 9 de Stahringer et al., 2003), que pastoreaban en parcelas de *Brachiaria humidicola*, manejada en un sistema de rotación de siete días de pastoreo por 21 de descanso y eran fertilizadas con 60, 30 y 20 kg·ha⁻¹ de N₂, P₂O₅ y K₂O, anualmente.

Las hembras seleccionadas fueron divididas, completamente al azar, en dos grupos de 10 hembras cada uno. Ambos grupos se le sincronizó el celo utilizando una dosis única de 0,75 mg (3 cc) de cloprostenol (Lutaprost® 250, Pharmadix. Corp) que es un análogo sintético de la prostaglandina (PGF₂α).

Luego de pasadas 48 horas de la aplicación de cloprostenol, se procedió a realizar la inseminación artificial (IA), utilizando para ello pajuelas de 0,5 cc de semen de un toro de la raza Wagyu (Japanese Black) cuya calidad fue evaluada previamente. Al mismo tiempo, en el laboratorio de fertilización *in vitro* de la EE-CMO, se procedía a realizar, de manera sincronizada, la fertilización *in vitro* (FIV) de ovocitos colectados de ovarios *post mortem* y madurados *in vitro*. Para ello se usó semen de tres toros de razas distintas a saber; Angus rojo, Beefmaster y Charoláis.



Este trabajo está licenciado bajo una [licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Transcurridas 20 horas post FIV, se procedió a denudar los posibles cigotos y se continuó con el proceso de cultivo de embriones siguiendo la metodología descrita por De León et al. (2012). Una vez finalizado el proceso de producción de los embriones, que tuvo una duración de siete días, se procedió a la evaluación y selección de los embriones producidos para determinar si eran aptos o no para su transferencia.

Para la determinación de los estadios de desarrollo embrionario se utilizó la tabla de clasificación de embriones de acuerdo con los estadios de desarrollo de Stringfellow y Siedel (2000) y para la determinación de la calidad del embrión apto para transferencia la tabla descrita por De Armas y Solano, (2006).

Transferencia embrionaria

Siete días posterior a la inseminación de las receptoras, se procedió a transferirles un embrión fresco producido *in vitro*. Para ello, las vacas fueron inmovilizadas en un brete y se les administró una anestesia epidural baja (Lidocaína 2%, OVER, Argentina), luego, mediante palpación transrectal se ubicó el CL, con lo cual se determinó el sitio de la ovulación. Las pajuelas conteniendo los embriones fueron cargadas en una pistola Cassou y se procedió a la transferencia directa (no quirúrgica) del embrión a las 20 receptoras de la siguiente manera; 10 receptoras recibieron un embrión ipsilateral al CL (T_1) y las otras 10 recibieron el embrión colateral al CL (T_2).

Periodos de evaluación y variables de respuesta

Los diagnósticos para la determinación de la tasa de sobrevivencia la de gestación se realizó por ecografía a los 30, 60 y 90 días post transferencia del embrión utilizando un ecógrafo SonoVet 2000 con un transductor lineal de 7.5Mhz por vía transrectal.

Análisis estadístico de los datos

Como variables de respuesta se consideraron las siguientes:

- Porcentaje de concepción a los 30 días.
- Porcentaje de gestación los 60 días.
- Porcentaje de gestación simple y doble a los 90 días.
- Número de nacimientos dobles.

La información obtenida fue analizada utilizando la prueba de χ^2 con un alfa del 0,05.



Este trabajo está licenciado bajo una [licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tasa de sobrevivencia de los embriones a los 30 días

Los resultados mostraron diferencias significativas ($P < 0,05$) entre tratamientos (sitio de colocación del embrión). La tasa de sobrevivencia promedio de los embriones transferidos, para ambos tratamientos, fue de 50%, sin embargo, la mayor sobrevivencia se encontró en los embriones colocados colateralmente al CL (T_2) con 70%, mientras que los embriones colocados ipsilateral al CL solo sobrevivieron el 30% (Cuadro 1).

La sobrevivencia de los embriones transferidos podría estar asociada a la migración de los mismos, según resultados de McMillan y Peterson (1999). Estos autores observaron que las primeras migraciones ocurrieron a partir del día 14 post transferencia, produciendo una mayor migración durante los siguientes 12 días, asociando con una mayor supervivencia desde el día 14 hasta el 26. Además, indican que en transferencias contralaterales la sobrevivencia fue de 60% y en las ipsilaterales de 19%. De igual forma, Renard et al. (1977) encontró que la sobrevivencia de embriones transferidos a vacas previamente servidas era de 42,3% hasta el día 57, un poco superior a los hallazgos de este trabajo.

Aunque estos resultados difieren de los reportados por Sreenan et al. (1975) quienes encontraron una mayor tasa de supervivencia embrionaria en el cuerno ipsilateral al CL (69,2%) que en el cuerno colateral al CL (30,8%), corroboran lo señalado por Sreenan y Diskin (1986) quienes indican que hembras previamente inseminadas y a las cuales se les transfiere un embrión posteriormente no tendrán su embrión nativo viable en el cuerno uterino ipsilateral al día siete post estro, debido a fallas en la fecundación y mortalidad embrionaria temprana.

Cuadro 1. Tasa de sobrevivencia de los embriones transferidos a los 30 días.

	Sitio de colocación del embrión		Total
	Ipsilateral	Colateral	
Número de hembras transferidas	10	10	20
Tasa de sobrevivencia			
Porcentaje de sobrevivencia	30%	70%	50%



Este trabajo está licenciado bajo una [licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Estas pérdidas embrionarias, que podrían alcanzar entre 25% y 40%, son difíciles de diagnosticar, ya que la mayoría de las vacas retornan al celo a los 20-22 días, manifestando un comportamiento estral regular, por lo que se supone que las pérdidas embrionarias se originaron entre los días 7 y 17; es decir, el periodo correspondiente entre la transferencia embrionaria y el reconocimiento materno de la preñez (RMP).

Tasa de gestación doble a los 60 días post transferencia

A los 60 días después de realizada la transferencia, se pudo observar que, de las 20 vacas previamente inseminadas y a las cuales se les transfirió el embrión, el 50% (10/20) fueron diagnosticadas gestantes, de las cuales el 50% (5/10) presentaban gestaciones dobles; 33,3% para el T1 (1/3) y el 57,1% (4/7) en el T2 (Cuadro 2). En promedio, para ambos tratamientos, la tasa de gestación doble fue de 50,0%, valor inferior a lo que reporta Dahlen et al. (2012) que fue de 57% de gestaciones dobles, los reportados por Sreenan y Diskin, (1989) y a los encontrados por Guerra et al. (1990) que fue de 68% en novillas y 74% en vacas.

Cuadro 2. Porcentaje de gestaciones dobles en vacas previamente diagnosticadas gestantes.

	Sitio de colocación del embrión		Total
	Ipsilateral	Colateral	
Hembras diagnosticadas preñadas a los 60 días	3/10	7/10	10/20
Hembras con gestación doble	1/3	4/7	5/10
Porcentaje	33,3%	57,1%	50%

Los valores reportados para gestaciones doble, cuando el embrión se coloca ipsilateral al CL (33,3%), resultan inferiores a los que reporta Tervit et al. (1977) quienes hallaron hasta 54%. Por otra parte, Silva et al. (2000) reportan gestaciones dobles de 57,1% a 14,3% para transferencias ipsilateral y colateral respectivamente a los 60 días, sin embargo, el promedio de gestaciones doble solo fue de 37,5% en comparación con el 50% que encontramos en este trabajo. Sinclair et al. (1995) también reportan gestaciones dobles de 30% a los 56 días, señalando un mayor número de gestaciones dobles cuando el embrión fue colocado ipsilateral al CL (33,4%), lo cual coincide con nuestros resultados, al igual que Holy et al. (1981) quienes encontraron 61,6% de gestaciones dobles en embriones transferidos no quirúrgicamente.



Este trabajo está licenciado bajo una [licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Gestaciones dobles y simples diagnosticadas a los 90 días

El diagnóstico de gestación a los 90 días indico que, hasta ese momento el 100% y el 75% de las gestaciones dobles inducidas se habían mantenido para el T₁ y T₂, respectivamente (Cuadro 3). De un total de cuatro partos registrados en este ensayo, al final, solo el 20% (1/5) de las receptoras tuvo parto múltiple en comparación con el 38% que reportan Sreenan y Diskin, (1989) y el 60% que encontró Guerra et al. (1990). El resto partos fueron sencillos y en parto múltiple ambos animales resultaron ser machos, sin problemas de distocia al momento del nacimiento y sin freemartinismo.

Cuadro 3. Porcentaje de gestaciones dobles en vacas previamente diagnosticadas gestantes.

	Sitio de colocación del embrión		Total
	Ipsilateral	Colateral	
Número de receptoras	10	10	20
Tasa de preñez doble a los 60 días	1	4	5/20
Tasa de preñez doble a los 90 días.	1	3	4/20
Porcentaje de gestación doble a los 90 días	100%	75%	



Terneros nacidos por inducción de parto múltiple.



Este trabajo está licenciado bajo una [licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

CONCLUSIÓN

- Los resultados previos obtenidos en este ensayo indican la posibilidad de inducir partos múltiples en hembras bovinas previamente inseminadas mediante la transferencia de un embrión el día siete post inseminación con posibilidades de éxito al momento del nacimiento.

RECOMENDACIÓN

- Continuar con este tipo de estudio, aumentando el número de hembras, además, tomar en cuenta el diámetro del cuerpo lúteo a fin de determinar su efecto en la persistencia de la gestación.

REFERENCIAS

- Anderson, G. B. (1978). Methods for producing twins in cattle. *Theriogenology*, 9, Issue 1, 3-16. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0093691X78900481>
- Dahlen, C. R., DiCostanzo, A., Spell, A. R., y Lamb, G. C. (2012). Use of embryo transfer seven days after artificial insemination or transferring identical demi-embryos to increase twinning in beef cattle. *J Anim Sci.* 90(13), 4823-4832. Doi:10.2527/jas.2011-4778. https://www.researchgate.net/publication/269429798_Use_of_embryo_transfer_seven_days_after_artificial_insemination_or_transferring_identical_demi-embryos_to_increase_twinning_in_beef_cattle#fullTextFileContent
- De Armas, R., y Solano, R. (2006). *Manual Práctico de Transferencia de Embriones y Fertilización in vitro*. Centro de Investigación y Mejoramiento Animal. La Habana, Cuba. 118 pp.
- De León, R. H., González, R. A., y Guerra, P. (2012). *Manual técnico de fertilización in vitro*. Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá. Departamento de Ediciones y Publicaciones. Panamá, 2010 p. 48.



Este trabajo está licenciado bajo una [licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

- Gordon, I. (1989). Control en la Crianza de los Animales de Granja. Compañía Editorial Continental, S.A., México, D.F. Disponible en: <https://internacionallibros.cl/product/control-en-la-crianza-de-animales-de-granja/>
- Gordon, I., Williams, G., y Edwards, J. (1962). The use of PMSG in the induction of twin pregnancy in the cow. *J. Agric. Sci. Camb.* 59, 143-198. <https://www.cambridge.org/core/journals/journal-of-agricultural-science/article/abs/use-of-serum-gonadotropin-pms-in-the-induction-of-twinpregnancy-in-the-cow/E131737749B44DE2D03521C7B01EF253>
- Guerra, M. P., Dickerson, G. E., Anderson G. B., y Green, R. D. (1990). Embryo transfer twinning and performance efficiency in beef production. *J. Anim. Sci.* 68, 4039-4050. <https://doi.org/10.2527/1990.68124039x>
- Hanarahan, J. P. (1983). The inter-ovarian distribution of twin ovulations and embryo survival in the bovine. *Theriogenology*, 20, 3-11. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16725826/>
- Holy, L., Jirícek, A., Vanatka, F., Vrtel, M., y Fernández, V. (1981). Artificial induction of twins in cattle through supplementary embryo transfer. *Theriogenology*, 16, Issue 4, 483-488. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0093691X81900819>
- Morris, C.A. 1984. A Review of the genetics and reproductive physiology of dizygotic twinning in cattle. *Animal breeding abstracts*. November, 1984, Vol. 52 N° 11. Disponible en: <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/pdf/10.5555/19850186201>
- M^oMillan, W.H., y Peterson, A.J. 1999. Transuterine embryo migration in recipient cattle. *Theriogenology* Volume 51, Issue 8, June 1999, Pages 1577-1586. En: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10729084/>
- Palma G. (2008). *Bioteconología de la Reproducción*. In: Consideraciones económicas en la producción de embriones *in vitro*. 2^a edición.



Este trabajo está licenciado bajo una [licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

https://www.google.com.pa/books/edition/Biotecnolog%C3%ADa_de_la_Reproducci%C3%B3n/zmHbayu_hfIC?hl=es&gbpv=1&dq=Consideraciones+econ%C3%B3micas+en+la+producci%C3%B3n+de+embriones+in+vitro&pg=PA268&printsec=frontcover

Penny, C. D., Lowman, B. G., Scott, N. A., Scott, P. R., Voelkel, S., y Davies D. A. R. (1995). Management aspects of induced twinning in beef suckler cows using in vitro fertilized embryos. *Vet. Rec.* 136, 506-510.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7660547/>

Reichenbach, H.D., Leibrich, J., Berg, U., y Brem, G. (1992). Pregnancy rates and births after unilateral or bilateral transfer of bovine embryos produced *in vitro*. *J. Reprod. Fert.* 95, 363-370.
https://rep.bioscientifica.com/view/journals/rep/95/2/jrf_95_2_005.xml

Renard, J. P., Heyman, Y., y Du Mesnil Du Buisson, F. (1977). Unilateral and bilateral cervical transfer of bovine embryos at the blastocyst stage. *Theriogenology*, 7, Issue 4, 189-194. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/873039/>

Rowson, L. E. A., Lawson, R. A. S., y Moor, R. M. (1971). Production of twins in cattle by egg transfer. *J. Reprod. Fert.* 25, 261 - 268.
https://rep.bioscientifica.com/view/journals/rep/25/2/jrf_25_2_013.xml

Rowson, L., Moor, R. M. & Lawson, R. A. S. (1969a). Fertility following egg transfer in the cow; effect of method, medium and synchronization of oestrus. *J. Reprod. Fert.* 18, 517. En: https://rep.bioscientifica.com/view/journals/rep/18/3/jrf_18_3_015.xml

Rowson, L., Lawson, R. A. S. & Moor, R. M. (1969b). Production of twins in cattle by egg transfer. *Vet. Rec.* 88, 583. En: https://rep.bioscientifica.com/view/journals/rep/25/2/jrf_25_2_013.xml



Este trabajo está licenciado bajo una [licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Silva, M. E., Gatica, R., y Correa, J. E. (2000). Inducción de mellizos mediante la transferencia de un segundo embrión ipsilateral o contralateral al cuerpo lúteo en vacas cubiertas. *Arch. med. vet.* 32 (1) Valdivia. 2000. <https://www.redalyc.org/pdf/1730/173013741005.pdf>

Silvia, W. J. (1994). *Embryonic mortality and repeat breeder cows*. In: Proceedings National Reproduction Symposium, Pittsburgh, PA. Edited by E R. Jordan Texas A&M University, United States.

Sinclair, K. D., Broadbent, P. J., Dolman, D. F., Watt, R. G., y Mullan, J. S. (1995). Establishing twin pregnancies in cattle by embryo transfer. *Anim. Sci.* 61, 25-33. <https://www.cambridge.org/core/journals/animal-science/article/abs/establishing-twin-pregnancies-in-cattle-by-embryo-transfer/38A0F89695C47481238CC482E341B98D>

Sreenan, D., Beehan, J. M., y Mulvehill, P. (1975). Egg transfer in the cow: factors affecting pregnancy and twinning rates following bilateral transfers. *J Reprod Fertil*, 44 (1), 77-85. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0440077>. Consultado en: https://rep.bioscientifica.com/view/journals/rep/44/1/jrf_44_1_008.xml

Sreenan, J. M., y Diskin, M. G. (1986). The extent and timing of embryo loss in cattle. In: J.M. Sreenan y M.G. Diskin (eds.). *Embryonic mortality in farm animals*, pp 1-11. Martinus Nijhoff, The Hague. https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-94-009-5038-2_1

Sreenan, J.M., M.G. Diskin. 1989. Effect of a unilateral or bilateral twin embryo distribution on twinning and embryo survival rate in the cow. *J Reprod Fertil*. 1989 noviembre; 87(2):657-664. DOI: <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0870657>. En: https://rep.bioscientifica.com/view/journals/rep/87/2/jrf_87_2_027.xml

Stahring, R. C., Chifflet, S., y Díaz, C. (2003). *Cartilla descriptiva del grado de condición corporal en vacas de cría*. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Estación



Este trabajo está licenciado bajo una [licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Experimental Colonia Benítez Dr. Augusto G. Schulz. Rev. Braford. Año 18, N° 49.
https://branqus.org.ar/wp-content/uploads/2022/12/script-tmp-inta_-_cartilla_descriptiva_del_grado_de_condicin_cor.pdf.pdf

Stringfellow, D. A.; y Siedel, S. M. (2000). *Manual de la Sociedad Internacional de Transferencia de Embriones (IETS)*. 3ª Ed. Illinois U.S.A, Ambiotec. 181. pags.

Tervit, H.R., Havik, P.G., Smith, J.F. (1977). Egg transfer in cattle: Pregnancy rate following transfer to the uterine horn ipsilateral or contralateral to the functional corpus luteum. *Theriogenology*, 7, Issue 1, 3-10.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0093691X7790262X>

Turman E.J., Laster, D.B., Renbarger, R.E., Stephens, D.F. 1971. Multiple births in beef cows treated with equine gonadotropin (PMSG) and chorionic gonadotropin (HCG) J. Anim. Sci. DOI: <https://doi.org/10.2527/jas1971.325962x>.
<https://academic.oup.com/jas/article-abstract/32/5/962/4666627?redirectedFrom=fulltext&login=false>



Este trabajo está licenciado bajo una [licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)