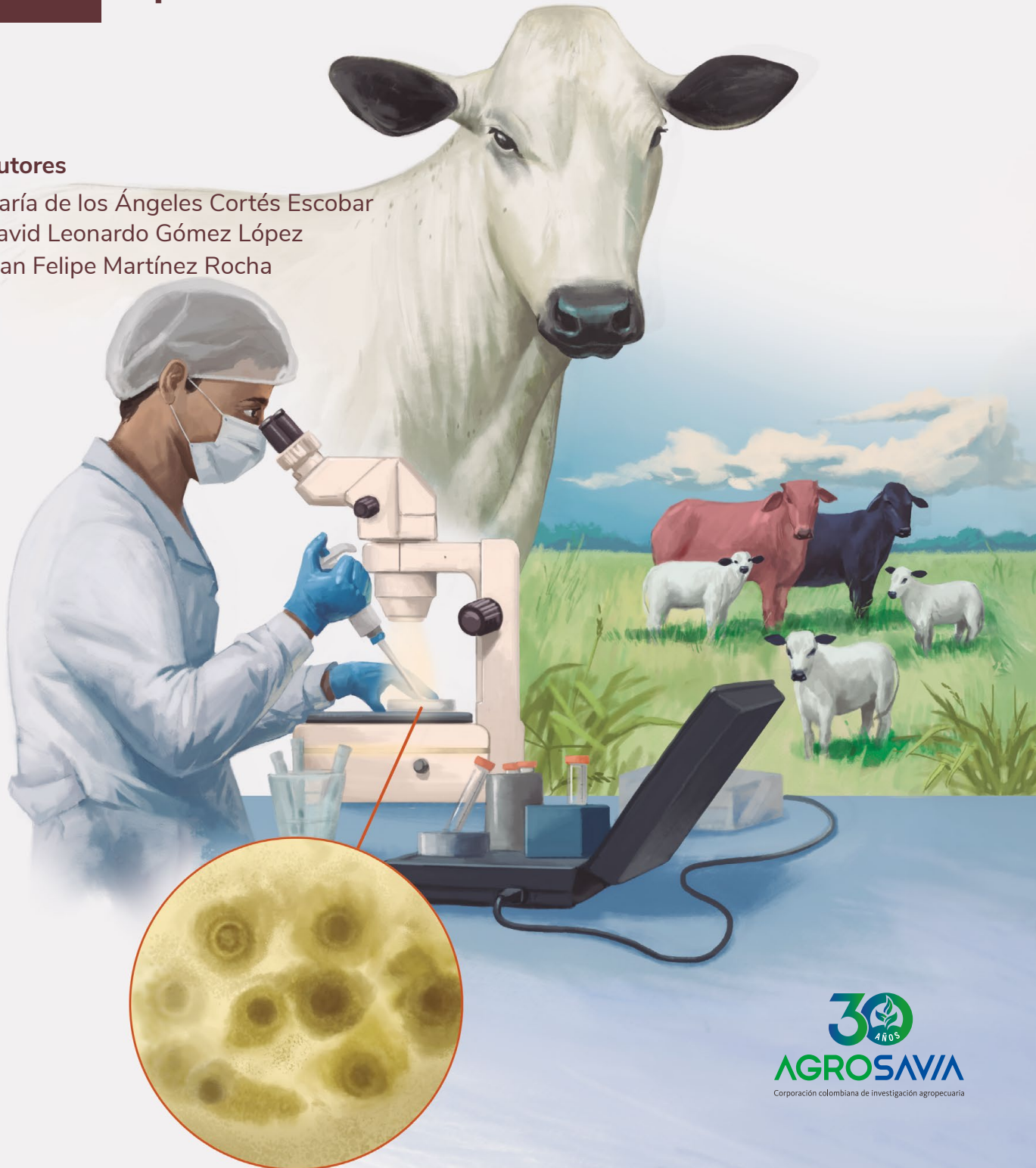


Guía de manejo de oocitos bovinos durante su colecta y envío para la producción *in vitro* de embriones

Autores

María de los Ángeles Cortés Escobar
David Leonardo Gómez López
Juan Felipe Martínez Rocha





Guía de manejo de oocitos bovinos durante su colecta y envío para la producción *in vitro* de embriones



Autores

María de los Ángeles Cortés Escobar
David Leonardo Gómez López
Juan Felipe Martínez Rocha

Cortés Escobar, María de los Ángeles

Guía de manejo de oocitos bovinos durante su colecta y envío para la producción *in vitro* de embriones. /
María de los Ángeles Cortés Escobar; David Leonardo Gómez López y Juan Felipe Martínez Rocha. – Mosquera,
(Colombia) : AGROSAVIA, 2023.

60 páginas (Colección Prácticas Agropecuarias)

Incluye referencias, gráficos y tablas.

ISBN e-Book: 978-958-740-655-9

1. Ganado bovino 2. Reproducción animal 3. Producción de embriones in vitro 4. Ovocitos 5. Recolección
de semen 6. Criopreservación 7. Seguridad biológica en el laboratorio. I. Gómez López, David Leonardo
II. Martínez Rocha, Juan Felipe.

Palabras clave normalizadas según Tesauro Multilingüe de Agricultura -Agrovoc

Catalogación en la publicación – Biblioteca Agropecuaria de Colombia

Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria – AGROSAVIA

Centro de Investigación Tibaitatá. Kilómetro 14 vía Mosquera-Bogotá, Mosquera. Código postal 250047, Colombia.

Esta publicación es el resultado del proyecto
“Vinculación OT ganadería pequeños y medianos
productores”.

Colección: Transformación del Agro
Tipología: Cartilla

Fecha de recepción: 20 de octubre de 2022
Fecha de evaluación: 5 de noviembre de 2021
Fecha de aceptación: 21 de febrero de 2023

Publicado: septiembre de 2023

Preparación editorial
Editorial AGROSAVIA
editorial@agrosavia.co

Dirección editorial: Astrid Verónica Bermúdez Díaz
Edición: Liliana Elvira Gaona García
Adecuación pedagógica: Andrea Montoya
Corrección de estilo: Andrés Castillo Brieva
Ilustraciones: Juan Felipe Martínez Tirado
Diagramación: María Paula Berón Ramírez



https://co.creativecommons.org/?page_id=13

Citación sugerida: Gómez López, D. L., Cortés Escobar, M. A.,
& Martínez Rocha, J. F. (2023). *Guía de manejo de oocitos
bovinos durante su colecta y envío para la producción in vitro
de embriones*. Corporación Colombiana de Investigación
Agropecuaria (AGROSAVIA). <https://doi.org/10.21930/agrosavia.nbook.7406559>

Cláusula de responsabilidad: AGROSAVIA no es responsable
de las opiniones e información recogidas en el presente
texto. Los autores asumen de manera exclusiva y plena toda
responsabilidad sobre su contenido, ya sea este propio o de
terceros, y declaran, en este último supuesto, que cuentan
con la debida autorización de terceros para su publicación;
igualmente, declaran que no existe conflicto de interés
alguno en relación con los resultados de la investigación
propiedad de tales terceros. En consecuencia, los autores
serán responsables civil, administrativa o penalmente, frente
a cualquier reclamo o demanda por parte de terceros relativa
a los derechos de autor u otros derechos que se hubieran
vulnerado como resultado de su contribución.

Línea de atención al cliente: 018000121515
atencionalcliente@agrosavia.co
<http://www.agrosavia.co>

9	Introducción	
11	Conceptos generales	
	Oocito: el gameto de la vaca	11
	Selección de oocitos bovinos	12
	Producción <i>in vitro</i> de embriones bovinos	15
	Embriones producidos <i>in vitro</i> para transferencia en fresco	17
	Criopreservación de embriones producidos <i>in vitro</i>	18
21	Entrega de medio de cultivo para el proceso de búsqueda, selección y clasificación (BSC) de oocitos bovinos	
25	Proceso de aspiración folicular: descripción general	
27	Recomendaciones previas para la búsqueda, selección y clasificación (BSC) de los oocitos en campo	
	Limpieza y desinfección de manos	27
	Alistamiento del lugar de trabajo para el proceso de búsqueda, selección y clasificación (BSC) de oocitos	29
	Alistamiento de los medios de cultivo para el proceso de búsqueda, selección y clasificación (BSC) de oocitos	30

31	Procedimiento de búsqueda, selección y clasificación (BSC) de oocitos bovinos	
35	Registro de la información	
39	Embalaje y transporte de las muestras de oocitos	
	Embalaje de los oocitos para el transporte	40
49	Pajillas de semen criopreservado para el proceso de fertilización <i>in vitro</i>	
51	Criterios de aceptación del material recibido en el Laboratorio de Reproducción Animal (LRA)	
53	Conclusiones	
55	Agradecimientos	
57	Referencias	

Lista de figuras

Figura 1	Representación ilustrada del complejo <i>cúmulo-ovocitario</i> (cco) con sus partes anatómicas	11
Figura 2	Oocito calidad tipo I	12
Figura 3	Oocito calidad tipo II	13
Figura 4	Oocito calidad tipo III	13
Figura 5	Oocito calidad tipo IV	14
Figura 6	Oocito expandido	14
Figura 7	Representación del proceso de producción <i>in vitro</i> de embriones bovinos, detallando la obtención de oocitos mediante aspiración folicular, la subsiguiente maduración <i>in vitro</i> , la fertilización <i>in vitro</i> y, finalmente, el desarrollo embrionario temprano hasta la formación del blastocisto	15
Figura 8	Tipos de embriones bovinos producidos <i>in vitro</i> en el LRA de AGROSAVIA	18
Figura 9	Tubo de 5 mL con medio de maduración <i>in vitro</i> , aceite mineral testeado para FIV y sellado con un tapón de silicona	22
Figura 10	Medio de lavado en tubo de centrifuga de 15 mL	23
Figura 11	Nevera de icopor con los medios proporcionados por el laboratorio para llevar a cabo el proceso de lavado y maduración <i>in vitro</i>	24
Figura 12	Procedimiento universal para lavado y desinfección de manos	28
Figura 13	Condiciones ambientales controladas para la BSC y gasificación de oocitos bovinos	29
Figura 14	Gasificación del tubo de maduración <i>in vitro</i> con la mezcla de gas (5 % CO ₂ , 5 % O ₂ , balance con nitrógeno)	33
Figura 15	Formato de aspiración folicular y selección de oocitos bovinos del Laboratorio de Reproducción Animal de AGROSAVIA	36
Figura 16	Equipos especializados para el transporte de oocitos	40
Figura 17	Ejemplo de un termo especial para el transporte de muestras biológicas	42
Figura 18	Representación de embalaje alternativo para el transporte de oocitos	44
Figura 19	Panorámica del Laboratorio de Reproducción Animal, ubicado en las instalaciones del Centro de Investigación Tibaitatá, AGROSAVIA, municipio de Mosquera, Cundinamarca	46
Figura 20	Formato o rótulo para el envío de las muestras de material seminal	47

Lista de tablas

Tabla 1	Tiempo necesario para la producción <i>in vitro</i> de embriones por vaca donadora	16
Tabla 2	Diferencias entre congelación y vitrificación	19
Tabla 3	Ventajas y desventajas de la transportadora especial para el envío de oocitos bovinos al laboratorio	41
Tabla 4	Ventajas y desventajas del embalaje alternativo para el envío de oocitos bovinos al laboratorio	45







Introducción

Las **biotecnologías** han ganado gran popularidad en el control y dominio de las ciencias genéticas, con avances en el sector del ganado bovino, ovino, caprino y equino, reflejados en el aumento de la producción de leche, lana, carne, y en el mejoramiento de las razas. Estos avances han estado motivados por la demanda de carnes *premium* y por el cada vez más exigente mercado de productos lácteos.

La **producción *in vitro* de embriones** (PIVE) bovinos es una biotecnología consolidada, apoyada en la **obtención de oocitos de donadoras altamente seleccionadas** para producir embriones de animales de alto mérito genético. Sus objetivos son servir de herramienta para maximizar el número de crías nacidas de parentales genéticamente superiores y **facilitar la diseminación de germoplasma reproductivo**, la cual aumenta en cada generación de forma cualitativa y cuantitativa. Por esta razón, cada vez más productores adoptan la transferencia de embriones (TE) *in vitro* para incrementar la productividad y los valores genéticos en sus hatos ganaderos.

Aunque las técnicas *in vitro* para la producción de embriones están estandarizadas en el laboratorio, a nivel de campo todavía se puede mejorar la forma como las muestras de oocitos son tomadas, procesadas, embaladas y transportadas hasta el laboratorio, dado que esto afecta su viabilidad y posterior desarrollo.

La presente cartilla tiene como objetivo proporcionar contenido teórico y práctico ilustrado a productores ganaderos, técnicos y profesionales del sector pecuario, sobre el proceso de búsqueda, clasificación y selección (BSC) de oocitos bovinos a nivel de campo, y sobre su posterior envío y transporte al Laboratorio de Reproducción Animal (LRA) del Centro de Investigación (CI) Tibaitatá de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria – AGROSAVIA, para continuar con el proceso de producción *in vitro* de embriones.



Conceptos generales

Oocito: el gameto de la vaca

El oocito es la **célula germinal femenina** que contribuye con la mitad del genoma embrionario. Se ubica al interior del folículo del ovario y está envuelto por células de la granulosa, en una unión conocida como complejo **cúmulo-ovocitario (cco)** (figura 1) .

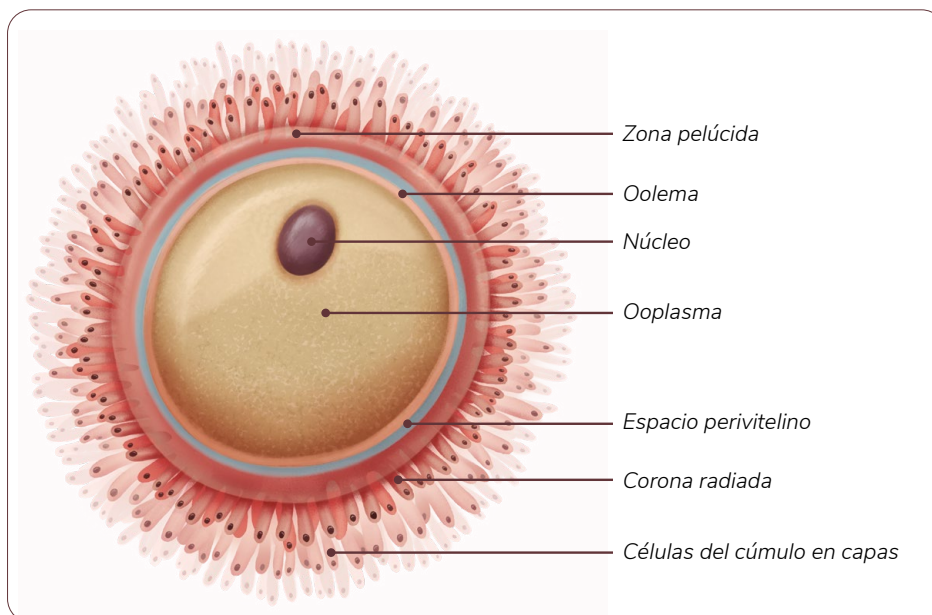


Figura 1. Representación ilustrada del complejo *cúmulo-ovocitario (cco)* con sus partes anatómicas.
Fuente: Elaboración propia

Con el propósito de facilitar la comprensión general de esta guía, utilizaremos el término 'oocito' para referirnos al complejo *cúmulo-ovocitario*.

Morfológicamente, los oocitos con mayor viabilidad para procesos de producción de embriones *in vitro* deben tener una coloración marrón, citoplasma homogéneo con granulaciones finas, y varias capas compactas de células del *cúmulo*. La clasificación más común para la selección de oocitos en el proceso de maduración *in vitro* (MIV) utiliza una escala de valores de I a IV, donde se considera las características del *cúmulo* y el citoplasma del oocito. Según esta clasificación, los oocitos de mayor potencial de desarrollo son los de calidad tipo I, mientras que los de calidad tipo IV tienen un potencial de desarrollo casi nulo.

Selección de oocitos bovinos

Los oocitos seleccionados para continuar con el proceso de maduración *in vitro* y que son enviados al LRA deben ser los tipos I, II y III, los cuales se describen a continuación:

Oocitos calidad tipo I: Presentan *cúmulos* compactos y con más de tres capas de células, son de tonalidad clara y transparente y tienen un ooplasma homogéneo y compacto de color marrón. En algunos casos es muy difícil observar la zona pelúcida y el núcleo por la cantidad de células del *cúmulo* que los rodea (figura 2).

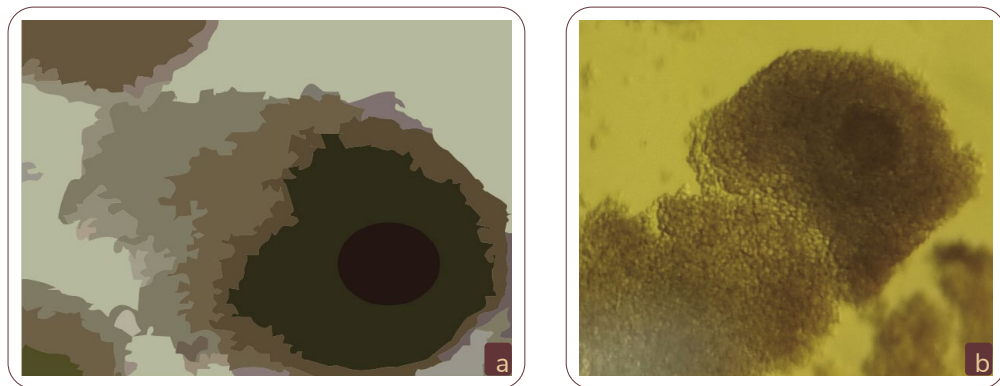


Figura 2. Oocito calidad tipo I. a. Representación ilustrada; b. Visto a través del estereoscopio.

Ilustración a: Jairo Augusto Gómez Castro. Foto b: David Leonardo Gómez López

Oocitos calidad tipo II: Tienen características semejantes a la calidad tipo I, pero una cantidad inferior de células en el *cúmulo*, las cuales siguen siendo compactas. Pueden encontrarse granulaciones dentro del ooplasma y en la periferia (figura 3).

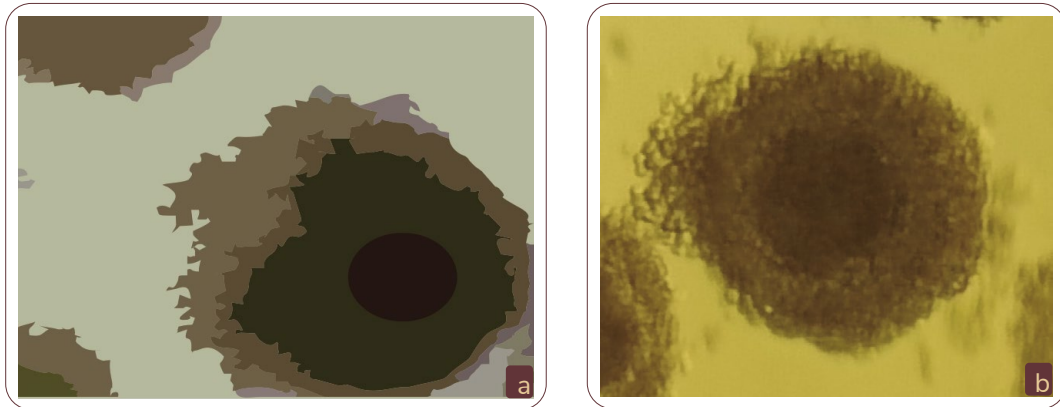


Figura 3. Oocito calidad tipo II. a. Representación ilustrada;
b. Visto a través del estereoscopio.

Ilustración a: Jairo Augusto Gómez Castro. Foto b: David Leonardo Gómez López

Oocitos calidad tipo III: Las células del *cúmulo* son menos compactas y más oscuras que en los anteriores. Estos oocitos tienen ooplasma homogéneo, y mínimo una capa de células del *cúmulo* que rodea al oocito (figura 4).

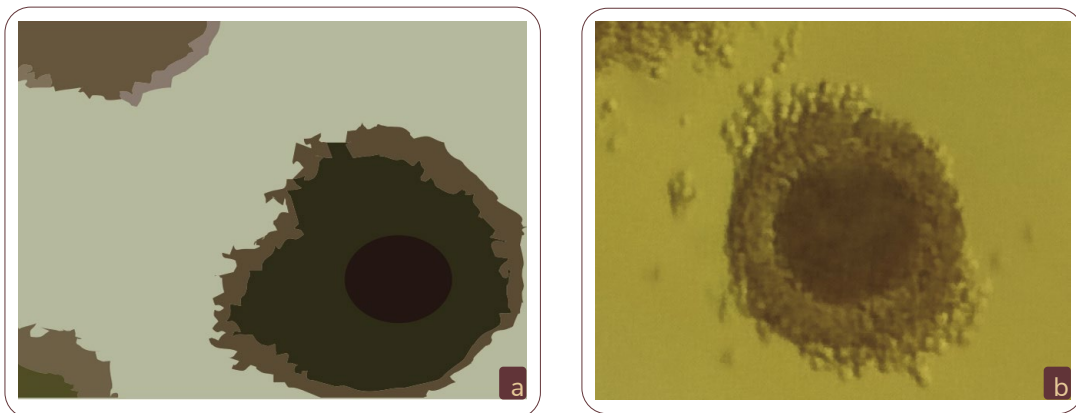
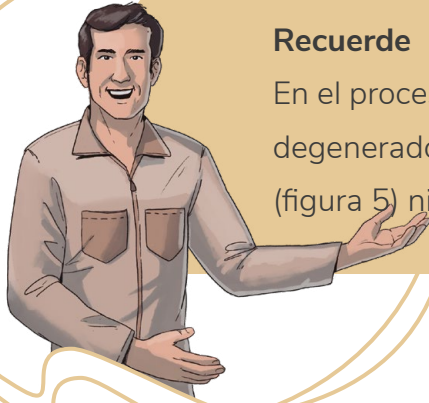


Figura 4. Oocito calidad tipo III. a. Representación ilustrada;
b. Visto a través del estereoscopio.

Ilustración a: Jairo Augusto Gómez Castro. Foto b: David Leonardo Gómez López



Recuerde

En el proceso de MIV no se deben incluir oocitos degenerados ni desnudos, es decir, oocitos calidad tipo IV (figura 5) ni tampoco atrésicos o expandidos (figura 6).

Oocitos calidad tipo IV: Son oocitos desnudos sin células del *cúmulo*, que se observan degenerados. La zona pelúcida puede o no estar intacta.

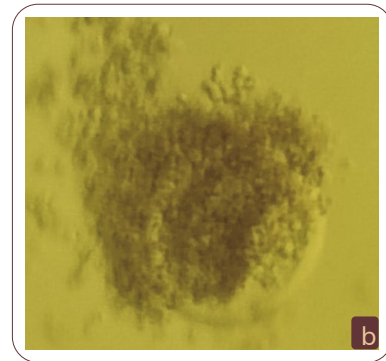
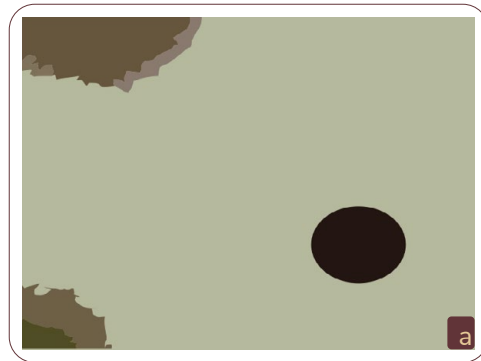


Figura 5. Oocito calidad tipo IV. a. Representación ilustrada; b. Visto a través del estereoscopio.

Ilustración a: Jairo Augusto Gómez Castro. Foto b: David Leonardo Gómez López

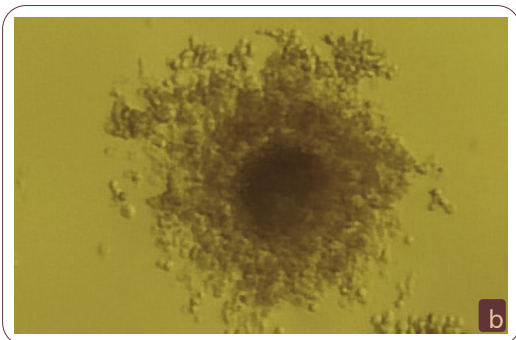
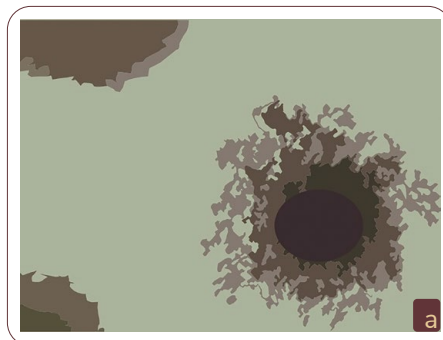


Figura 6. Oocito expandido. a. Representación ilustrada; b. Visto a través del estereoscopio.

Ilustración a: Jairo Augusto Gómez Castro. Foto b: David Leonardo Gómez López



Producción *in vitro* de embriones bovinos

La *técnica de producción in vitro de embriones (PIVE)* bovinos permite obtener embriones transferibles en fresco o criopreservados (ya sean congelados o vitrificados), de una forma más eficiente que el método convencional de embriones derivados *in vivo* con la técnica de superovulación.

El *proceso de PIVE* se describe de forma secuencial en la figura 7. Todos estos pasos son críticos, y si uno de ellos no se realiza de manera adecuada, la producción de embriones puede ser baja o incluso nula.

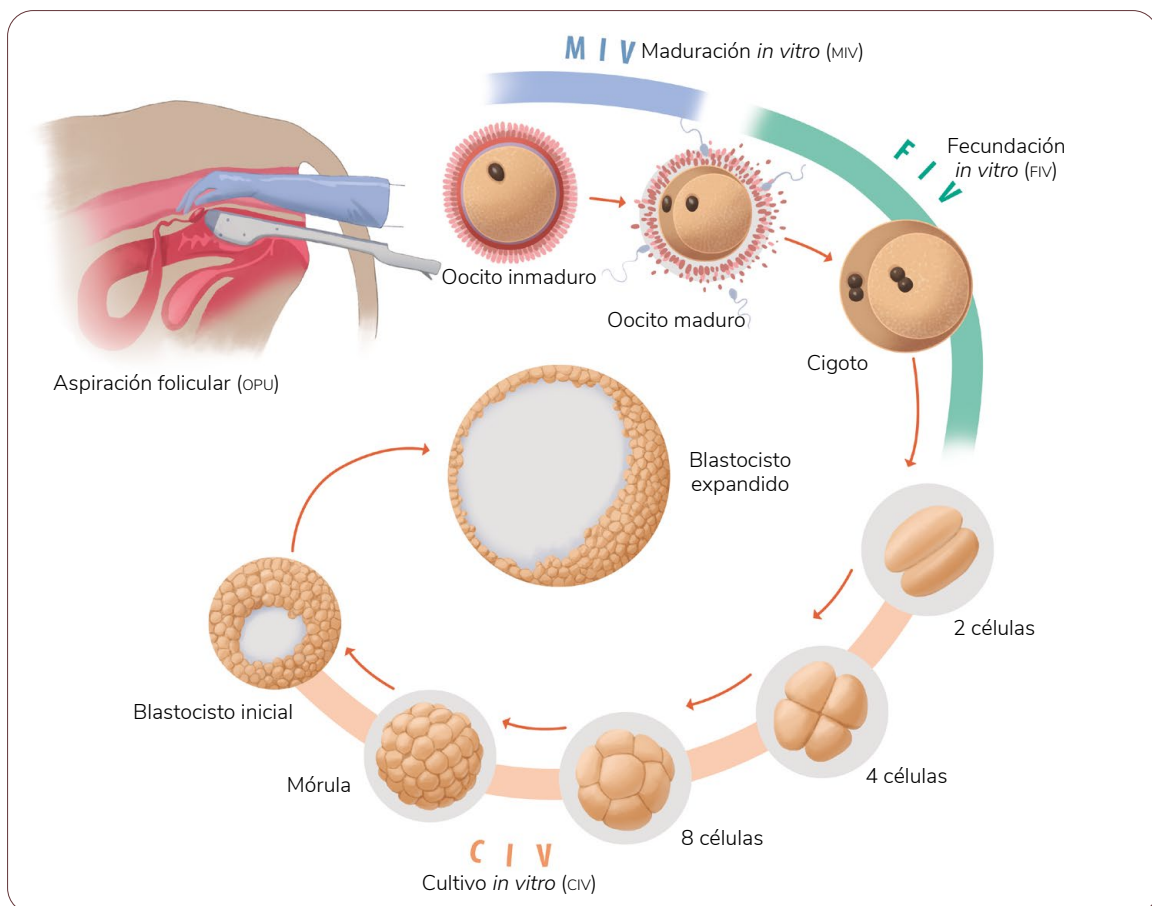


Figura 7. Representación del proceso de producción *in vitro* de embriones bovinos, detallando la obtención de oocitos mediante aspiración folicular, la subsiguiente maduración *in vitro*, la fertilización *in vitro* y, finalmente, el desarrollo embrionario temprano hasta la formación del blastocisto.

Fuente: Elaboración propia

¡Importante!

Los procesos de MIV, FIV y CIV por lo general se realizan dentro de incubadoras, las cuales tienen un ambiente controlado de concentración de gases (5 % de CO₂; 5 o 21 % de O₂) y de temperatura ($\pm 38,5$ °C). También se utilizan diferentes formulaciones de medios de cultivo durante cada etapa del desarrollo.

El proceso para la producción *in vitro* de embriones inicia con la aspiración de folículos (OPU) antrales en desarrollo en los ovarios de una vaca donadora. Luego, el líquido folicular obtenido debe ser procesado para realizar la búsqueda, selección y clasificación (BSC) de los oocitos aptos, y continuar con el proceso de maduración *in vitro* (MIV), el cual puede durar de 22 a 26 horas. Trascurrido el tiempo de la MIV en el laboratorio, los oocitos son fertilizados con semen de toros seleccionados y previamente capacitados, proceso que dura de 18 a 24 horas y en el cual se espera que se produzca el cigoto, el cual es la unión del oocito y el espermatozoide y se desarrolla para formar el embrión. Los embriones son cultivados y mantenidos en un ambiente controlado junto con medios de cultivo hasta el día siete de desarrollo (tabla 1), momento en el cual se pueden usar en fresco para transferirse a vacas receptoras que hayan sido sincronizadas o que hayan presentado celo siete días antes de la transferencia de embriones (TE). Los embriones también pueden ser criopreservados para su posterior uso.

Tabla 1. Tiempo necesario para la producción *in vitro* de embriones por vaca donadora

Aspiración folicular (OPU, por siglas en inglés de <i>ovum pick up</i>)	1-10 minutos
Búsqueda, selección y clasificación de oocitos	<10 minutos
Maduración <i>in vitro</i> (MIV) de oocitos	20-26 horas
Fertilización <i>in vitro</i> (FIV) de oocitos y capacitación espermática	18-24 horas
Cultivo <i>in vitro</i> (CIV) de embriones	7 días

Fuente: Elaboración propia



Embriones producidos *in vitro* para transferencia en fresco

Los **embriones en fresco** (figura 8a) son aquellos que, una vez alcanzado el estado de desarrollo de blastocisto en el día siete del cultivo *in vitro* (figura 7), son empajillados para ser transferidos a una vaca receptora que haya sido sincronizada o que haya presentado celo siete días antes.

¡Importante!

Desde que el embrión es empajillado, su transferencia debe ocurrir lo más pronto posible, en un lapso no superior a doce horas.

Por lo tanto, es fundamental la **sincronización del ciclo estral en las vacas receptoras** mediante tratamientos hormonales, ya que este ciclo debe coincidir con el calendario de OPU de las vacas donantes y con el proceso de producción *in vitro* de embriones en el laboratorio. De esta forma, las vacas receptoras estarán listas para recibir los embriones producidos al día siete de cultivo *in vitro*, en la etapa de desarrollo del blastocisto (figura 7).

¡Importante!

Los profesionales encargados de realizar las aspiraciones foliculares y obtención de oocitos bovinos en campo, deben consultar la reglamentación vigente del ICA que establece los requisitos sanitarios y de bioseguridad para emitir registros de centrales de recolección y procesamiento de material genético en especies de interés zootécnico.

Criopreservación de embriones producidos *in vitro*

La criopreservación es una herramienta que permite almacenar y conservar los embriones en condiciones óptimas, garantizando sus funciones vitales durante un largo periodo. El objetivo principal de este procedimiento es poder utilizar los embriones en un futuro, y obtener ventajas como las siguientes: 1) aprovechar todos los embriones que se produzcan *in vitro* sobre las receptoras sincronizadas, 2) transportar y comercializar los embriones, 3) programar los nacimientos según el tipo de explotación, 4) trabajar con lotes más pequeños de receptoras, y 5) transferir después de siete días del celo natural de las vacas, es decir, sin previa sincronización.

Existen dos tipos de criopreservación: 1) congelación lenta (figura 8b) y 2) vitrificación (figura 8c).



Figura 8. Tipos de embriones bovinos producidos *in vitro* en el LRA de AGROSAVIA. a. Embrión empajillado para ser transferido en estado fresco, es decir, sin previa criopreservación y descongelación; b. Embriones en proceso de congelación lenta para ser utilizados tras la descongelación; c. Embrión en proceso de vitrificación para uso posterior tras la desvitrificación.

Fotos: Bancos fotos AGROSAVIA y Mayerli Andrea Murillo Espinosa



Ambas técnicas mantienen el embrión criopreservado por tiempo indefinido, aunque tienen varias diferencias, tal como se relaciona en la tabla 2.

Tabla 2. Diferencias entre congelación y vitrificación

	Congelación	Vitrificación
Método de criopreservación	Congelación lenta	Congelación rápida
Tipo de almacenamiento	Pajilla de 0,25 mL	Pajilla de 0,25 mL estirada, <i>open pulled straw (OPS)</i>
Identificación del embrión	Lacrador con la identificación de los parentales	Pajilla OPS marcada con identificación propia del laboratorio
Cantidad de embriones por pajilla	Embrión individual por pajilla	De uno a seis embriones de mismos parentales por OPS
Técnica de descongelación	Descongelación de la pajilla en baño maría	Desvitrificación de la OPS por un técnico capacitado
Equipos necesarios para descongelación o desvitrificación	Termo descongelador	Estereoscopio Platina térmica Placa de Petri Micropipeta con puntas Pajillas de 0,25 mL Medios para desvitrificar

Fuente: Elaboración propia

¡Importante!

El usuario que solicita el servicio de embriones producidos *in vitro* debe indicar la presentación en que los requiere (figura 8), de acuerdo con sus necesidades logísticas y comerciales.



Entrega de medio de cultivo para el proceso de búsqueda, selección y clasificación (BSC) de oocitos bovinos

Los **medios de lavado** y sobre todo de **maduración *in vitro*** son especiales ya que contienen nutrientes y otros componentes que brindan las condiciones necesarias para el desarrollo de los oocitos hasta finalizar la etapa de maduración. Además, tienen soluciones búfer que estabilizan el pH y están optimizadas para funcionar en el ambiente de cultivo enriquecido con dióxido de carbono (CO₂).

¡Importante!

Es primordial contar con el medio de aspiración folicular (medio OPU) para realizar el proceso de aspiración folicular (OPU). Este medio no requiere una atmósfera de CO₂ y por lo general es una solución salina amortiguada con fosfatos (PBS), suplementada con albúmina sérica bovina (BSA) o alcohol polivinílico (PVA), y es utilizado para el mantenimiento inicial de los oocitos durante la búsqueda.

Nota: El laboratorio no proporciona el medio de aspiración (medio OPU).

Recuerde

No usar solución salina fisiológica estéril sin ningún suplemento como medio de aspiración folicular y de búsqueda, ya que no tiene las condiciones y suplementos adecuados para soportar el mantenimiento inicial de los oocitos.



De acuerdo con lo anterior, el laboratorio entrega los siguientes medios de lavado y de maduración de oocitos:

1. *Medio de maduración in vitro*: Se entrega en tubos de 5 mL con adición de 400 μ L de medio de maduración y una capa de 300 μ L de aceite mineral testeado para FIV. El medio de maduración depende de una atmósfera de CO_2 para estabilizar su pH, por lo tanto, a los tubos de 5 mL se les inyecta una mezcla de gases con 5 % de CO_2 , 5 % de O_2 balance con nitrógeno, y posteriormente se sellan con un tapón de silicona para mantener la atmósfera de gas (figura 9). En todo momento, el tubo de 5 mL debe permanecer en posición vertical.



Figura 9. Tubo de 5 mL con medio de maduración *in vitro*, aceite mineral testeado para FIV y sellado con un tapón de silicona.
Foto: Mayerli Andrea Murillo Espinosa

¡Importante!

- Los tubos de maduración siempre deben estar en posición vertical, y bajo ningún motivo se deben voltear, agitar ni revolver.
- La cantidad de tubos de maduración para despachar depende del número de vacas donadoras que se someterán al proceso de aspiración folicular.



2. *Medio de lavado*: suministrado en tubos de centrifuga de 15 mL (figura 10), el volumen de medio de lavado varía según el número de donadoras sometidas al procedimiento de aspiración folicular. Se proporcionan aproximadamente 150 μ L de medio de lavado por vaca donadora.



Figura 10. Medio de lavado en tubo de centrifuga de 15 mL.
Foto: David Leonardo Gómez López

El medio de lavado también depende de una atmósfera controlada de CO₂, por lo tanto, se entrega gasificado con la misma mezcla de gas utilizada en los tubos de maduración *in vitro*.

Estos medios de cultivo son despachados en nevera de icopor con varios geles refrigerantes (figura 11), para asegurar una temperatura de 2 a 8 °C.

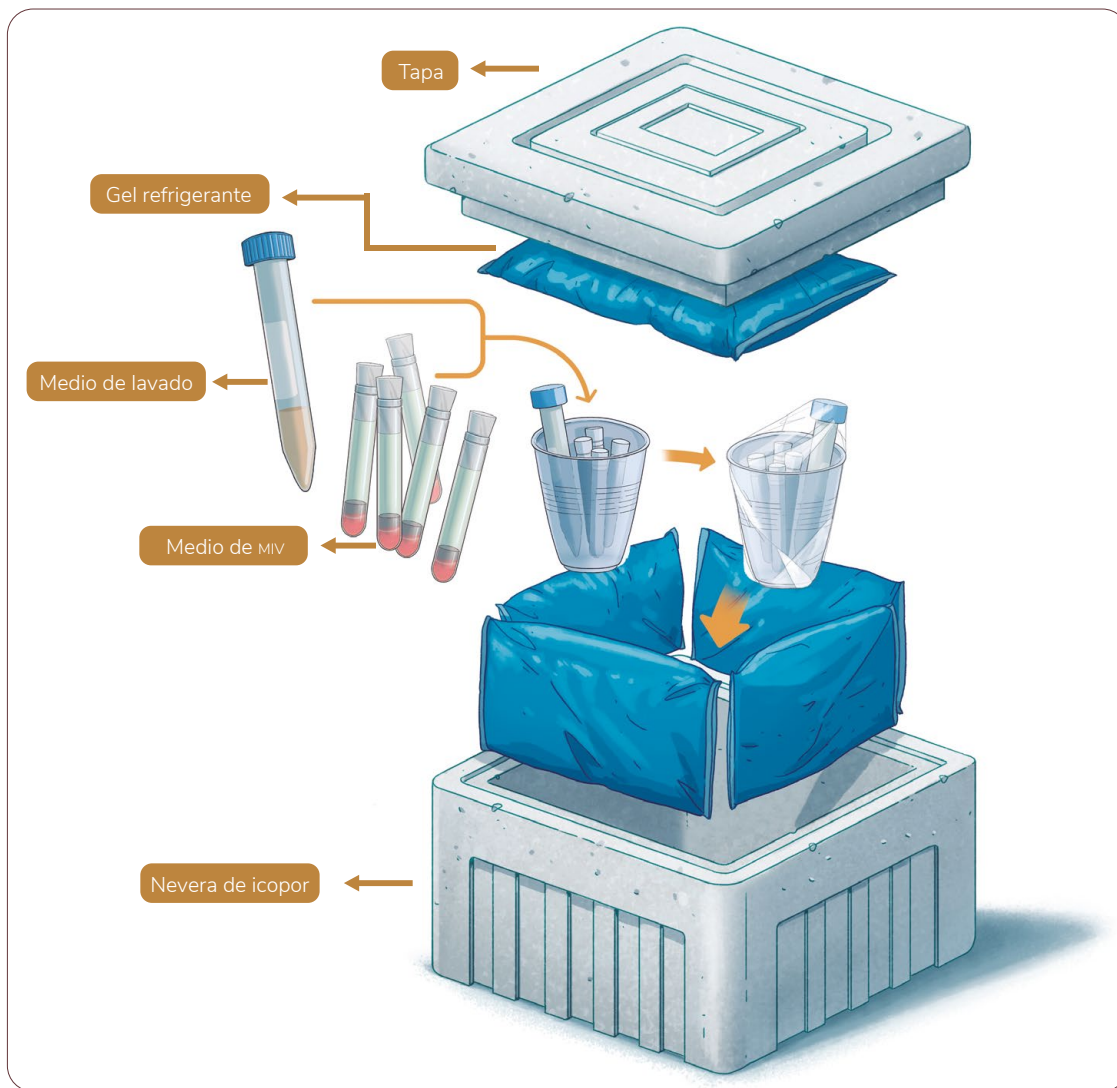


Figura 11. Nevera de icopor con los medios proporcionados por el laboratorio para llevar a cabo el proceso de lavado y maduración *in vitro*.

Fuente: Elaboración propia

¡Importante!

- Se deben solicitar los medios de lavado y maduración con anticipación, con el fin de coordinar logística y calendario del laboratorio.
- Los medios deben ser recogidos en las instalaciones del LRA de AGROSAVIA, en el CI Tibaitatá.



Proceso de aspiración folicular: descripción general

Una vez seleccionada y alistada la vaca donadora, se lleva a cabo el procedimiento de aspiración folicular (OPU), el cual consiste en **recolectar oocitos mediante una guía de aspiración**. Esta guía tiene en su interior una sonda ecográfica y un mandril con aguja unido a una bomba de vacío, la cual aspira el líquido folicular.

El procedimiento de OPU empieza cuando se introduce la guía de aspiración en la donadora hasta el fondo de la vagina (fórnix vaginal) y se enfrenta la sonda ecográfica con el ovario por manipulación rectal. Se localizan y visualizan los folículos, y con ayuda del mandril, se punciona cada folículo de los ovarios con una aguja que succiona por presión negativa (sistema de vacío) el líquido folicular. Este fluido es recolectado en tubos de 50 mL que contienen el medio OPU, el cual ayuda a mantener los oocitos viables para continuar con la búsqueda, selección y clasificación de los oocitos.

¡Importante!

- Es fundamental mantener siempre el tubo de 50 mL con los oocitos protegidos de la luz para no afectar su viabilidad.



8698 / M698 / RP7 / IP4 / FR40
65C15EY1 6.5M

Reps 8,62

- B MODE
- Power
- Focus
- Dyn Rn
- Edge
- Frame
- Scan M
- Post P
- Punctu

Operation prompt information

DP-2200 Vet



Recomendaciones previas para la búsqueda, selección y clasificación (BSC) de los oocitos en campo

Antes de iniciar el proceso de búsqueda, selección y clasificación (BSC) de los oocitos que se van a utilizar en la producción de embriones *in vitro*, es importante **alistar el lugar de trabajo**, dado que el proceso se lleva a cabo en campo, es decir, en fincas o hatos donde la posibilidad de contaminación de las muestras es mayor, lo que puede afectar la viabilidad de los oocitos.

Recuerde

Si se afecta la viabilidad de los oocitos durante el proceso de búsqueda, selección y clasificación (BSC), también se altera la producción final de embriones.



Limpieza y desinfección de manos

La persona responsable de la BSC se debe lavar manos y antebrazos con agua y jabón según protocolo universal, y después aplicar alcohol antiséptico al 70 % y dejar secar (figura 12).



Figura 12. Procedimiento universal para lavado y desinfección de manos.

Fuente: Elaboración propia



La persona encargada de la BSC también debe alistar el lugar de trabajo, tal como se indica a continuación.

Alistamiento del lugar de trabajo para el proceso de búsqueda, selección y clasificación (BSC) de oocitos

El proceso se debe realizar en condiciones ambientales adecuadas y en lo posible controladas, en un sitio sin corrientes de aire, con baja exposición a luz solar o artificial, sin olores fuertes ni desinfectantes (figura 13), de preferencia cerrado, limpio y con un punto eléctrico para conectar los equipos.



Figura 13. Condiciones ambientales controladas para la BSC y gasificación de oocitos bovinos.
Fuente: Elaboración propia



Una vez identificada el área, el mesón de trabajo se debe limpiar y cubrir con papel limpio. Posteriormente, cada uno de los siguientes materiales se limpia con alcohol al 70 %:

- Micropipetas
- Platinas de calentamiento
- Estereomicroscopio, también llamado “lupa”
- Cilindro con gas presurizado

Alistamiento de los medios de cultivo para el proceso de búsqueda, selección y clasificación (BSC) de oocitos

Antes de iniciar el proceso de búsqueda de oocitos, se debe **verificar el color del medio en los tubos de maduración**, ya que este es un indicativo de su pH. Se recomienda usar siempre los tubos que tengan un color rosado claro y descartar los fucsia oscuro.

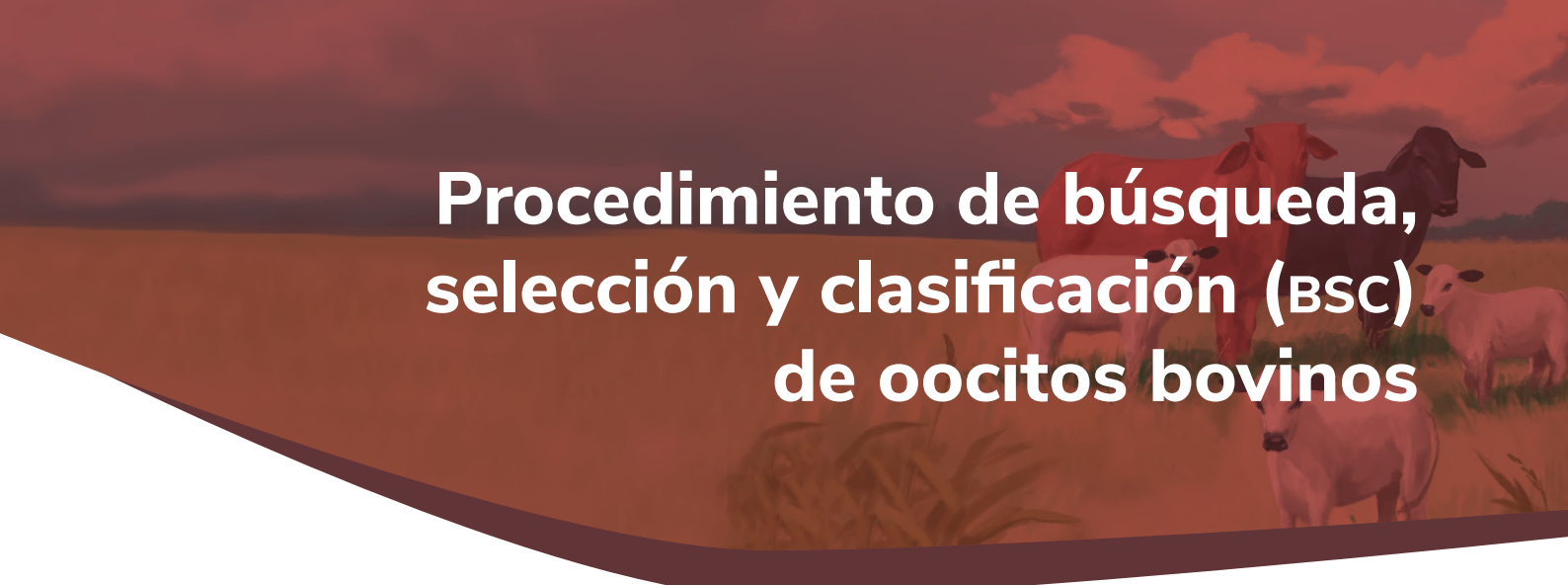
Los **medios de lavado y búsqueda** se precalientan en baño maría, y en el caso particular del medio de maduración, solo se deben precalentar los tubos que se vayan a usar en las siguientes tres horas, e ir calentando más a medida que se utilicen.

¡Importante!

- El medio de lavado debe ser gasificado ocasionalmente para mantener un pH adecuado que apoye la supervivencia y proliferación celular.
- Los materiales plásticos que se vayan a utilizar deben ser nuevos y tener la indicación de “testeados para IVF” (en inglés, *IVF tested*); además, se deben usar puntas estériles y secas.



Procedimiento de búsqueda, selección y clasificación (BSC) de oocitos bovinos



Una vez recibido el tubo de 50 mL con el producto de la aspiración (OPU), se debe filtrar el líquido folicular. Para ello se utiliza un filtro estéril de células de 70 micras y en él se vierte todo el contenido del tubo de 50 mL, con lo cual quedan en el filtro aquellas estructuras mayores de 70 micras. Para aclarar el contenido del filtro, que por lo general es de un color rojizo, se debe usar el medio de aspiración (medio OPU) hasta que el líquido quede claro y de esta forma se puedan observar los oocitos con la luz del estereoscopio.

¡Importante!

Asegurar que todo el contenido del tubo de 50 mL se vierta sobre el filtro de 70 micras para garantizar que no se pierdan oocitos. Para ello, es útil lavar las paredes del tubo con medio de aspiración (medio OPU).

Posteriormente, el contenido del filtro de 70 micras se debe traspasar, con la ayuda de una pipeta plástica estéril de 3 mL, a una placa de Petri de 60 mm con líneas guía en su parte externa. En una caja de Petri adicional se colocan tres gotas de 50 μ L de medio de lavado.

Se procede entonces a realizar la búsqueda según las recomendaciones del apartado “Selección de oocitos bovinos”, y una vez identificados, se traspasan a la primera gota de lavado, cuidando que no queden oocitos de óptima calidad en la placa de Petri. Los oocitos seleccionados de la primera gota deben pasar por las siguientes dos gotas de lavado, con el fin de quitar la mayor cantidad de impurezas y detritos, y evitar una posible contaminación.

¡Importante!

El proceso de búsqueda, selección y clasificación (BSC) debe realizarse en la menor cantidad de tiempo posible, con el fin de evitar cambios de pH y osmolaridad que puedan comprometer el desarrollo de los oocitos.

Finalmente, se realiza la clasificación de los oocitos y se anota en el formato de búsqueda, selección y clasificación. En seguida son transferidos al fondo del tubo de maduración *in vitro*, proceso que se puede verificar a contraluz, con la precaución de no presionar la punta de la pipeta contra las paredes y/o fondo del tubo de maduración. Posteriormente, se gasifica y se cierra el tubo con el tapón de silicona, tal como se muestra en la figura 14.

El proceso de BSC de oocitos se repite tantas veces como sea necesario para cada vaca donadora sometida a aspiración folicular.



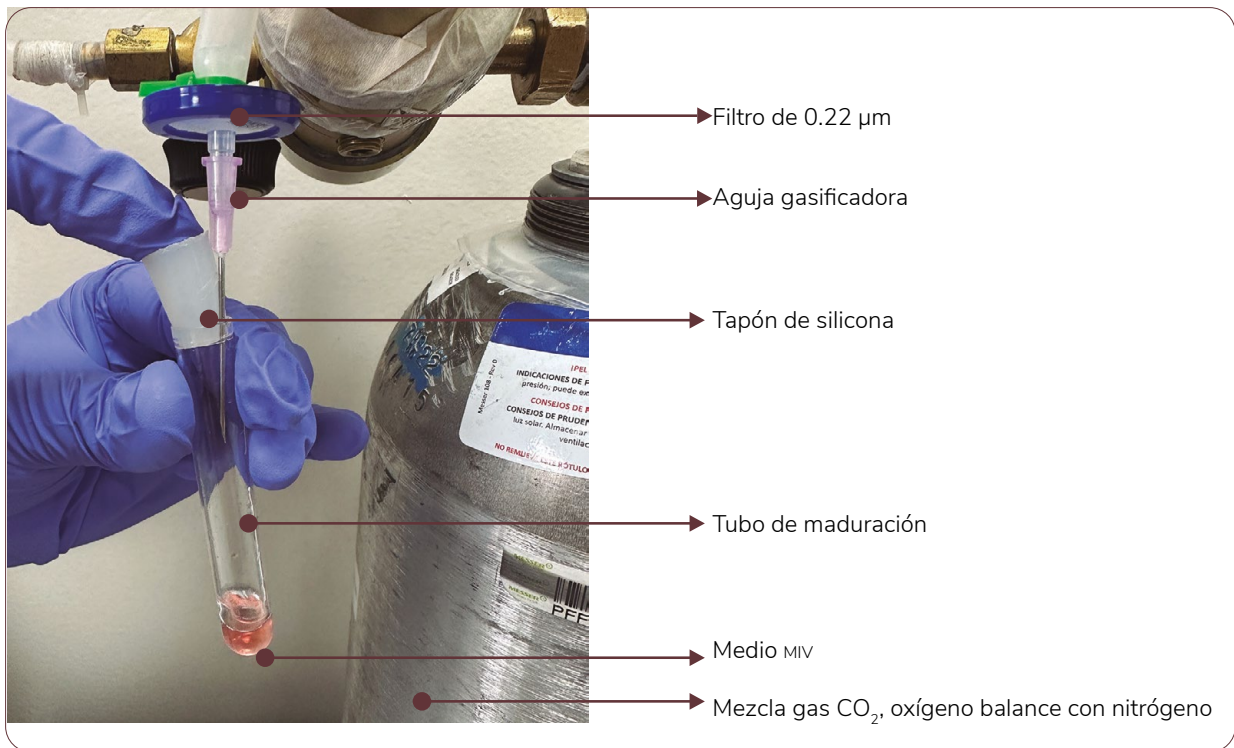


Figura 14. Gasificación *in vitro* del tubo de maduración con la mezcla de gas (5 % CO₂, 5 % O₂, balance con nitrógeno).

Foto: David Leonardo Gómez López

El tubo de maduración *in vitro* contiene los oocitos y el medio de maduración. Cada gasificación con la mezcla de gas debe durar de 10 a 20 segundos. Una vez gasificado el tubo, se debe cerrar con rapidez con un tapón de silicona para evitar la salida del gas introducido.

¡Importante!

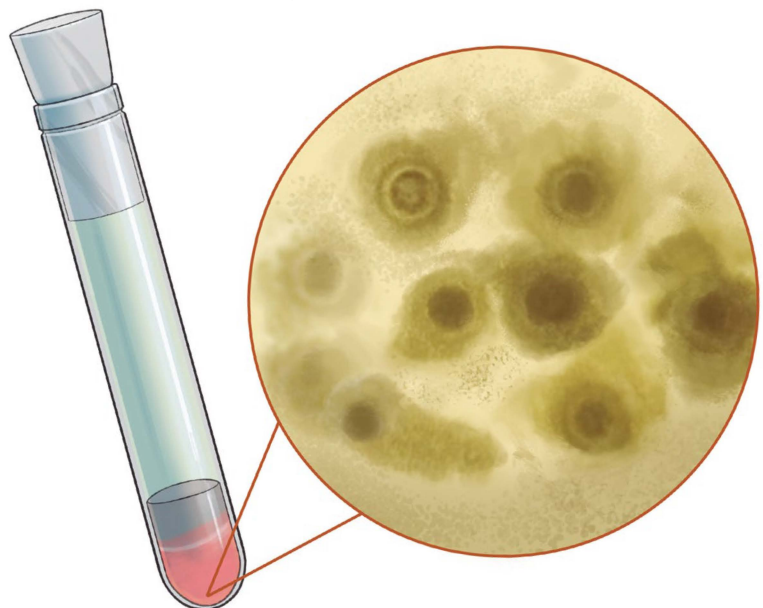
- Los tubos de maduración *in vitro* que contienen los oocitos deben marcarse individualmente con un número consecutivo de aspiración y el número de identificación de la vaca donadora.
- Se deben colocar máximo 50 oocitos por tubo de maduración *in vitro*; en caso de tener más oocitos de la misma donadora, se utiliza un nuevo tubo.



Registro de la información

Toda la información de las muestras de oocitos colectadas referente a recepción, entrega de resultados y disposición final se diligencia en los diferentes **formatos del sistema de gestión de calidad** de AGROSAVIA, los cuales hacen parte del protocolo de producción de embriones *in vitro* (figura 15).

En el **formato de aspiración folicular y selección de oocitos bovinos** se debe indicar la siguiente información: sitio en donde se realizó el procedimiento; responsables de la aspiración en campo y del proceso de búsqueda, selección y clasificación de oocitos (BSC); fecha y hora de aspiración de cada donadora, cruzamiento o programación (identificación del material seminal del toro con el cual se hará el proceso de fertilización *in vitro*).



ASPIRACIÓN FOLICULAR Y SELECCIÓN OOCITOS BOVINOS												
Fecha		Finca y propietario				N°. donadoras:				N°. receptoras:		
aaaa/mm/dd						Hora inicio OPU:				Hora final OPU:		
Medio de aspiración utilizado:					Lote medio:				Lote heparina:		Temperatura Trabajo:	
Equipo de trabajo Buscador - Aspirador					-			Tubos de MIV preparados por				
N.º	Hora MIV	Identificación donantes		Clasificación de oocitos						N.º tubo	Posible toro	
		Identificación	Raza	G-I	G-II	G-III	G-IV	Total	MIV			
1												
2												
3												
4												
5												
6												
7												
8												
9												
10												
11												
12												
13												
14												
15												
16												
17												
18												
19												
20												
MIV: Maduración <i>in vitro</i>		G-I: <i>Cúmulo</i> compacto		G-II: <i>Cúmulo</i> compacto		G-III: <i>Cúmulo</i> irregular		G-IV: Oocitos desnudos, degenerados o expandidos.				
Observaciones				Firma del aspirador o jefe de campo				Firma del responsable de la finca				

Figura 15. Formato de aspiración folicular y selección de oocitos bovinos del Laboratorio de Reproducción Animal de AGROSAVIA.
Fuente: Elaboración propia

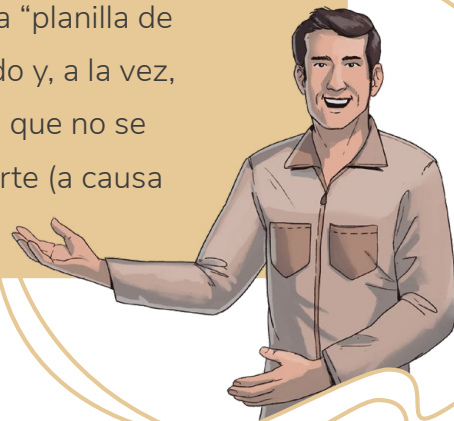


De igual forma, cuando la aspiración folicular sea realizada por técnicos o profesionales veterinarios externos a la Corporación, se puede hacer llegar al laboratorio con una “**planilla de aspiración**”, usada para registrar el proceso en campo. Esta planilla homologa el formato de aspiración y selección de oocitos bovinos (figura 15) y debe contener como mínimo la siguiente información:

- Identificación de las donadoras
- Raza de las donadoras
- Hora de aspiración y/o maduración *in vitro* por cada donadora
- Número de oocitos viables madurados *in vitro*
- Raza y número de la pajilla de semen del toro para el cruzamiento (fertilización *in vitro*)

Una vez terminado el proceso, se envía al laboratorio una foto digital del formato de aspiración folicular y selección de oocitos bovinos o en su defecto la “planilla de aspiración”. El original del formato o la planilla se remite junto con los oocitos para su registro y archivo.

Enviar al laboratorio el formato de aspiración folicular (o la “planilla de aspiración”) diligenciado y, a la vez, protegido, de tal forma que no se deteriore en el transporte (a causa del agua, por ejemplo).



Embalaje y transporte de las muestras de oocitos

Es necesario asegurar la conservación de las muestras de oocitos durante su almacenamiento y transporte, de modo que se preserve su integridad, se garantice la estabilidad de las propiedades biológicas y se controlen los riesgos por contaminación. Para ello se deben tener en cuenta las siguientes indicaciones:

El envío de oocitos se debe programar con el personal del LRA del CI Tibaitatá de AGROSAVIA, el cual realizará el proceso de producción *in vitro* de embriones. El material biológico (oocitos) debe llegar a las instalaciones del LRA dentro de las 24 horas siguientes al inicio de la aspiración folicular de la primera vaca donadora.

No enviar este tipo de muestras biológicas por empresas de mensajería convencionales, dado que estas no garantizan que lleguen al laboratorio en el tiempo requerido. Para este caso en particular, se recomienda el envío por una mensajería especializada con experiencia en envío y recepción de material biológico.



Embalaje de los oocitos para el transporte

Existen dos opciones para enviar las muestras al laboratorio, y su elección depende de la disponibilidad de equipos y materiales, y del medio de transporte.

Una opción es un equipo transportador de oocitos (figura 16), el cual ajusta la temperatura a 38,5 °C de forma automática y la mantiene por un largo periodo.

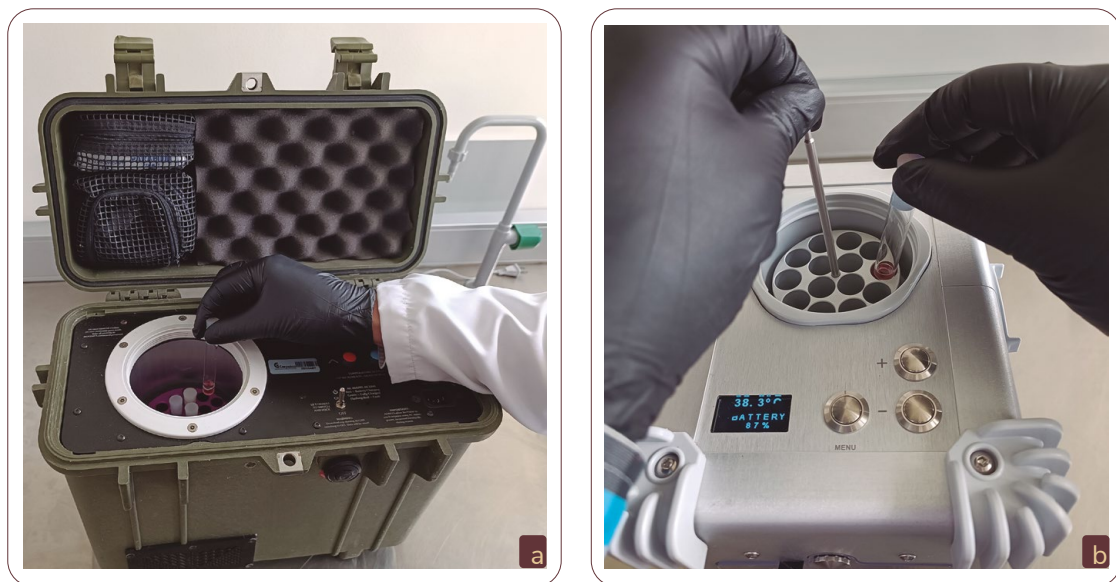


Figura 16. Equipos especializados para el transporte de oocitos.
Fuente: David Leonardo Gómez López

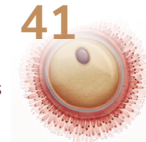
Todos los tubos de maduración con los oocitos se ubican cuidadosamente dentro de los orificios de la cámara interna de la transportadora, de modo que permanezcan siempre en posición vertical. Al finalizar la jornada de aspiración, se cierra el equipo con sus respectivos seguros y así estará listo para el transporte de las muestras hasta el laboratorio. Sus ventajas y desventajas se listan en la tabla 3.

Tabla 3. Ventajas y desventajas de la transportadora especial para el envío de oocitos bovinos al laboratorio

Ventajas	Desventajas
Equipo especializado para el transporte de material biológico.	Debe ser transportado en todo momento por una persona.
Mejor control de la temperatura.	Es difícil el transporte aéreo ya que tiene baterías.
Monitoreo constante de la temperatura.	No se puede enviar en la bodega de un bus o avión.
Algunos equipos tienen un <i>software</i> que permite hacer seguimiento de la temperatura.	Se debe transportar dentro de la cabina del avión, y muchas veces esto se dificulta por reglamentos de transporte aéreo.
Resistente a golpes.	Debe estar cargada la batería para garantizar el funcionamiento del equipo.
Facilidad en el transporte de los oocitos.	Puede fallar el sistema eléctrico o electrónico.
Fácil de cargar por una persona.	Se puede voltear el equipo fácilmente.
Puede ir conectado al tomacorriente de un automóvil.	Es un equipo de alto costo.
Ocupa un espacio moderado.	Preocupación de robo debido al alto costo del equipo
Los tubos de maduración <i>in vitro</i> tienen menor probabilidad de agitarse o revolcarse.	Las personas encargadas de la seguridad del aeropuerto pueden solicitar apagar el equipo.

Fuente: Elaboración propia

- El tubo de maduración siempre debe estar en posición vertical para evitar que los oocitos se adhieran a las paredes o a la tapa del tubo.
- Impedir la exposición de los tubos de maduración a la luz artificial o natural, debido a la fotosensibilidad de los oocitos.
- Asegurarse siempre de que la transportadora de oocitos tenga las baterías cargadas, para garantizar que la temperatura se mantenga durante el transporte.



El embalaje alternativo para el envío de oocitos se basa en un termo de acero inoxidable con pared de aluminio en su interior (figura 17). Lo ideal es testearlo por varias horas con agua a 38.5 °C para verificar la temperatura.



Figura 17. Ejemplo de un termo especial para el transporte de muestras biológicas.

Foto: David Leonardo Gómez López



- No usar termos que anteriormente se hayan llenado con nitrógeno líquido para el transporte de material biológico (por ejemplo, con pajillas de semen).
- Para el transporte de oocitos, no se recomiendan termos de plástico y/o que tengan pared de vidrio en su interior, porque se pueden romper y además pierden el sistema hermético que ayuda a mantener la temperatura.



Los tubos de maduración con los oocitos se deben colocar en grupos dentro de una bolsa plástica limpia, posteriormente se absorbe el aire de las bolsas para generar un vacío interno, y finalmente se sella la bolsa con un nudo para impedir la entrada de aire. El grupo de tubos de maduración se ubica dentro del termo de acero inoxidable, denominado “recipiente primario”, el cual siempre debe estar en posición vertical, contener agua a 38,5 °C, y aislarse con un cartón y un aislante térmico.

Este recipiente primario debe ir dentro de un contenedor secundario que sea impermeable y a la vez resistente (por ejemplo, nevera de icopor de 10 o 15 L), el cual se llena con bolsas de agua a 45 °C (por ejemplo, mangas de palpar) de forma que rodeen al recipiente primario, y posteriormente se cierra con su respectiva tapa. Por lo general, la tapa del recipiente secundario no cierra debido a la altura del termo de acero inoxidable, y en tal caso se abre un agujero pequeño en medio de la tapa para que sirva como soporte del termo y evite que se gire o voltee.

A continuación, se envuelve el recipiente secundario con vinipel, con el fin de evitar la entrada y salida de aire. Este recipiente secundario a su vez debe ir dentro de un contenedor terciario (por ejemplo, caja plástica de seguridad), de material resistente, adecuado para proteger el contenido de daños físicos durante su transporte, y que se pueda cerrar con candado, amarres de plástico o zunchos (figura 18), con lo cual el embalaje alternativo queda listo para el transporte de las muestras hasta el laboratorio. Sus ventajas y desventajas se indican en la tabla 4.

¡Importante!

- El tubo de maduración siempre debe estar en posición vertical para evitar que los oocitos se adhieran a las paredes o la tapa del tubo.
- Impedir la exposición de los tubos de maduración a la luz artificial o natural, debido a la fotosensibilidad de los oocitos.

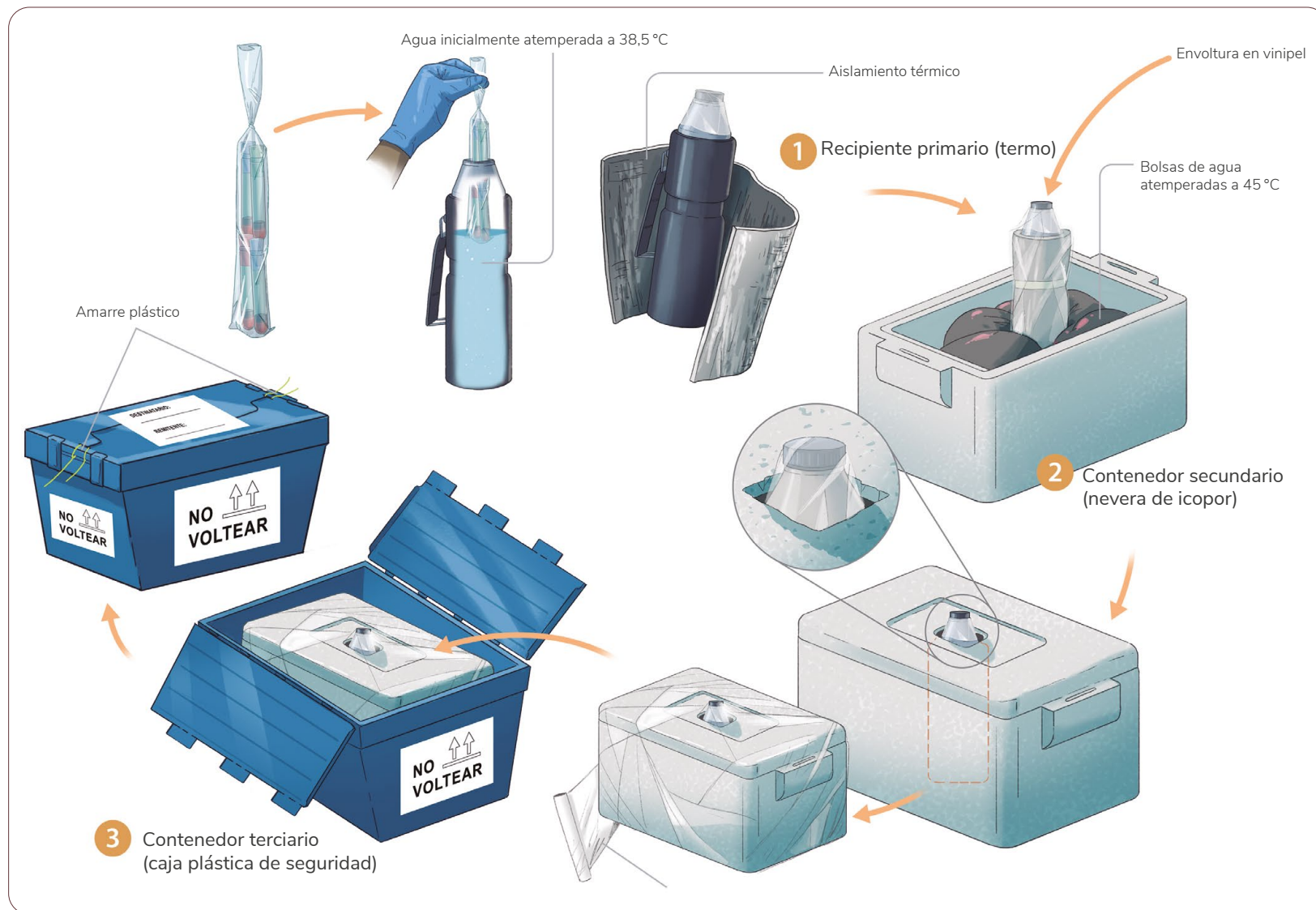
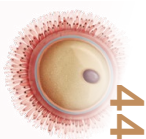


Figura 18. Representación de embalaje alternativo para el transporte de oocitos.

Fuente: Elaboración propia

Como se observa en la figura 18, este tipo de embalaje involucra: 1) recipiente primario (termo de acero inoxidable con aislante térmico) con oocitos y agua a 38,5 °C; 2) contenedor secundario (nevera de icopor), relleno con bolsas de agua a 45 °C, y 3) contenedor terciario (caja plástica de seguridad) de material resistente, adecuado para proteger el contenido de daños físicos durante el transporte.

Tabla 4. Ventajas y desventajas del embalaje alternativo para el envío de oocitos bovinos al laboratorio

Ventajas	Desventajas
No tiene baterías, por lo tanto, no se necesita cargar.	No hay forma de controlar o monitorear la temperatura del recipiente primario una vez embalado.
Resistente a golpes.	Su preparación es compleja.
Menor costo en comparación con un equipo especializado en el transporte de muestras.	Por sus dimensiones, ocupa bastante espacio.
Menor probabilidad de hurto o robo.	Muy pesado e incómodo para una persona.
Puede ir en la bodega de un bus o avión.	No se recomienda transportar en motocicletas por su peso y dimensiones y porque las muestras se pueden voltear o agitar fácilmente.
Tiene menor posibilidad de voltearse.	Los tubos de maduración <i>in vitro</i> tienen mayor probabilidad de agitarse o revolcarse.

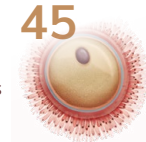
Fuente: Elaboración propia

El equipo transportador de oocitos (figura 16) o el contenedor terciario (figura 18) deben contar con los siguientes rótulos:

DELICADO, NO VOLTEAR, PRECAUCIÓN

Asegurar **bien** la posición del contenedor primario, de forma que no se voltee dentro del secundario.

Si el envío se va a realizar por vía aérea, se debe tener en cuenta la logística del aeropuerto según su ubicación para entregar la carga. Por ejemplo, en aeropuertos principales se recomienda dejar la carga con más de cuatro horas antes del vuelo, y en ellos también se debe tener en cuenta que la liberación de la carga demora aproximadamente dos horas.



Si se tomaron las debidas precauciones y se siguieron a cabalidad todas las recomendaciones explicadas antes, el embalaje se rotula e identifica, y se acompaña de los documentos de envío pertinentes que solicite la empresa transportadora.



En “destino” se escribe la dirección del Laboratorio de Reproducción Animal (figura 19), Centro de Investigación Tibaitatá, AGROSAVIA, km 14 vía Bogotá-Mosquera, Cundinamarca, como se observa en la figura 20.



Figura 19. Panorámica del Laboratorio de Reproducción Animal, ubicado en las instalaciones del Centro de Investigación Tibaitatá, AGROSAVIA, municipio de Mosquera, Cundinamarca.
Foto: Rodrigo Rolando Rocha Sanabria



DESTINO

Centro de Investigación Tibaitatá, AGROSAVIA
 Km 14 vía Bogotá - Mosquera, Cundinamarca
 Laboratorio de Reproducción Animal de AGROSAVIA
 Teléfono: 4227300 exts. 1485 - 1486

REMITENTE

Nombre: _____

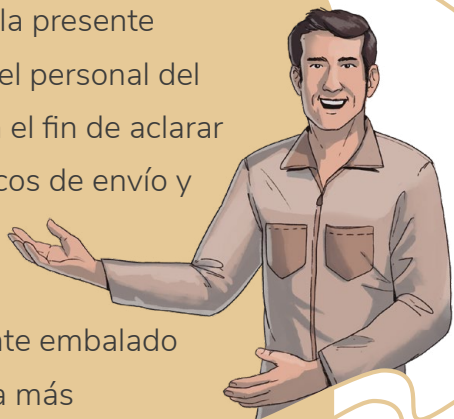
Identificación: _____

Teléfono: _____

Figura 20. Formato o rótulo para el envío de las muestras de material seminal.
 Fuente: Elaboración propia

Las recomendaciones que se detallan en la presente cartilla deben repasarse en conjunto con el personal del Laboratorio de Reproducción Animal, con el fin de aclarar dudas, y confirmar fechas y temas logísticos de envío y recepción de muestras en el laboratorio.

Una vez se tenga el material correctamente embalado y listo, el envío se debe realizar por la ruta más directa y/o rápida al Laboratorio de Reproducción Animal del CI Tibaitatá de AGROSAVIA.





AGROSAVIA

Thermo
AIR TIPS
Based and Manufactured in the USA

Sample	Volume	Concentration	Notes
1	100 µl	10 ⁶ CFU/ml	
2	100 µl	10 ⁵ CFU/ml	
3	100 µl	10 ⁴ CFU/ml	
4	100 µl	10 ³ CFU/ml	
5	100 µl	10 ² CFU/ml	
6	100 µl	10 ¹ CFU/ml	
7	100 µl	10 ⁰ CFU/ml	

Pajillas de semen criopreservado para el proceso de fertilización *in vitro*

Las pajillas de semen criopreservadas de los toros con los que se programe la fertilización *in vitro* (FIV) de los oocitos deben llegar al laboratorio mínimo siete días calendario antes de la FIV, y se utilizan aproximadamente a razón de una pajilla por cada cinco donadoras sometidas al proceso de aspiración folicular.

- Remitir una pajilla adicional de respaldo por cada toro.
- La cantidad de pajillas de semen criopreservadas para utilizar durante la fertilización *in vitro* dependerá de la calidad del semen y la cantidad de oocitos viables por vaca donadora.
- Durante la fertilización *in vitro*, se recomienda usar completa la pajilla de semen criopreservada, y no dividirla o partirla.



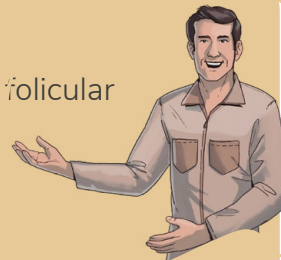


Criterios de aceptación del material recibido en el Laboratorio de Reproducción Animal (LRA)

El transporte de las muestras de oocitos debe llevarse a cabo con el suficiente cuidado para evitar derrames, pérdidas o contaminación por otras sustancias, así como alteraciones debidas a acciones mecánicas, calentamiento excesivo o exposición a luz intensa.

Las muestras de oocitos recibidas en el LRA son revisadas según las condiciones de llegada, y de acuerdo con los siguientes criterios:

- Temperatura de llegada al LRA mínima de 36 °C.
- Temperatura de llegada al LRA máxima de 38,5 °C.
- Deben llegar máximo 24 horas después de iniciada la aspiración folicular de la primera vaca donadora.
- Deben llegar embaladas adecuadamente.
- Deben llegar sin evidencia de contaminación
- Los tubos de maduración tienen que estar sellados con las tapas de silicona y siempre en posición vertical.
- Cada tubo de maduración debe estar debidamente marcado con el número consecutivo de la aspiración y la identificación de la vaca donadora.
- Si se usa transportadora de oocitos, el equipo debe llegar encendido y con la temperatura adecuada.
- Los tubos de maduración *in vitro* deben llegar sin evidencia de agitación o volcamiento.
- Con anterioridad, el usuario debe enviar al laboratorio las pajillas de semen criopreservadas, para realizar el cruzamiento (FIV).







Conclusiones

La presente cartilla proporciona contenido teórico y práctico ilustrado sobre el procedimiento de búsqueda, selección y clasificación (BSC) de oocitos bovinos, y su posterior transporte, para hacer más eficiente el proceso de producción *in vitro* de embriones bovinos. Esta información no solo ayuda a quienes se desempeñan en el área de la aspiración folicular y la búsqueda de oocitos bovinos, sino también a los productores ganaderos, para que tengan una mayor comprensión de estos procesos y obtengan mejores resultados.

Para que el proceso de producción *in vitro* de embriones sea exitoso y al final se cuente con una cría nacida viva y sana, se debe prestar atención a todas las etapas del proceso: la sincronización de los animales receptores, el protocolo hormonal, el seguimiento a las donadoras, la vigilancia del proceso de recolección de oocitos, el embalaje y envío del material al laboratorio, la selección y preparación del material seminal con el cual se realizará el cruzamiento, la logística de todo el proceso y, lo más importante, el estatus sanitario. Además, fomentamos una comunicación abierta y continua entre los usuarios y el Laboratorio de Reproducción Animal de AGROSAVIA, siempre dispuestos a solventar inquietudes y brindar apoyo constante.



Agradecimientos

A herd of cows, including several calves and two adult cows (one red, one black), standing in a field under a sunset sky. The scene is rendered in a warm, reddish-orange color palette.

La presente publicación se elaboró como parte del proyecto “Vinculación de oferta tecnológica en ganaderías de pequeños y medianos productores a través de la transferencia de embriones *in vitro* producidos a partir de parentales seleccionados” (ID 1002365), desarrollado por la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria - AGROSAVIA y financiado por el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (MADR).





Referencias



- Alves, D. F., Rauber, L. P., Rubin, F. B., Bernardi, M. L., Dezen, D., Mondino Silva, C. A., & Batistella Rubin, M. I. (2003). Desenvolvimento embrionário *in vitro* de oócitos bovinos mantidos em líquido folicular ou TCM-hepes. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 40(4), 279-286. <https://doi.org/10.1590/S1413-95962003000400007>
- Barceló-Fimbres, M., Campos-Chillón, L. F., Mtango, N. R., Altermatt, J., Bonilla, L., Koppang, R., & Verstegen, J. P. (2015). Improving *in vitro* maturation and pregnancy outcome in cattle using a novel oocyte shipping and maturation system not requiring a CO₂ gas phase. *Theriogenology*, 84(1), 109-117. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.02.020>
- Campos-Chillón, F., Owen, C. M., & Altermatt, J. L. (2019). Equine and bovine oocyte maturation in a novel medium without CO₂ gas phase. *Journal of Equine Veterinary Science*, 73, 51-55. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2018.11.010>
- Chaubal, S. A., Molina, J. A., Ohlrichs, C. L., Ferre, L. B., Faber, D. C., Bols, P. E. J., Riesen, J. W., Tian, X., & Yang, X. (2006). Comparison of different transvaginal ovum pick-up protocols to optimise oocyte retrieval and embryo production over a 10-week period in cows. *Theriogenology*, 65(8), 1631-1648. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.07.020>
- De Loos, F., Van Vliet, C., Van Maurik, P., & Kruij, T. A. M. (1989). Morphology of immature bovine oocytes. *Gamete Research*, 24(2), 197-204. <https://doi.org/10.1002/mrd.1120240207>

- Ferré, L. B., Kjelland, M. E., Strøbech, L. B., Hyttel, P., Mermillod, P., & Ross, P. J. (2019). Review: Recent advances in bovine *in vitro* embryo production: Reproductive biotechnology history and methods. *Animal*, 14(5), 1-14. <https://doi.org/10.1017/S1751731119002775>
- Hasler, J. F. (2007). Embryo transfer and *in vitro* fertilization. In H. Schatten & G. M. Constantinescu (eds.), *Comparative reproductive biology* (pp. 171-211). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1002/9780470390290>
- Hasler, J. F., & Barfield, J. P. (2015). *In vitro* fertilization. In R. M. Hopper (Ed.), *Bovine reproduction* (pp. 758-770). Wiley & Sons. <https://doi.org/10.1002/9781118833971.ch81>
- Lonergan, P., & Fair, T. (2016). Maturation of oocytes *in vitro*. *Annual Review of Animal Biosciences*, 4(1), 255-268. <https://doi.org/10.1146/annurev-animal-022114-110822>
- Palma, G. A., Argañaraz, M. E., Barrera, A. D., Rodler, D., Mutto, A. Á., & Sinowatz, F. (2012). Biology and biotechnology of follicle development. *The Scientific World Journal*, 2012, Article 938138. <https://doi.org/10.1100/2012/938138>
- Reis Silva, R., Aloísio Scalla Vulcani, V., Sousa Camargos, A., Rabelo da Costa, U., Monteiro Dutra, M., & Renato Chiari, J. (2017). Produção *in vitro* de embriões bovinos: estado da arte. *Colloquium Agrariae*, 13(Especial 2), 402-415. <https://doi.org/10.5747/ca.2017.v13.nesp.000244>
- Sirard, M.-A. (2017). The influence of *in vitro* fertilization and embryo culture on the embryo epigenetic constituents and the possible consequences in the bovine model. *Journal of Developmental Origins of Health and Disease*, 8(4), 411-417. <https://doi.org/10.1017/S2040174417000125>
- Vojislav, P., & Jelena, A. (2003). *In vitro* production of bovine embryos. *Veterinarski Glasnik*, 57(3-4), 257-264. <https://doi.org/10.2298/VETGL0304257P>





Terminó de diseñarse
en agosto de 2023. Bogotá, D. C., Colombia

El nacimiento de un ternero sano, a partir de un embrión implantado en una vaca receptora y que ha sido producido en condiciones de laboratorio, es el resultado de un complejo y coordinado proceso que involucra el trabajo colaborativo entre productores, profesionales de campo y de laboratorio.

Durante la formación del embrión, el oocito no solo aporta la mitad del material genético, sino que también crea un entorno esencial para el éxito del desarrollo embrionario. Por lo tanto, las características de los oocitos seleccionados y el manejo que se le dé a los mismos, son factores que influyen directamente en la calidad de los embriones obtenidos en el laboratorio.

La finalidad de esta cartilla es proporcionar una guía detallada con ilustraciones y recomendaciones prácticas que resaltan puntos importantes del proceso de búsqueda, selección, clasificación, embalaje y envío de los oocitos al laboratorio para realizar la producción *in vitro* de embriones bovinos.



correo: bac@agrosavia.co
teléfono: (57 1) 422 73 00 ext. 1257 o 1274
skype: [biblioteca.agropecuaria](https://www.skype.com/name/biblioteca.agropecuaria)

Distribución gratuita
Prohibida su venta

AGROSAVIA

Corporación colombiana de investigación agropecuaria

Centro de Investigación Tibaitatá.
Km 14 vía Mosquera-Bogotá, Cundinamarca.
Código postal 250047, Colombia.

Línea de atención al cliente: 018000121515
atencionalcliente@agrosavia.co
www.agrosavia.co