

“Determinación de la viabilidad de ovocitos bovinos obtenidos post mortem a varios periodos de tiempo en el Camal Municipal de Tulcán”

Diana Karolina Sierra Bolaños
Escuela de Desarrollo Integral Agropecuario (EDIA)
Universidad Politécnica Estatal del Carchi (UPEC)
Nuevo Campus, Av. Universitaria y Antisana
Tulcán-Ecuador
dkarol_1@hotmail.com

Resumen.

Para determinar el porcentaje de viabilidad de ovocitos bovinos recolectados post mortem en el Camal Municipal de Tulcán a periodos de tiempo 1, 3, 5, 7 y 9 horas después del sacrificio de la hembra bovina. Se utilizaron (200) doscientos ovarios, los cuales fueron divididos en grupos de 40 por tratamiento y transportados al laboratorio en solución salina al 0,9% y a 38° C inmediatamente después de su recolección, enseguida fueron mantenidos a esa misma temperatura a baño maría, y se dejó transcurrir el tiempo especificado para cada tratamiento, para luego extraer los ovocitos mediante la técnica de “Slicing”. Se realizó el conteo total de ovocitos por ovario y el conteo de ovocitos viables y no viables, para determinar el porcentaje de viabilidad. Para realizar el análisis de los datos, se usó estadística descriptiva, determinando medidas de tendencia central, análisis de regresión lineal, análisis de varianza y prueba de tukey.

La cantidad total de ovocitos viables fue de 2018, obteniendo un promedio de 10,09 ovocitos/ovario. Se observó una influencia negativa del tiempo en el porcentaje de viabilidad de los ovocitos donde el mayor porcentaje de ovocitos viables se obtuvo a 1 y 3 horas post mortem, con un valor de 68,7 % y 62,81 % de viabilidad, siendo los mejores momentos estadísticamente, sin embargo, se pudo obtener ovocitos viables aún transcurridas 9 horas después del sacrificio del animal manteniendo los ovarios a 38°C con un porcentaje de viabilidad de 51,51%, que se considera alto.

Palabras claves: Ovarios, ovocitos, porcentaje de viabilidad, tiempo de viabilidad.

ABSTRACT.

To determine the percentage of viability of bovine oocytes collected post mortem at the Municipal Slaughterhouse of Tulcán at time periods 1, 3, 5, 7 and 9 hours post slaughter of female cattle, two hundred ovaries, which were divided into 40 treatment groups and transported to the laboratory in 0.9% of saline solution and 38°C immediately after collection were used, then were kept at the same temperature in a water bath and was allowed to elapse specified for each treatment, and then extract the oocytes by time Slicing technique. The total count of oocytes per ovary and counting of viable and non-viable oocytes were used to determine percent of viability. For data analysis, descriptive statistics were used, determining measures of central tendency, linear regression analysis, analysis of variance and Tukey test.

The total number of viable oocytes was 2018, giving an average of 10.09 oocytes / ovary. The highest percentage of viable oocytes are obtained at 1 and 3 hours post slaughter, with a value of 68,7% and 62,81% of viability respectively, these were statistically the best times, but also viable oocytes could obtain yet elapsed nine hours post slaughter keeping ovaries at 38°C with a percentage viability of 51.51%.

Keywords: Ovaries, oocytes, percentage of viability, feasibility period.

1.-INTRODUCCION

La biotecnología de la reproducción incluye a las técnicas, desde la inseminación artificial (IA) hasta la clonación, o al conjunto de ellas, las que permiten aumentar la eficiencia reproductiva de los animales (Palma, 2001). Además, representa un desenvolvimiento socio económico para aquellos que se dedican a la actividad pecuaria y contribuye también en el aumento de alimentos de calidad para la población (Collantes, 2011).

Los ovarios contienen un elevado número de folículos que se encuentran en diferentes estados de desarrollo (primordiales, en crecimiento, atrésicos), de los cuales solamente una pequeña proporción va a ser utilizada durante la vida reproductiva del animal. La recolección de ovocitos permite recuperar y aprovechar folículos no ovulatorios, que bajo condiciones fisiológicas se tornarían en folículos atrésicos (Velarde, 2005).

Salgado, Simanca, & Vergara, (2013) afirman que el desarrollo embrionario invitro, depende de la competencia del ovocito, la cual involucra cambios morfológicos, estructurales, transcripcionales del citoplasma y compartimiento nuclear de los ovocitos. Siendo un punto crítico de estudio la obtención de la mayor cantidad posible de ovocitos viables que permitan un óptimo desenvolvimiento de las demás etapas para el desarrollo invitro del embrión.

Esta investigación se pretende demostrar la posibilidad de obtener ovocitos bovinos viables después de la pérdida del animal recuperando parte de su material genético, que caso contrario serían desaprovechados tras su muerte.

2. RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN

2.1. Información bibliográfica.

En esta investigación se realizó una recolección de información necesaria referente al tema tratado a través de libros, artículos científicos, páginas web e investigaciones ya realizadas y observación de campo.

2.2. Información procedimental.

Las variables en estudio se analizaron mediante análisis estadístico y análisis de regresión lineal en Infostat Versión Libre, en el cual los resultados permitieron comprobar las hipótesis planteadas.

2.3. Localización del experimento

La investigación se desarrolló en el Camal Municipal de Tulcán y en los laboratorios de la Universidad Politécnica Estatal del Carchi, ubicados en la parroquia de Tulcán, cantón Tulcán, provincia del Carchi

2.4. Variables en estudio.

En la presente investigación “Determinación de la viabilidad de ovocitos bovinos obtenidos post

mortem a varios periodos de tiempo en el Camal Municipal De Tulcán”, las variables en estudio fueron; cantidad de ovocitos obtenidos y porcentajes de viabilidad.

2.4.1. Factores en estudio

El Factor en estudio es el tiempo post mortem de recolección de ovocitos cuyos niveles son los momentos de recolección como se presenta en la tabla:

Tabla 3: Descripción de los factores en estudio.

Tiempo transcurrido post mortem	Ovarios Nº
1 hora	40
3 horas	40
5 horas	40
7 horas	40
9 horas	40

Elaborado por: Sierra, K. (2014)

2.5. Análisis Estadístico

En esta investigación se realizó un análisis estadístico que consta de: medidas de tendencia central, análisis de regresión, análisis de varianza y prueba de Tukey para comparar los momentos de recolección.

2.6. Características de la muestra

Cada muestra estuvo constituida por un ovario de una hembra bovina sin tomar en cuenta su edad y estado fisiológico, los ovarios fueron obtenidos en el camal, fueron lavados, y colocados en una solución salina al 0.9% a una temperatura de 38°C.

2.7. Recolección de las muestras

La recolección de las muestras se realizó en el Camal municipal de Tulcán, las cuales fueron llevadas al laboratorio de la Universidad Politécnica Estatal del Carchi para su observación.

2.8. Variables a evaluarse.

Las principales variables a evaluarse dentro de esta investigación fueron:

- Ovocitos obtenidos.
- Viabilidad (%) de los ovocitos obtenidos.

2.8.1. Cantidad de ovocitos obtenidos

La cantidad de ovocitos obtenida en cada ovario se determinó con la ayuda de un microscopio óptico, en donde se observó con el lente (40x), se realizó el conteo y registro.

Al completar el número total de muestras se sumó la cantidad de ovocitos obtenidos a las 1, 3, 5, 7 y 9 horas post mortem.

2.8.2. Porcentaje de viabilidad de ovocitos

Mediante observación directa a través de un microscopio óptico se realizó el conteo de los ovocitos obtenidos por ovario (ovocitos viables y no viables) y se determinó el porcentaje de viabilidad multiplicando el número de ovocitos viables por cien y dividiendo para el total de ovocitos obtenidos.

2.9. Materiales

2.9.1. Materiales de campo

- Guantes quirúrgicos
- Overol
- Botas
- Bisturí
- Etiquetas
- Termos
- Hojas de registro

2.9.2. Materiales experimentales

- Ovarios
- Termo
- Tarrinas térmicas
- Bisturís

- Pinzas
- Guantes quirúrgicos
- Bolígrafo
- Hojas de registro

2.9.3. Equipos

- Microscopio
- Balanza de 300g de capacidad.
- Probeta de 1000 ml
- Termómetro
- Vidrio reloj
- Vaso de precipitación
- Baño María
- Flash Memori
- Calculadora
- Cámara fotográfica
- Computadora
- Impresora

2.9.4. Reactivos e insumos

- Solución salina
- Alcohol

2.10. Procedimiento

Obtención de ovarios: Antes de realizar el experimento, se adquirió todos los materiales y equipos necesarios para el desarrollo de la presente investigación. Durante 3 meses los ovarios se extrajeron de hembras bovinas en diferentes edades y estados fisiológicos sacrificadas en el Camal Municipal de Tulcán, ubicada en la Parroquia de Tulcán, cantón Tulcán, provincia del Carchi.

Obtención de ovocitos: Se utilizó el método de “slicing” o de corte para la obtención de ovocitos, ya que es el método con el que se obtiene una mayor cantidad. Para ello se colocó el ovario en un vidrio reloj, se le realizó cortes longitudinales

y transversales y se lo enjuagó con solución salina al 0,9%. Posteriormente se realizó la decantación del líquido y se llevó al microscopio para la observación.

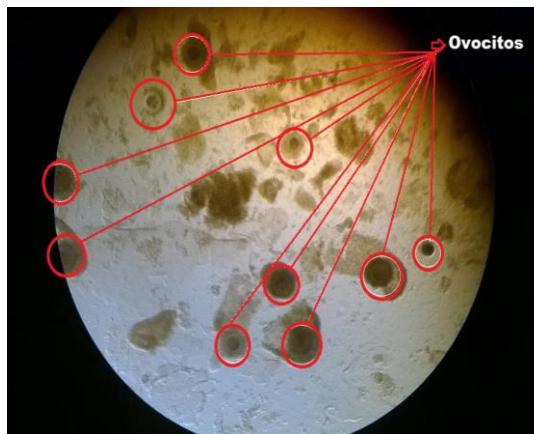
Fotografía 7: Extracción de líquido folicular



Tomada por: Sierra, K. (2014)

Conteo de ovocitos: Se realizó la recolección de información mediante la observación directa del contenido folicular mediante el microscopio, y se realizó el conteo de la cantidad de ovocitos procedente de cada ovario.

Fotografía 8: Conteo de Ovocitos

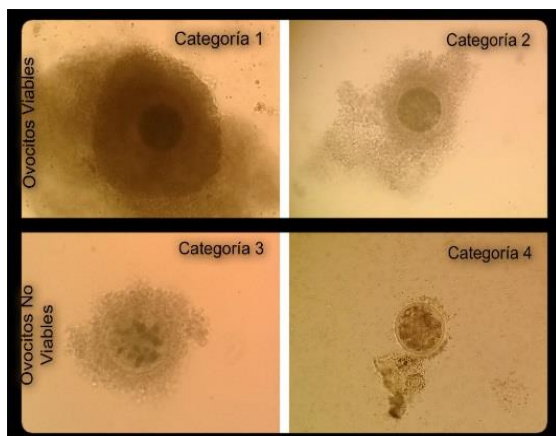


Tomada por: Sierra, K. (2014)

Clasificación de ovocitos: Con la utilización de un microscopio se observó los ovocitos presentes en el contenido folicular y se procedió a clasificarlos morfológicamente mediante la clasificación de Stojkovic et al., citada por Collantes (2011), en categorías 1, 2, 3 y 4.

Tomando en cuenta que los ovocitos calidad 1 y 2 son catalogados como viables para la producción in vitro de embriones, y los ovocitos de calidad 3 y 4 son catalogados como no viables para dicha biotecnología.

Fotografía 9: Clasificación morfológica.



Tomada por: Sierra, K. (2014)

3. PROCESAMIENTO, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.

3.1. Análisis de resultados.

Con los datos obtenidos en la investigación “Determinación de la viabilidad de ovocitos bovinos obtenidos post mortem a varios periodos de tiempo en el Camal Municipal De Tulcán”, se procedió a realizar el análisis con el software estadístico de Infostat Versión Libre para evaluar factores, variables e hipótesis planteadas.

3.1.1. Análisis estadístico de variables.

Para realizar el análisis estadístico se evaluó: Medidas de tendencia central, análisis de regresión, análisis de varianza y prueba de Tukey para comparar los momentos de recolección a las 1, 3, 5, 7 y 9 horas después del sacrificio del animal.

a. Viabilidad (%) de ovocitos bovinos

Se registró la cantidad de ovocitos obtenidos en cada ovario, los cuales fueron clasificados morfológicamente en ovocitos viables y no viables de los cuales se obtuvo el porcentaje de viabilidad para cada tratamiento.

a.1. Viabilidad de ovocitos bovinos 1 hora post mortem

Al realizar el análisis estadístico del porcentaje de viabilidad de ovocitos bovinos se encontró un valor de $68,7 \pm 1,89$ % de viabilidad.

Tabla 4: Análisis estadístico de viabilidad (%) de ovocitos bovinos 1 hora post mortem

Media	68,70
Error típico	1,89
Mediana	69,61
Moda	66,67
Desviación estándar	11,94
Cuenta	40

Elaborado por: Sierra, K. (2014)

Al realizar el análisis estadístico se determina que existe un alto porcentaje de viabilidad ya que las medidas de tendencia central nos indican una viabilidad mayor a 66,67 %, lo cual es mayor que el porcentaje de viabilidad transcurrida 1 hora post mortem reportada por Collantes (2012), que reportó 55% de viabilidad.

a.2. Viabilidad (%) de ovocitos bovinos a 3 horas post mortem.

Al realizar el análisis estadístico del porcentaje de viabilidad de ovocitos bovinos a las 3 horas post mortem se encontró un valor de $62,81 \pm 1,68$ % de viabilidad.

Tabla 5: Análisis Estadístico de Viabilidad (%) a 3 horas post mortem

Media	62,81
Error típico	1,68
Mediana	63,64
Moda	62,5
Desviación estándar	10,61
Cuenta	40

Elaborado por: Sierra, K. (2014)

Con el Análisis estadístico se determina que existe un alto porcentaje de viabilidad ya que es mayor a 62,5 %.

a.3. Viabilidad (%) de ovocitos bovinos 5 horas post mortem.

Al realizar el análisis estadístico del porcentaje de viabilidad de ovocitos bovinos a las 5 horas post mortem se encontró un valor de $57,81 \pm 1,74$ % de viabilidad

Tabla 6: Análisis Estadístico de Viabilidad (%) a 5 horas post mortem

Media	57,81
Error típico	1,74
Mediana	60
Moda	60
Desviación estándar	11,01
Cuenta	40

Elaborado por: Sierra, K. (2014)

Con el Análisis estadístico se determina que existe un alto porcentaje de viabilidad ya que las medidas de tendencia central nos indican una viabilidad mayor a 57,81 %

a.4. Porcentaje de Viabilidad a 7 horas post mortem.

Al realizar el análisis estadístico del porcentaje de viabilidad de ovocitos bovinos a las 3 horas post mortem se encontró un valor de $54,41 \pm 1,22$ % de viabilidad.

Tabla 7: Análisis Estadístico de Viabilidad (%) a 7 horas post mortem

Media	54,41
Error típico	1,22
Mediana	55,28
Moda	54,55
Desviación estándar	7,69
Cuenta	40

Elaborado por: Sierra, K. (2014)

Con el Análisis estadístico se determina que existe un alto porcentaje de viabilidad ya que las medidas de tendencia central nos indican una viabilidad mayor a 54,41%.

a.5. Viabilidad (%) de ovocitos bovinos 9 horas post mortem.

Al realizar el análisis estadístico del porcentaje de viabilidad de ovocitos bovinos a las 9 horas post mortem se encontró un valor de $51,51 \pm 1,32$ % de viabilidad

Tabla 8: Análisis Estadístico de Viabilidad (%) a 9 horas post mortem

Media	51,51
Error típico	1,32
Mediana	51,92
Moda	50
Desviación estándar	8,35
Cuenta	40

Elaborado por: Sierra, K. (2014)

Con el Análisis estadístico se determina que existe un porcentaje medio de viabilidad ya que las medidas de tendencia central nos indican una viabilidad mayor a 50 %.

b. Viabilidad (%) de ovocitos bovinos en función del tiempo

Para determinar la viabilidad en función del tiempo se tomó como referencia la media ya que representa un valor promedio entre los datos obtenidos.

Tabla 9: Viabilidad (%) de ovocitos bovinos a 1, 3, 5, 7 y 9 horas post mortem

Gráfico 6: Porcentaje de viabilidad de ovocitos bovinos a través del tiempo

HORA	VIABILIDAD (%)
1 hora	68,69
3 horas	62,81
5 horas	57,81
7 horas	54,41
9 horas	51,50

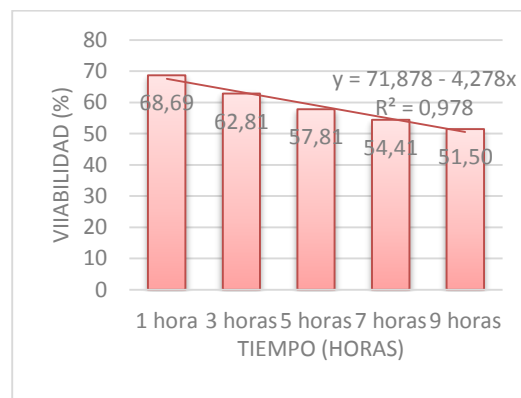
Elaborado por: Sierra, K. (2014)

Al comparar los diferentes tratamientos se pudo observar una disminución de viabilidad siendo 66,66% trascurrida la primera hora después de la muerte del animal el porcentaje de viabilidad más alto, y 50% a las 9 horas en donde obtenemos el menor porcentaje de viabilidad. Estos porcentajes de viabilidad se consideran altos al ser comparados con los resultados de la investigación de Collantes (2011) en donde el porcentaje de viabilidad a 1 hora post mortem fue de 55% y a las 9 horas fue de 34%, manteniendo los ovarios a temperatura ambiente (23-30° C) se puede observar que obtuvimos un porcentaje considerablemente más alto al mantenerlos a una temperatura de 38°C.

c. Análisis de regresión lineal de variables.

Se tomó como Variable dependiente al porcentaje de viabilidad y como Variable independiente o regresora al tiempo trascurrido post mortem. El siguiente gráfico, obtenido por defecto, muestra el comportamiento de las variables:

Gráfico 7: Regresión lineal de la viabilidad de ovocitos bovinos obtenidos



Elaborado por: Sierra, K. (2014)

Tabla 10: Análisis de regresión lineal

Variable	N	R ²	R ² Aj
%Viabiles	5	0,98	0,98

Elaborado por: Sierra, K. (2014)

Tabla 11: Coeficientes de Regresión y estadísticos asociados

Coef	Est.	E.E.	LI(95%)	LS(95%)	T	p-valor
const	71,88	1,44	66,90	72,58	48,48	<0,0001
tiempo	-4,28	0,25	-2,63	-1,65	-8,54	<0,0001

Elaborado por: Sierra, K. (2014)

Tomando la información sobre los coeficientes de regresión se puede escribir la ecuación del modelo ajustado:

$$y = a + bx$$

$$y = 71,88 - 4,24x$$

Esta ecuación permite estimar el valor de y (valor predicho) para un valor de x. El modelo ajustado puede ser usado con fines predictivos; por ejemplo, para un tiempo post mortem de 12 horas el porcentaje de viabilidad de los ovocitos será:

$$y = 71,88 - 4,24(12)$$

$$y = 21 \%$$

Este resultado, al igual que cualquier otra predicción deseada usando valores de X dentro o fuera del rango estudiado, puede obtenerse automáticamente al reemplazar x por una hora especificada.

Tabla 12: Cuadro de Análisis de la Varianza de la viabilidad de ovocitos bovinos en los diferentes momentos de recolección

F.V.	GL	SC	CM	F CAL
TOTAL	199	27189,97		
MOMENTOS DE RECOLECCIÓN	4	7486,44	1871,61	18,52
ERROR	195	19703,52	101,04	
CV%		7,02%		

Elaborado por: Sierra, K. (2014)

El coeficiente de variación (CV) es de 17,02 %, adecuado para este tipo de investigación. Al realizar el Análisis de varianza se determina que existen diferencias estadísticas significativas entre los momentos de recolección por lo que se procede a realizar la siguiente prueba de Tukey:

Tabla 13: Prueba de Tukey 5% para la viabilidad de ovocitos bovinos en los diferentes momentos de recolección

Momentos de Recolección	Medias	
1,00	68,70	A
3,00	62,81	A B
5,00	57,81	B C
7,00	54,41	C D
9,00	51,51	D

Elaborado por: Sierra, K. (2014)

Al realizar la prueba de Tukey en la viabilidad de ovocitos bovinos, se presentan 5 rangos de significación estadística ubicándose en el rango A la primera hora de obtención de ovocitos post mortem, en el rango AB la hora 3, en el rango BC la hora 5, en el rango CD las 7 horas y por último en el rango D la hora 9 de recolección post mortem de ovocitos.

Al comparar las medias, se observa que el porcentaje de viabilidad de ovocitos obtenido es mayor trascurrida 1 y 3 horas post mortem con una viabilidad de 68,7% y 62,81% frente a las 9 horas que es de 51,51%, lo que nos indica que trascurrida 1 y 3 horas post mortem es el mejor momento para obtener la mayor cantidad de ovocitos bovinos.

d. Cantidad ovocitos recolectados a 1, 3, 5,7 y 9 horas post mortem

La cantidad de ovocitos recolectados post mortem en esta investigación se muestra en la siguiente tabla:

Tabla 14: Cantidad ovocitos recolectados a 1, 3, 5,7 y 9 horas post mortem

Hora	N° Ovarios recolectados	N° Ovocitos Recolectados	Ovocitos Viables	Ovocitos No Viables	Ovocitos/os/ovario
1	40	409	274	135	10,23
3	40	406	256	150	10,15
5	40	401	233	168	10,03
7	40	400	216	184	10,00
9	40	402	206	196	10,05
Total	200	2018	1183	833	10,09

Elaborado por: Sierra, K. (2014)

El método de corte o “slicing” nos permitió obtener un rendimiento de 10,09 ovocitos por ovario, lo cual es superior a la cifra reportada previamente por (Gomez, 2012) cuyo promedio ovocitos/ovario fue de 5,32 utilizando el mismo método y similar al obtenido por Gonzales citado por Gomez (2012) que fue de 12.8 ovocitos por ovario.

3.2. Verificación de hipótesis.

Al dar por finalizado el estudio de esta investigación y al analizar e interpretar los diferentes datos obtenidos de las variables evaluadas, se puede dar la validación de la hipótesis afirmativa en que se plantea: “Existe variación en la viabilidad de ovocitos bovinos obtenidos post mortem en relación con los periodos de tiempo de recolección” ya que se obtuvo un alto porcentaje de viabilidad de 68,7% y 62, 81% transcurrida 1 y 3 horas respectivamente, frente a las 9 horas que cuya viabilidad disminuye a 51,51%, lo que nos indica que transcurridas 1 y 3 horas post mortem son los mejores momentos para obtener la mayor cantidad de ovocitos bovinos viables.

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.

4.1. CONCLUSIONES.

- La cantidad total de ovocitos obtenidos de 200 ovarios de hembras bovinas sacrificadas en el Camal Municipal de Tulcán es de 2018 ovocitos, de los cuales 1185 (58,72%) se consideran viables y 833 (41,28%). Además el rendimiento de esta técnica de recolección, como es el método de cortes nos permitió obtener un rendimiento de 10,09 ovocitos por ovario.
- El tiempo óptimo para obtener el mayor porcentaje de ovocitos viables en esta investigación es de 1 y 3 hora post mortem, ya que en ese tiempo se obtuvo un $68,7 \pm 1,89 \%$ y $62, 81 \pm 1,68 \%$ de viabilidad respectivamente, frente a la menor tasa de viabilidad transcurridas 9 horas post mortem que fue un $51,51 \pm 1,32 \%$ de viabilidad.
- El tiempo transcurrido desde la muerte del animal influye en el porcentaje de viabilidad de los ovocitos, disminuyendo su viabilidad a medida que el tiempo aumenta.
- La ecuación obtenida en esta investigación mediante regresión lineal es $y= 71,88 - 4,24x$ con la cual se puede predecir el porcentaje de viabilidad a diferentes tiempos manteniendo los ovarios a una temperatura de 38°C reemplazando la x (tiempo) en la ecuación.

4.2. RECOMENDACIONES.

- En caso de presentarse una muerte súbita de un animal de buena genética es posible aprovechar su potencial genético con la extracción de los ovarios y manteniéndolos a temperatura de 38°C y extraer los ovocitos en el menor tiempo posible para conseguir una mayor cantidad de ovocitos viables.
- Es recomendable la utilización de la técnica de Slicing porque permite la obtención de un alto número de ovocitos post mortem ya que se obtiene el líquido folicular que se encuentra en el exterior e interior de los ovarios.
- En base a esta investigación se recomienda continuar con el siguiente paso a la obtención de ovocitos que es la maduración, con lo cual se comprobaría la viabilidad para maduración y su posterior fecundación invitro para la obtención de embriones bovinos.
- Es importante divulgar y dar a conocer la aplicación de las biotecnologías reproductivas en animales, ya que esto promueve la continuación de las investigaciones en este ámbito, ya que se puede recuperar material genético viable lograr un aumento en la calidad genética, mejorando la producción de los animales, lo cual deriva en un aumento económico para el sector pecuario.

5. BIBLIOGRAFÍA

- Ahuka, C., Montiel, F., & Ponciano, P. (2013). Producción In Vitro y transferencia de embriones en bovinos. Veracruz, México.
- Apuntes de Biología para estudiantes y Profesores. (Junio de 2014). Gametogénesis. Obtenido de <http://www.biologiaescolar.com/2014/06/gametogenesis.html>
- Asamblea Constituyente. (2008). Constitución de la República del Ecuador. Quito.
- Benavides, L. A. (2012). Efecto del Método de Colección y Tensión de Oxígeno sobre el desarrollo embrionario de Ovocitos Bovinos fecundados y cultivados In Vitro. Lima, Perú.
- Brito, R., & Tagle, L. (2009). Fisiología de la reproducción animal: con elementos de biotecnología. Cuba: Félix Varela.
- Caínzos, J. M. (Mayo de 2012). DISEÑO DE UN MEDIO DEFINIDO PARA LA MADURACIÓN IN VITRO DE OVOCITOS BOVINOS EN BAJA TENSIÓN DE OXIGENO. España.
- Caiza, F. (2013). INIAP realizó seminario interinstitucional sobre Biotecnología Aplicada a la Reproducción Bovina. Coordinación Comunicación INIAP.
- Carrasco, A. (2012). USO DE AZUL BRILLANTE DE CRESILO EN LA SELECCIÓN DE OVOCITOS . Valdivia, Chile.
- Collantes, J. I. (2011). VIABILIDAD DE LOS OVOCITOS BOVINOS OBTENIDOS POST MORTEM, PARA LA PRODUCCIÓN DE EMBRIONES IN-VITRO. Obtenido de

Repositorio de la Universidad de Guayaquil:
<http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/891/1/Collantes%20Mendoza%20Jimmy188.pdf>

Cuadrado, F. (Junio de 2012). Evaluación de ovocitos bovinos por microscopia de luz polarizada. Obtenido de <http://digibuo.uniovi.es/dspace/bitstream/10651/4014/1/TFMdef.pdf>

FAO, F. a. (2007). La situación de los recursos zoogenéticos mundiales para la alimentación y la agricultura. Roma: Comisión de los recursos genéticos para la alimentación y la agricultura.

FAO, F. a. (2011). Informe sobre los progresos realizados en la aplicación del Plan de Acción Mundial sobre los Recursos Zoogenéticos.

Gardón, J. (2000). Utilización de antisuero H-Y para sexar embriones bovinos en diferentes estadios del desarrollo embrionario, obtenidos por fertilización in vitro. Córdoba: Universidad de Córdoba.

Gomez, O. (2012). TECNICAS DEL SLICING Y ASPIRACION FOLICULAR EN LA EFICIENCIA DE LA RECUPERACION DE OVOCITOS BOVINOS CRIOLLOS POSTMORTEN EN EL CAMAL. Asociación Peruana de Reproducción Animal, 38-39.

González, V. (2012). EVALUACIÓN DE LA EXPANSIÓN DE LAS CÉLULAS DEL CÚMULO EN LA MADURACIÓN IN VITRO DE TRES TIPOS MORFOLÓGICOS DE OVOCITOS PROCEDENTES DE OVARIOS DE VACAS DE MATADERO DE LA CIUDAD DE LOJA CON DOS MEDIOS DE MADURACIÓN. Loja: CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA.

Herrera, L., & Jara, O. (2009). COMPARACIÓN DE DOS SUPLEMENTOS PARA MADURACIÓN. Bogotá: UNIVERSIDAD DE LA SALLE.

Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable. (2014). Obtenido de <http://iibce.edu.uy/uas/biomolec/ovocito.htm>

Lorenzo, P. (1992). MADURACIÓN IN VITRO DE OOCITOS DE GANADO VACUNO. Madrid: Departamento de Fisiología Animal. Obtenido de <http://biblioteca.ucm.es/tesis/19911996/D/2/AD2007601.pdf>

Mellisho, E. (2010). Biotecnología Reproductiva. Perú: La Molina.

Palma, G. (2001). Biotecnología de la reproducción. Argentina: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria.

Santa Cruz, C. (2012). Efecto de tres suplementos macromoléculas (pva, pvp y bsa) sobre la tasa de maduración, división y desarrollo embrionario in vitro de ovocitos bovinos procedentes de ovarios obtenidos de camal. Lima, Perú.

Universidad de Sevilla. (2014). Láminas Ovario. Obtenido de <http://personal.us.es/salles/OMA/docencia/practicas/difiore/laminas/Ovario-b128.htm>