

# Preparación de Embriones Producidos In Vitro para Transferir a Receptoras

R.M. Rivera, J. Block, F.F. Paula-Lopes, Y.M. Al-Katanani, M. Drost, and P.J. Hansen

*Departamento de Ciencia Animal y Clínica de Grandes Especies  
Universidad de Florida*

[Selección de receptoras](#) | [Producción y transferencia de embriones](#) | [Preparación de materiales para transferencia](#) | [Disposición del Área de transferencia](#) | [Cargar las pajillas con los embriones](#) | [Preparación de vacas para transferencia](#) | [Procedimiento de transferencia de embriones](#)

[Más Técnicas](#) | [P.J. Hansen Página Principal](#) | [UF Animal Sciences Página Principal](#)

## ❖ Selección de recipientes

Las vacas receptoras deben ser seleccionadas en el día 7 del ciclo estral (d 0 = estro). Las vacas deben ser seleccionadas en base a detección de estro (con o sin sincronización) o después de la sincronización de la ovulación sin la detección del estro. Hay muchas maneras de alcanzar la sincronización del estro. [Ver la sincronización Estro - Una herramienta de gerencia reproductiva](#) de padres selectos, [sincronización de Estro en ganados](#) del mundo de Brangus y los programas de [sincronización de programas](#) de ABS entre otras fuentes.

Una forma para sincronizar receptoras es: dando una inyección de GnRH (100, microgramos i.m.) seguido a los siete días por una inyección de PGF<sub>2</sub> " (25 mg/ml) seguido por la detección del estro. Las vacas detectadas en estro (la mayoría dentro de 48-96 h después de PGF) se programan para recibir un embrión el día 7 del ciclo estral. La transferencia sin la detección de estro puede también ser realizada usando el programa OvSynch usado típicamente para la inseminación artificial sincronizada. Este procedimiento de sincronización de transferencia de embriones (TE), todavía está en desarrollo, puede ser útil cuando la detección del estro es difícil por ejemplo durante el estrés calórico (véase a Ambrose y otros., 1999 y Al-Katanani y otros., 2002). Las vacas usadas para TE, recibirán una inyección intramuscular de 100 de microgramos de GnRH (Cystorelin) el día 0 seguido por 25 mg de PGF<sub>2</sub> " el día 7 y 100 microgramos de GnRH el día 9. Los embriones se transfieren 8 días después de la inyección de GnRH ([nota: la época óptima para la transferencia no se ha determinado experimentalmente](#)).

## ❖ Producción y transporte de embriones

1. Los embriones se producen por técnicas In Vitro (véase los [procedimientos para la producción In vitro de embriones bovinos](#) de Rivera y otros) se cosechan el día 7 o 8 después de la fertilización (día 0 = día de la inseminación). Para este

propósito, se identifican usando un microscopio de disección y se transfieren los blastocistos de calidad excelente y buena (según lo descrito en el [manual de la sociedad internacional de transferencia del embriones](#)) en un tubo estéril que contiene el medio de transferencia de embriones (utilizamos HEPES-TALP usando HEPES-TL de [Biowhittaker](#). Otros medios trabajan bien). *Nota: Existen varios tipos de tubos para transporte nosotros utilizamos con frecuencia tubos de microcentrifuga con 1 ml de medio y de embriones tanto como sea posible.*

2. Los tubos se sellan poniendo una tira de Parafilm (parafina) alrededor de la tapadera y son transportados en un dispositivo que mantiene la temperatura deseada (38.5°C). *Nota: Nuestra experiencia es con una incubadora portátil de [Mini tubos](#) (catálogo BT-INC [Agtech](#)) que mantiene la temperatura de 32.5°C a 40°C (como se programe, con incrementos de .5° C y que funciona con baterías o conectada a la fuente de energía de un vehículo. Este aparato funciona bien pero otros también funcionarían indudablemente.*

### ❖ Preparación de los materiales para la transferencia

Lo que se enumera a continuación se prepara y transporta al sitio el día de la transferencia de embriones:

A. Laminilla térmica a 39°C (si no hay disponible utilizar un soporte de plástico, Hule espuma o algún otro material como plataforma para los platos de Petri que contienen medio y embriones, para proteger del cambio de temperatura (superficies frías)

B. Papel para cubrir la superficie (no necesario si existe un área limpia para trabajar)

C. etanol al 70% (limpiar todas las áreas con etanol antes de comenzar cualquier procedimiento y dejar evaporar)

D. Colocar los embriones en una placa o plato de Petri para cargar las pajillas de transferencia con ellos (la placa grid funciona muy bien debido a los cuadrados)

E. La placa de Petri redonda para transferir embriones del tubo donde fueron transportado (60 x 15 sirven bien debido a su tamaño pequeño)

F. jeringuillas de tuberculina 1 de ml

G. Instrumento para manipular embriones - muchos están disponibles según lo descrito en la guía para el uso de los instrumentos de manipulación Ovocitos y embriones

H. Baño de agua 38.5°C (baño maría)

I. Puntas para pipeteador (puntas amarillas)

J. Pajillas francesa de 0.25 ml

K. Pipeteador fijó en 70 microlitros

L. Aplicador para transferencia de embriones (utilizamos el IMV de 21 pulgadas l catalogo # F17 de [Agtech](#))

M. funda para aplicador de transferencia de embriones (éstos tienen aberturas oblicuas para reducir la contaminación del útero - de Agtech; número de catálogo F18A)

N. Camisa sanitaria (una manga plástica para cubrir la funda fabricada por IMV (disponible en [Agtech](#); catálogo #F27A)

O. Cubierta estéril adicional (tubo Dualpeel de VWR funciona bien para este paso) para las fundas del aplicador de transferencia de embriones

P. Microscopio de disección

Q. pipetas Pasteur plástico

R. Medio de transferencia (HEPES-TALP - 15-30 ml)

#### ❖ Disposición del área de trabajo en el sitio de la transferencia

I) Preparar un área limpia en la granja o rancho donde la preparación de las pajillas se efectuara. La temperatura controlada de un cuarto es lo mejor, pero cualquier área libre puede ser un buen espacio.

II) Limpiar todas las superficies con etanol al 70%.

III) Colocar el papel sobre la superficie (si está disponible) de el área donde se manipularán los embriones

IV) Fijar la laminilla térmica a 39°C (o instalar el una plataforma plástica)

V) Colocar las placas Petri y grid sobre la laminilla térmica

VI) Fijar el baño de agua a 38.5°C - alternativamente, uno podría utilizar la incubadora portátil para colocar el tubo que contiene el medio de transferencia caliente. Si una incubadora portátil o un baño de agua no está disponible, otro alternativa es poner las gotas de medio en una placa grid está encima de la laminilla térmica. Colocar la tapa encima de la placa para prevenir la evaporación. En cerca de 5-10 minutos, las gotas de 70 microlitros de medio se deben calentar.

VII) Transferir los embriones del tubo en el cual fueron transportados a un plato de Petri redondo con una pipeta Pasteur de plástico estéril.

❖ **Cargar las pajillas con los Embriones (véase el cuadro 1)**

- 1) Localizar, contar y evaluar los embriones por su calidad.
  - 2) Insertar la extremidad amarilla de 200 microlitros sobre la jeringuilla de 1 ml como se muestra (véase el cuadro 1).
  - 3) En una placa Petri (es decir placa de grid) poner 3 microgotas de 70 microlitros de medio como se muestra en la foto (A).
  - 4) Poner un blastocisto en la gota media (B).
  - 5) Insertar del lado del algodón de una pajilla francesa de 0.25 ml en el extremo ancho de pipeta (C, D).
  - 6) Aspirar una gota de medio (E).
  - 7) Aspirar aire para crear una columna de 0.5 centímetros (E)
  - 8) Aspirar la microgota que contiene el embrión (cerciorarse de que el embrión sea aspirado observando debajo del microscopio (F)
  - 9) Aspirar aire para crear otra columna de 0.5 centímetros (G)
  - 11) Aspirar la gota de medio restante hasta que el tapón de algodón es mojado (H).
- Quitar la pajilla de transferencia de la jeringuilla y colocarla en la laminilla térmica.

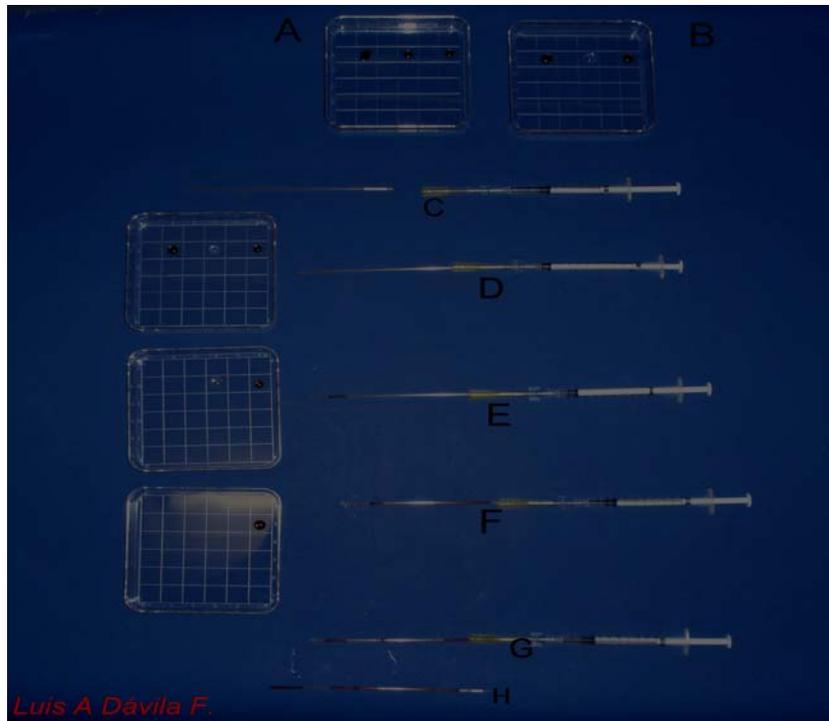


Figura 1. Carga de Embrión en la Pajilla

➤ **Colocando la pajilla en la pipeta de transferencia (véase el cuadro 2)**

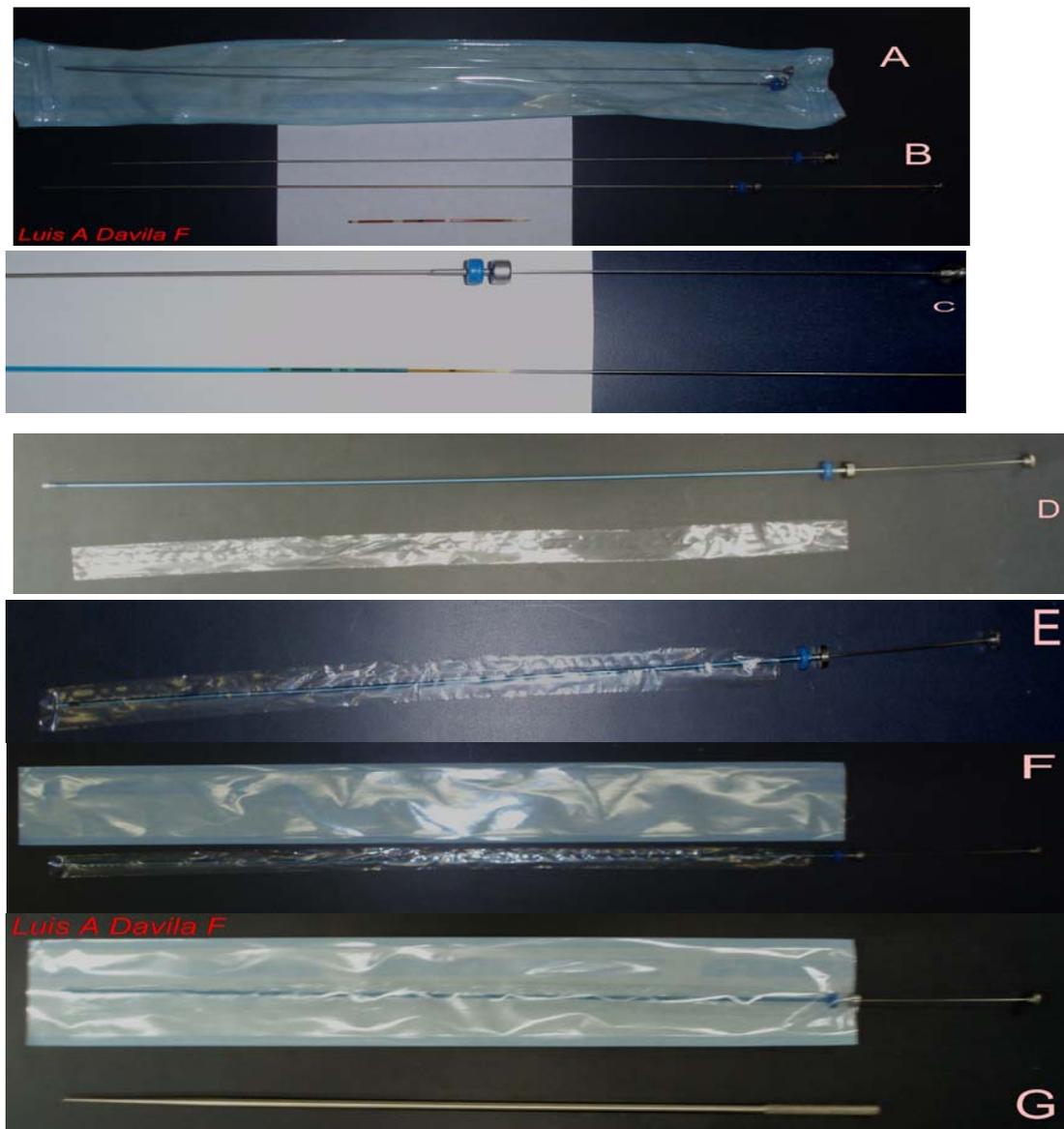
- a) Abrir el paquete que contiene las fundas estériles de transferencia (la funda de uso diseñada para pajilla de 0.25 cc)
- b) Tirar del émbolo de la parte posterior del aplicador o pistola de transferencia (b)
- c) Insertar el embrión que contiene la pajilla francesa, por el lado del algodón en el aplicador de transferencia primero (hacer esto sosteniendo la pajilla del lado del tapón de algodón para reducir al mínimo la contaminación de la pajilla a). Si encuentra resistencia inmediatamente cheque si el émbolo está bien hacia afuera (c).
- d) Mover el anillo hacia el centro del aplicador. Colocar una funda azul sobre el aplicador de transferencia por el extremo abierto. Empujar la funda hasta el final a la parte posterior del aplicador (puedes necesitar aplicar una cierta presión). Mover el anillo azul a la parte posterior del aplicador para sujetar la funda en el lugar (c,d).
- e) Poner una camisa sanitaria sobre la funda (e).
- f) Colocar el aplicador cargado en un bolso protector (f).

g) Transpórtese al sitio de la transferencia en una posición horizontal. Dilatador cervical

Quitar el aplicador del bolso protector y mantener el bolso plástico limpio para reutilizar para la transferencia siguiente

Después de terminar la transferencia, traiga el aplicador de transferencia de nuevo al área de preparación y límpielo con etanol. Hacer esto realizando un solo movimiento de la extremidad del aplicador (el área más limpia) a la parte posterior del aplicador (el área más sucia).

Esperar hasta que el etanol se ha evaporado totalmente



**Figura 2.** Forma de colocar la pajilla con el embrión en el aplicador

## Preparación de las vacas para la transferencia

- a) Inmovilice la vaca en la trampa (chute)
- b) Las vacas receptoras se Palpan (o utilizar ultrasonido) para identificar presencia de cuerpo lúteo (CL), si no hay presencia de CL, no utilizar esa receptora.
- c) Se marca con tiza, crayón o marcador del lado que el CL está presente
- d) Afeitar el área de anestesia.
- e) Preparar zona de anestesia epidural limpiando con benzol o yodo tallar con alcohol (etanol al 70%)
- f) aplicar anestesia epidural inyectando 5 ml de lidocaína en el espacio epidural. Cuando se relaja la cola, la receptora está lista para transferirle l embrión.

### ❖ Procedimiento de la transferencia del embrión

La transferencia se realiza generalmente con la técnica de IA (véase la [técnica de inseminación artificial de Michael O' Connor](#)).

Se enumeran las modificaciones y las preocupaciones especiales debajo

a) se debe tener cuidado para evitar la contaminación con heces. Limpiar la vulva a fondo antes de insertar la pipeta de transferencia. Además, los labios vulvares se deben abrir antes de la inserción de la pipeta. Esto se puede lograr por el técnico (empujando el brazo en el recto hacia abajo y detrás levemente) o por una ayudante (asiendo los labios vulvares y tirando hacia afuera).

b) La extremidad de la pipeta de transferencia se pone aproximadamente a la mitad del cuerno uterino ipsilateral al cuerpo lúteo detectado. El embrión entonces se expelle suavemente de la pipeta.

Una contribución del consorcio internacional para el estrés calórico en la ganadería de leche financiada por una iniciativa del USDA para los sistemas agrícolas y del alimento futuro (USDA-CSREES #2001-52101-11318

---

Esta página se actualizo 11-25-02. El material original de este sitio de internet pertenece © [Rocio Rivera](#), [Peter J. Hansen](#) et al. 2000-2002 y fue traducida y modificada en Mayo 2007 por Luis A. Dávila F.  
Las ligas a los sitios comerciales no representan un endoso de los Autores o la Universidad de Florida

