



*Universidad Nacional del Nordeste*

Facultad de Ciencias Veterinarias

Corrientes – Argentina

## **TRABAJO FINAL DE GRADUACIÓN**

### **-MÓDULO DE INTENSIFICACIÓN PRÁCTICA-**

**OPCIÓN:** PRODUCCIÓN ANIMAL

**TEMA:** EVALUACIÓN DE PARTOS EN RECEPTORAS DE EMBRIONES PRODUCIDOS *IN VITRO* (PIV).

**TUTOR EXTERNO:** M.V ANDRES LORENZO SANCHEZ

**TUTOR INTERNO:** M. V LIA MACARENA NAVARRO KRILICH

**RESIDENTE:** DIEGO DANIEL MORICONI

**e-mail:** diego\_ddm1404@hotmail.com

## **ÍNDICE**

RESUMEN	2
INTRODUCCIÓN	3
OBJETIVOS	6
MATERIALES Y MÉTODOS	6
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	8
CONCLUSIONES	11
BIBLIOGRAFÍA	12

## **RESUMEN**

El objetivo del trabajo fue evaluar los partos en receptoras de embriones producidos *in vitro* (PIV). Se llevó cabo en “Estancia La Tilita” ubicado en Itá Ibaté, Corrientes, con 78 vacas pluríparas, biotipo brangus y braford receptoras de embriones PIV, transferidos en frescos y vitrificados de genética brangus. Se realizó pre-inducción 14 días previos a la fecha estimada de parto y 4-5 días después inducción, mediante palpación rectal se evaluó la colocación del feto en el canal del parto, cuando fue normal se esperó hasta 32 horas y de ser necesario se aplicó oxitocina, en los que no fue adecuada o si posterior a la inyección no se produjo el parto, se procedió a la asistencia en primer lugar por maniobras obstétricas o mediante cesárea. A los 60 días posteriores al parto, se efectuó examen ginecológico para determinar la evolución y destino del vientre. Se tomaron registros en las madres: edad, número de pariciones, tipo de parto (normal o distóxico), en distocias técnica de resolución y evolución, de los terneros: sexo, peso, número de fetos, signos vitales (vivo o muerto). Se realizó estadística descriptiva y tabla de frecuencia con software InfoStat versión estudiantil. Del total de partos evaluados 22% (n=17) presentaron distocia y 78% (n=61) se desarrollaron de forma normal, 71% (n=61) de los embriones se transfirieron en fresco y 29% (n=23) vitrificados. De los terneros nacidos 54% fueron machos y hembras el 46%, con pesos promedios al nacer de  $39,38 \pm 5,39$  y  $37,78 \pm 4,89$  kg, respectivamente. Al considerar el tipo de parto los nacidos de partos complicados pesaron  $43,88 \pm 4,11$  kg, 17% (6,34kg) más que los de parto normal  $37,54 \pm 4,13$  kg. La edad promedio de las receptoras fue de 5,18 años, con una variación entre 4 y 7 años, siendo de dos el 37% (n=29), de tres el 37% (n=29) y de cuatro partos el 26% (n=20). La técnica de resolución utilizada fue mayormente maniobra obstétrica 82% (n=14) y cesárea el 18% (n=3). En lo que respecta a la sobrevida el 23% (n=5) nacieron muertos y 72% (n=13) presentaron signos vitales favorables, siendo un parto doble. La mayor proporción de vientres con distocia fueron descartados 71% (n=12), 12% (n=2) muertas, evolucionando solo favorablemente el 18% (n=3). Se puede concluir que la biotecnología utilizada ocasionó una alta incidencia de partos complicados, se podría inferir que se deben al alto peso al nacer y el sexo de los terneros, por la mayor proporción de machos. La mayoría de las distocias fueron resueltas mediante maniobras obstétricas, no obstante, las complicaciones del parto provocaron un alto porcentaje de descarte de receptoras.

## INTRODUCCIÓN

La fertilización *in vitro* es una biotecnología que consiste en extraer los ovocitos de un hembra donante mediante la técnica de aspiración folicular (OPU) y llevados al laboratorio, realizar su maduración y posterior fertilización al confrontarlos con espermatozoides (previamente capacitados) de un toro dador de semen, para luego ser cultivados durante 7 días y posteriormente ser transferidos en fresco a hembras receptoras o vitrificados para ser conservados en nitrógeno líquido (Herradón *et al.*, 2007).

La utilización de esta técnica para la producción de embriones bovinos ha permitido demostrar sus numerosas aplicaciones, entre las que podemos destacar aumentar el rendimiento de los programas de producción de embriones a partir de hembras de elevado valor genético, obtener descendientes de hembras de avanzada edad o que tengan problemas de infertilidad adquirida (Galli *et al.*, 2001; Palma, 2001).

Sin embargo, esta técnica presenta algunas deficiencias muy importantes de remarcar:

- Baja eficiencia, el porcentaje de ovocitos capaces de transformarse en embriones transferibles se encuentra entre el 30 y 40%.
- Los embriones producidos *in vitro* son de menor calidad que los obtenidos *in vivo*, lo que determina una reducción de su potencial de desarrollo pre y post-implantacional, ocasionando bajos porcentajes de preñez (30 a 40%), y una escasa resistencia a la criopreservación, dificultando su conservación a largo plazo.
- Incremento de la mortalidad embrionaria, abortos y problemas gestacionales como el hidroalantoides y alargamiento de la gestación.
- Nacimiento de terneros muy voluminosos, con anomalías estructurales y funcionales, conocido con el nombre de síndrome de exceso de volumen fetal, que disminuyen el vigor de los animales en el momento de su nacimiento y provocan una mayor mortalidad perinatal ((Merton *et al.*, 1998; Herradón *et al.*, 2007). Algunos estudios indican que más del 30% de los terneros derivados de embriones producidos *in vitro* (PIV) presentan un peso superior a los 50 kg, independientemente de su raza. Lo que incrementa el porcentaje de distocias (Kruip y Den Daas 1997).

La distocia se caracteriza por una complicación o dificultad en realizar el parto de forma normal, siendo necesario la intervención del médico veterinario para que el ternero nazca minimizando el riesgo para el feto y la vaca (Andolfato, 2014). La misma puede variar desde un ligero retraso en el desencadenamiento del parto o incluso la incapacidad total para llevarlo a cabo. Tres factores son importantes a considerar en el nacimiento del producto: fuerza de expulsión, canal de parto y feto (Borges *et al.*, 2006).

Pueden ser de origen materno o fetal, y en la mayoría de los casos, el parto distóxico es por causa fetal (Prestes y Alvarenga, 2006).

Distocia de origen materno ocurre con mayor frecuencia en madres primerizas o con múltiples fetos. Entre las principales causas podemos destacar la atonía o hipertonia uterina, estrechamiento de las vías fetales blandas y duras, torsión, prolapo uterino y contracciones excesivas (Prestes y Alvarenga, 2006).

Distocias de origen fetal consisten en anomalías que ocurren durante la preñez las cuales pueden ser:

- Hipertrofia fetal: los fetos se pueden clasificar en dos tamaños, relativamente o absolutamente grandes. Relativamente grande tiene medidas normales, pero la hembra tiene vías fetales blandas y duras más pequeñas, lo que dificulta que el feto pase a través del canal de parto. Absolutamente grande el tamaño del feto es mayor al promedio general de la raza y al diámetro del tamaño pélvico (Prestes y Alvarenga, 2006).
- Alteración en la estática fetal: se llama así a la situación en la que se presenta el ternero en el útero de la vaca. Se debe tener en cuenta la presentación (relación del eje longitudinal del feto con el de la madre, longitudinal o transversal), posición (relación entre la parte posterior del feto y la pelvis materna, sacra o pubiana) y actitud (relación de los miembros anteriores y posteriores, cabeza y cuerpo fetal). En un parto normal el ternero debe estar longitudinal anterior o posterior, posición superior y actitud extendida (Arthur, 1979; Grunert y Birgel, 1989).
- Nacimiento de gemelos: esto se debe al hecho de que un embrión transferido se halla dividido o que en el momento de la transferencia se colocó dos embriones. Los

problemas ocurren en el momento del parto, ya que podemos encontrar ambos terneros colocados en el canal de parto simultáneamente (Noakes, 1992).

- Malformaciones: son anomalías que pueden ocurrir en el desarrollo embrionario o fetal, que puede ser hereditario o causado por algún agente infeccioso, deficiencias nutricionales o también ocurren espontáneamente (Radostits *et al.*, 2007).

La producción de embriones *in vitro* está relacionada con el síndrome del ternero gigante, que se caracteriza por el nacimiento de terneros con tamaño inusual, además del nacimiento con varias anomalías en órganos (Young *et al.*, 1998; Farin *et al.*, 2006). También aumento en la duración de la preñez, alta incidencia de abortos espontáneos, distocias y mortalidad neonatal (Tavares *et al.*, 2015).

Terneros nacidos de transferencia de embriones PIV fueron significativamente más pesados (9kg) que los producidos *in vivo*, lo cual provocó un aumento en la incidencia de partos distócicos del 20 al 60% (Steacchezzni *et al.*, 1997). Similares resultados se obtuvieron comparando PIV con inseminación artificial. Por lo tanto, PIV tendría un efecto directo en el aumento de peso de los terneros, interactuando con el genotipo de los embriones (Numabe *et al.*, 1997).

La incidencia del síndrome del ternero gigante está comúnmente relacionada con el uso de suero y el co-cultivo durante las etapas de PIV (Landim-Alvarenga, 2006). Aún se necesitan nuevos estudios para identificar los factores asociados con PIV que inducen cambios en los embriones que aceleran su crecimiento en el útero, y también la definición de técnicas alternativas destinadas a reducir la ocurrencia de este síndrome y, en consecuencia, la disminución de distocias y mortalidad neonatal (Tavares *et al.*, 2015). Otros trabajos atribuyen la menor calidad, desarrollo y trastornos de los embriones de PIV a desordenes epigenéticos y cambios en el perfil de expresión de genes, que podría deberse al estrés a la que están expuestas las gametas y/o embriones durante su producción como ser la estimulación hormonal, aspiración folicular, maduración en medios suplementados con hormonas, manejo de los espermatozoides, criopreservación de las gametas y cultivo de embriones (Urrengo *et al.*, 2014).

En caso de distocia, el veterinario debe evaluar las condiciones del feto antes de comenzar cualquier procedimiento, en la prueba obstétrica, considerar la estática y viabilidad fetal (moviéndolo o realizando compresión de las extremidades), reflejo de succión, *rigor mortis*, para que pueda decidir cuál será la mejor forma de resolver el parto (Ikeda, 2009), con maniobras obstétricas o cesárea, la resolución o no del parto complicado por cualquiera de las formas mencionadas trae como consecuencia numerosas mermas en el número terneros que sobreviven al parto y también en la pérdida de vientres del lote de receptoras (Kruip y Den Daas, 1997).

## OBJETIVOS

Objetivo general:

Evaluar los partos en receptoras de embriones producidos *in vitro*.

Objetivos particulares:

- Determinar en los terneros peso al nacer y sexo.
- En partos distóicos valorar signos vitales del feto, maniobra obstétrica utilizada y evolución del vientre.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en el establecimiento “Estancia La Tilita” ubicado en Itá Ibaté, departamento General Paz, provincia de Corrientes.

Se tomaron registros de 78 vacas pluríparas, biotipo brangus y braford, utilizadas como receptoras de embriones producidos por fertilización *in vitro*, las cuales fueron transferidas con embriones frescos y vitrificados de genética brangus.

Las transferencias se realizaron en lotes de 50 vacas por semana, se administró por vía parenteral un complejo mineral, luego las receptoras transferidas fueron al mismo potrero, con una alimentación sobre recursos forrajeros naturales, más suplementación con sales minerales en batea. Transcurridos 30 días de la transferencia se efectuó el diagnóstico de preñez mediante ecografía y se procedió a retirar las vacas vacías del potrero.

El manejo sanitario consistió en la administración de vacuna Bioabortogen® en el pre-servicio y una segunda dosis posterior al diagnóstico de preñez. En el último tercio de gestación se aplicó doble dosis de vacuna contra el síndrome de diarrea neonatal y nuevamente una inyección de minerales.

En el último mes de gestación se acercaron las receptoras preñadas a los potreros lindantes al casco del campo.

Las receptoras fueron pre-inducidas e inducidas con el siguiente tratamiento:

- Pre-inducción: 14 días previos a la fecha estimada de parto con 1 ml de triamcinolona, vía parenteral.
- Inducción: 4-5 días después de la pre-inducción se observó e identificó las receptoras que presentaban sus ubres cargadas y estado de la vulva, armando grupos de 6-7 vacas a las cuales se les administró por vía parenteral 12 ml de dexametasona y 2 ml de prostaglandina.
- Luego de 24 horas de la inducción se realizó palpación rectal para determinar la colocación del feto en el canal de parto. En aquellos con una colocación normal se esperó hasta 32 horas post-inducción y en caso de ser necesario se aplicó oxitocina 3-6 ml.
- Cuando la colocación del ternero en el canal del parto no fue la adecuada, se consideró que la receptora no podría parir sin ayuda o en aquellas que posterior a la inyección de oxitocina no se produjo el nacimiento, se procedió a la asistencia del parto en primer lugar con maniobras obstétricas. Cuando no se pudo extraer el ternero de esta manera se acudió a la técnica de resolución mediante cesárea.

Transcurrido 60 días del parto mediante palpación transrectal y ultrasonografía, se realizó el examen ginecológico de las madres que presentaron distocia para determinar su evolución y posterior destino (descarte o apta), además se tuvo en cuenta las posibles alteraciones posteriores al parto como retención placentaria y habilidad materna. Siempre que la resolución fuera cesárea el vientre fue descartado.

Se registraron los siguientes datos:

- Datos de la madre: edad, número de pariciones, tipo de parto (normal o distóxico), en distocias técnica de resolución y evolución posterior al parto.
- Datos de los terneros: sexo, peso, número de fetos, signos vitales (vivo o muerto). Además, se identificó si el ternero nacido fue producto de un embrión fresco o vitrificado.

Diseño experimental y análisis estadístico:

El diseño es de tipo observacional, para el análisis de los datos se realizó estadística descriptiva y tabla de frecuencia, utilizando el software InfoStat versión estudiantil.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 se detallan los resultados según tipo de parto y de embrión transferido en receptoras de PIV.

**Tabla 1.** Tipo de parto en receptoras de embriones PIV transferidos en fresco y vitrificados

	Variables	Frecuencia absoluta (n)	Frecuencia relativa (%)
Tipo de Parto	Normal	61	78
	Distóxico	17	22
Tipo de embrión	Fresco	55	71
	Vitrificado	23	29

La presencia de partos distóxicos en el rodeo evaluado fue superior a lo publicado por otros autores. Borges *et al.* (2006) en Brasil obtuvieron resultados del 17,5% y Mee (2012) del 13,7%. Morelli y Muniz (2009) en un estudio realizado en Uruguay sobre 810 vacas un 18%. Krasniansky Cáceres (2014) en Chile observó una incidencia del 19,5 %.

En la tabla 2 se observan los datos de la estadística descriptiva obtenidos para peso al nacer según sexo y tipo de parto.

**Tabla 2.** Peso al nacer según sexo y tipo de parto de terneros producidos por fertilización *in vitro*

	Variables		Media±DE	CV(%)	Mín.	Máx.
Peso al nacer (kg)	Sexo	Machos (n=42)	39,38±5,39	13,69	28	55
		Hembras (n=36)	37,78±4,89	12,95	21	46
	Tipo de Parto	Normal (n=61)	37,54±4,13	10,99	21	48

Distócico (n=17)	43,88±4,11	9,36	38	55
------------------	------------	------	----	----

Del total de terneros nacidos el 54% fueron machos y 46% hembras. Van Wagtendonk- de Leeuw *et al.* (1998) obtuvieron en PIV 55,5% de machos. En los partos distóicos contabilizados el 71% (n=12) fueron machos y el 29% (n=5) hembras, similares resultados fueron consignados por Marinho *et al.* (2009), determinando que fue mayor el número de partos complicados con terneros machos 73,37% que con hembras 26,63%, atribuido posiblemente al tamaño y peso fetal, los machos en general pesan más y tienen mayor diámetro de cráneo, menudillos, tórax y caderas que las hembras. Johanson y Berger (2003) en relación al sexo fetal, observaron en 66 partos distóicos, que 47 fueron machos y 19 hembras, este resultado refuerza la idea de que los terneros machos están predispuestos a provocar partos difíciles, por más grandes y pesados al nacer.

Del total de vientres evaluados los machos al nacimiento tuvieron un peso superior en 1,6kg promedio que las hembras, inferior a lo informado por Wilson *et al.* (1995), cuya diferencia fue de 2,4kg. El 65% de los terneros nacidos tuvieron un peso dentro del rango de 38 y 46,49 kg, en cambio entre 46,5 y 55kg solo el 5%, lo que difiere con Kruip y Den Daas (1997) quienes indicaron que más del 30% de los terneros derivados de embriones PIV presentan un peso superior a los 50kg.

Los terneros nacidos de partos distóicos pesaron al nacer 17% (6,34kg) más que los de parto normal.

La edad promedio de las receptoras fue de 5,18 años, con una variación entre 4 y 7 años. Siendo de dos el 37% (n=29), de tres el 37% (n=29) y de cuatro partos el 26% (n=20).

A continuación, en la tabla 3 se observan los resultados de las variables analizadas en partos distóicos.

**Tabla 3.** Sobrevida de terneros, técnica de resolución del parto y evolución del vientre en partos distóicos de receptoras de embriones de FIV

Variables		Frecuencia absoluta (n)	Frecuencia relativa (%)
Signos vitales	Muertos	5	23
	Vivos	13	72
Técnica de resolución	Cesárea	3	18
	Maniobra obstétrica	14	82
Evolución del vientre	Muerta	2	12
	Descarte	12	71
	Favorable	3	18

Del total de partos uno fue doble, resultando dos hembras nacidas vivas, con un peso de 22kg. Según Meyer *et al.* (2001), la probabilidad de presentar mortinatos aumenta en un 23% por la presencia de distocia en partos dobles.

La porción de terneros al parto sin evidencia de signos vitales fue superior a lo descripto por Farin *et al.* (2006) logrando un porcentaje de mortinatos del 17,9%, asociándolo con el gran tamaño de los fetos, duración de la preñez, desarrollo insuficiente y funcionamiento inadecuado de la placenta, además de fallas en los mecanismos metabólicos necesarios para la vida extrauterina, son problemas que reducen la viabilidad.

En lo que respecta a las técnicas de resolución en partos complicados, la mayor proporción de los casos fue solucionada mediante la utilización de maniobras obstétricas, siendo en menor medida utilizada la cesárea. Otros autores encontraron los siguientes resultados Morelli y Muniz (2009) informan que la maniobra obstétrica fue la técnica más empleada en un 52%, cesárea 27% y fitotomía 21%. Marinho *et al.* (2009), que analizaron 195 casos de distocia que se resolvieron por cesárea 110 (56,4%) y por maniobras obstétricas 85 (43,6%).

La mayor proporción de vientres con distocia fueron descartados del sistema. Dematawewa y Berger (1997), en un estudio para evaluar los efectos de las distocias en holstein, describieron que la mortalidad de vacas con dificultad de parto aumentaba progresiva y significativamente en la medida que se incrementaba el grado de dificultad de la distocia. Krasniansky Caceres (2014), observó una eliminación del 12% en aquellas

madres que tienen partos con ayuda intensa, mientras que en los normales la tasa fue del 9%. Marinho *et al.* (2009), en sus estudios determinaron que sobrevida de la madre es del 83,59%.

## **CONCLUSIONES**

La evaluación de parto de receptoras de embriones producidos *in vitro*, permite concluir en que la utilización de esta biotecnología ocasionada en una alta incidencia de partos complicados.

Se podría inferir en que los motivos más importantes que los ocasionaron fueron el alto peso al nacer de los terneros y el sexo, ya que se evidenció una mayor proporción machos.

Al estudiar los partos distóicos se observó una baja mortalidad al nacimiento, siendo resueltos en su mayoría mediante maniobras obstétricas. No obstante, estas complicaciones generan alto porcentaje de descarte de receptoras para ser utilizadas nuevamente.

Luego del análisis de este estudio surge la necesidad de continuar investigación que permitan conclusiones más precisas sobre las causas que provocan distocias en terneros producidos *in vitro*, generando altos costos en la técnica consecuencia de las mermas que se producen por la pérdida de terneros de alto valor genético, así como también de receptoras que se descartan del sistema.

## BIBLIOGRAFÍA

- ANDOLFATO, G. M. 2014. Principais causas de distocia em vacas e técnicas para correção. Revista Científica de Medicina Veterinaria. 22, 5-25.
- ARTHUR, G.H. 1979. Reprodução e obstetrícia em veterinária. 4ta. Edición. Editorial Guanabara Koogan. Rio de Janeiro. 573.
- BORGES, M. C. B.; COSTA, J. N.; FERREIRA, M. M.; MENEZES, R. V.; CHALHOUB, M. 2006. Caracterização das distocias atendidas no período de 1985 a 2003 na Clínica de Bovinos da Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Bahia. Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal. 7(2), 87- 93.
- DEMATAWEWA, C.; BERGER, P. 1997. Effect of dystocia on yield, fertility, and cow losses and an economic evaluation of dystocia scores for Holsteins. Journal Dairy Science. 80, 754-761.
- FARIN, P. W.; PIEDRAHITA, J. A.; FARIN, C. E. 2006. Errors in development of fetuses and placentas from in vitro-produced bovine embryos. Theriogenology. 65, 178-191.
- GALLI, C.; DUCHI, R.; CROTTI, G.; TURINI, P.; PONDERATO, N.; COLLEONI, S. 2003. Bovine embryo technologies. Theriogenology. 59, 599–616.
- GRUNERT, E.; BIRGEL, E.H. 1989. Obstetrícia veterinária. 3ra. Edición. Editora Sulina. Porto Alegre. 323.
- HERRADÓN, P. G.; QUINTELA, L. A.; BECERRA, J. J.; RUIBAL, S.; FERNANDEZ, M. 2007. Fecundación in-vitro: alternativa para mejora genética en bovinos. Archivos Latinoamerica Producción Animal. 15, 34-39.
- IKEDA, T. L. 2009. Anormalidades fetais e placentarias decorrentes da produção in-vitro de embriões bovinos. Trabalho de conclusão de curso (bacharelado - Medicina Veterinária) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu, 2009. Disponible en: <<http://hdl.handle.net/11449/119446>>.
- JOHANSON, J.M.; BERGER, P.J. 2003. Birth weight as a predictor of calving ease and perinatal mortality in Holstein cattle. Jornal of Animal Science. 86, 374-375.
- KRASNIANSKY CÁCERES, K. 2014. Efecto de la distocia sobre el rendimiento productivo de vacas lecheras de la zona central de chile. Tesis de grado,

Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias. Disponible en  
<http://repositorio.uchile.cl/handle/2250/131735>

- KRUIP, T. A.; DEN DAAS, J. H. G. 1997. In vitro produced and cloned embryo: effect on pregnancy, parturition and offspring. Theriogenology. 47, 43-52.
- LANDIM-ALVARENGA, F.C. 2006. Patologias da Gestação. En: Obstetrícia Veterinária. 1ra Edição. Editorial Guanabara Koogan. Rio de Janeiro. 132-133.
- MARINHO, P.; LIZASUAIN, M.; SANNER, A.; MORAES, J. 2009. Análisis de la casuística de campo de las distocias en el bovino. XXXVII Jornadas Uruguayas de Buiatría. 144-145.
- MEE, J. 2012. Prevalence and Risk Factors for Dystocia in Dairy Cattle – With Emphasis on Confinement Systems. WCDS Advances in Dairy Technology. 24, 113-125.
- MEYER, C. L.; BERGER, P. J.; THOMPSON, J. R.; SATTLER, C. G. 2001. Genetic evaluation of Holstein sires and maternal grandsires in the United States for perinatal survival. Journal Dairy Science. 84, 1246-1254.
- MORELLI, M.; MUNIZ, F. 2009. Casuística de causas de distocia, en las cuales fue requerida la asistencia del veterinario principales causas y resoluciones. Tesis de grado, Universidad de la República (Uruguay). Facultad de Veterinaria. 35-37.
- NOAKES, D.E. 1992. Fertilidade e Obstetrícia nos Bovinos. Editorial Andrei. São Paulo. 72-75.
- NUMABE, T.; OIKAWA, T.; SATOH, H.; TAKADA, N.; HORIUCHI, T. 1997. Birthweights of calves conceived by transfer of Japanese Black Cow embryos produced in vitro. Theriogenology. 47, 378.
- PALMA, G. A. 2001. Biotecnología de la Reproducción. 1ra Edición. Ediciones INTA. Argentina. 225-282.
- PRESTES, N. C.; ALVARENGA, F. C. L. 2006. Obstetrícia Veterinária. Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 241.
- RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; HINCHCLIFF, K.W.; CONSTABLE, P.D. 2007. Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats. 10th ed. Saunders Elsevier. Philadelphia. 132- 137.

- STACCHEZZINI, S.; FABARO, P.; CREMONESI, F. 1997. Field experiences with the transfer of in vitro or in vivo derived Piedmontese embryos in holstein recipients. *Theriogenology*. 47, 381.
- TAVARES, I. K.; MAGALHÃES, L. F.; DE OLIVEIRA, F. C.; LIMA, G. P.; MAGALHÃES, G. M. 2015. A relação da evolução das técnicas de criação e o advento das biotecnologias da reprodução com a incidência de distocias em bovinos. *Revista Investigação Medicina Veterinária*. 14, 91-97.
- URREGO, R.; RODRIGUEZ-OSORIO, N.; NIEMANN, H. 2014. Epigenetic disorders and altered gene expression after use of assisted reproductive technologies in domestic cattle. *Epigenetics*. 9 (6), 803-815.
- VAN WAGTENDONK-DE LEEUW, A. M.; AERTS, B. J. G.; DEN DAAS, J. H. G. 1998. Abnormal offspring following in vitro production of bovine preimplantation embryos: a field study. *Theriogenology*. 49(5), 883-894.
- WILSON, J.M. 1995. Comparison of birth weight and characteristics of bovine calves produced by nuclear transfer and natural mating. *Animal Reproduction Science*. 38, 73-83.
- YOUNG, L. E.; SINCLAIR, K. D.; WILMUT, I. 1998. Large offspring syndrome in cattle and sheep. *Reviews of reproduction*. 3(3), 155-163.
- MERTON, J. S.; VAN WAGTENDONK-DE LEEUW, A. M.; DEN DAAS, J. H. G. 1998. Factors affecting birthweight of IVP calves. *Theriogenology*. 19, 293.