

SECCIÓN COMUNICACIONES CORTAS

Resultados de la técnica quirúrgica de transferencia embrionaria en cerdas.

Ramos, S.J.; Vélez, C.L.; Nicolás, A.; Miguel, M.C.; Rossetto, L.; Gorra Vega, M.C.; Quiróz, A.; Succurro, A.H.; Lloveras, G.R.; Marigo, W.G.; Rodríguez, S. y Pechin, G.H.

Pp. 19-28

## Resultados de la técnica quirúrgica de transferencia embrionaria en cerdas.

**Ramos, S.J.<sup>1</sup>; Vélez, C.L.<sup>1</sup>; Nicolás, A.<sup>1</sup>; Miguel, M.C.<sup>1</sup>; Rossetto, L.<sup>1</sup>; Gorra Vega, M.C.<sup>1</sup>; Quiróz, A.<sup>1</sup>; Succurro, A.H.<sup>1</sup>; Lloveras, G.R.<sup>2</sup>; Marigo, W.G.<sup>1</sup>; Rodríguez, S.<sup>1</sup> y Pechin, G.H.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Cátedra de Producción Porcina. Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLPam, General Pico, La Pampa, Argentina.

<sup>2</sup>Genporc, Genética y Biotecnología, San Antonio de Areco, Buenos Aires, Argentina.

sramos@vet.unlpam.edu.ar

### RESUMEN

La transferencia embrionaria en la especie porcina permite la introducción de material genético de otros países o de distintas regiones dentro del mismo país con un mínimo riesgo sanitario. Además, no posee las complicaciones logísticas asociadas al transporte, cuarentena, bienestar animal y costos derivados del desplazamiento de animales vivos. Este trabajo tiene como objetivo comunicar la puesta a punto de la técnica de transferencia embrionaria quirúrgica en porcinos. Se seleccionaron dos cachorras como donantes de embriones y una cerda destetada como receptora. La detección del celo se realizó mediante presión lumbar en presencia de un padrillo. La inseminación artificial se llevó a cabo con semen fresco refrigerado, a las 12, 24 y 36 h luego de la detección del reflejo de inmovilidad. El lavado uterino de las donantes se realizó 5 días después de la segunda inseminación. El proceso quirúrgico incluyó anestesia y laparotomía abdominal para el lavado uterino de las cerdas donantes y transferencia quirúrgica de embriones en la cerda receptora anestesiada. Se aplicó medicación analgésica y antiespasmódica durante todo el procedimiento. El diagnóstico de gestación se realizó por el no retorno al celo entre los días 18 a 23 luego del servicio, con confirmación por medio de ecografía abdominal entre los días 24 a 30. Se observó de manera semanal la gestación positiva hasta el momento del parto (28/12/2021). El mismo fue asistido y se relevaron parámetros fisiológicos y productivos de los lechones nacidos. Los resultados obtenidos en este trabajo demuestran que es una técnica potencialmente aplicable y alientan a seguir desarrollando y perfeccionando esta línea de investigación.

Palabras clave: transferencia embrionaria, técnica quirúrgica, cerdos.

### Surgical technique for embryo transfer in sows: first work at UNLPam

#### ABSTRACT

Embryo transfer in the pig species allows the introduction of genetic material from other countries or from different regions within the same country with minimal health risk. In addition, it does not have the logistical complications associated with



transportation, quarantine, animal welfare and costs derived from the movement of live animals. This study aims to communicate the development of surgical embryo transfer technique in pigs. Two gilts were selected as embryo donors and one sow was selected as recipient. Detection of heat was carried out using lumbar pressure in the presence of a boar. Artificial insemination performed with fresh refrigerated semen, at 12, 24 and 36 h after the detection of the immobility reflex. Uterine lavage of the donors was performed on the fifth day after the second insemination. The surgical process included anesthesia and abdominal laparotomy for uterine lavage of the donor pigs and surgical embryo transfer in the anesthetized recipient sow. Analgesic and antispasmodic medication was applied throughout the procedure. The diagnosis of pregnancy was made by non-return to heat between days 18 to 23 after service, with confirmation by abdominal ultrasound between days 24 to 30. Positive pregnancy was monitored weekly until farrowing (12/28/2021). It was assisted and physiological and productive parameters of the piglets born were measured. The results obtained in this work demonstrate that this is a potentially applicable technique and encourage further development and refinement of this line of research.

Keywords: embryo transfer, surgical technique, pigs.

## INTRODUCCIÓN

La tecnología de la transferencia embrionaria en la especie porcina permite el movimiento de material de alto valor genético con mínimo riesgo de transmisión de enfermedades, menores costos de transporte y ausencia de efectos negativos sobre el bienestar animal durante el transporte (Martínez *et al.*, 2019). En nuestro país, por ejemplo, podría acelerar el mejoramiento genético de empresas situadas al sur de la barrera sanitaria del Río Colorado, ya que, a través de la misma, no está permitido el movimiento de cerdos vivos. El uso de esta tecnología ha recibido un especial interés en las últimas décadas ya que el cerdo es crecientemente utilizado como modelo de investigación en diferentes enfermedades humanas y en xenotrasplantes, para lo que se requiere la producción de animales transgénicos o genéticamente modificados (Walters *et al.*, 2017; Hoffe y Holahan, 2019; Hou *et al.*, 2022).

La eficiencia reproductiva en una granja porcina puede ser medida de varias maneras dependiendo la fase del ciclo que se desee evaluar: porcentaje de parición, peso al nacimiento y destete, cantidad de lechones nacidos totales, vivos, muertos y número de lechones destetados. Existen numerosas evidencias científicas que señalan a las pérdidas embrionarias como el factor principal que limita el desempeño reproductivo de las cerdas (Edwards *et al.*, 2012) y este tema resulta de especial interés en la transferencia embrionaria. La implantación embrionaria es una acción clave de la fisiología reproductiva en la cerda, que comienza alrededor de los 8-10 días de gestación y es resultado de una serie de procesos tisulares complejos que se inicia con la fijación del blastocisto en el útero y termina con la formación definitiva de una placenta.

La intervención quirúrgica entre los días 2 a 6 posteriores a la inseminación y previos al inicio del proceso de implantación embrionaria, permite desarrollar diversas biotecnologías reproductivas, una de las cuales es la transferencia embrionaria quirúrgica. En general, la transferencia embrionaria puede definirse como un conjunto

de medidas que incluye los siguientes pasos de trabajo: (I) selección y estimulación de cerdas donantes, (II) recuperación de embriones, (III) manipulación de embriones, es decir, evaluación morfológica, almacenamiento intermedio, cultivo y transporte, y (IV) la transferencia de embriones recuperados a receptoras (Brüssow *et al.*, 2018).

Normalmente, la cerda ovula alrededor de 15 a 20 ovocitos en cada ciclo sexual. Sin embargo, para la transferencia de embriones es deseable recuperar un mayor número de embriones. Para lograrlo, se utilizan gonadotropinas exógenas que producen un mayor número de ovocitos ovulados, fenómeno denominado "superovulación". La respuesta superovulatoria depende de la raza. Se pueden recuperar 20-25 embriones transferibles en razas maternas y un número significativamente menor en razas terminales (Rátky *et al.*, 2001). La recuperación de los embriones se logra quirúrgicamente bajo anestesia general, con el tracto genital expuesto a través de una incisión ventral media, que involucra un lavado retrógrado de los oviductos y/o cuernos uterinos. La técnica de lavado endoscópico mínimamente invasiva descrita por Brüssow y Rátky (1996) y Besenfelder *et al.* (1997) permite, hasta cierto punto, la recolección repetida de embriones. Hasta el momento, debido a la anatomía del tracto genital porcino, no se ha informado de una recolección exitosa de embriones de forma no quirúrgica (Brüssow *et al.*, 2018).

Los embriones se pueden recuperar en diferentes estadios de desarrollo. En la etapa de 1 a 4 células, se recuperan desde el oviducto y los que están en la etapa de 8 células hasta el blastocisto eclosionado se encuentran en el cuerno uterino. Después del lavado, se realiza un examen morfológico y se clasifica en embriones transferibles o no transferibles (Brüssow y Kauffold, 1989). Las cerdas donantes y receptoras de embriones deben encontrarse en el mismo día del ciclo reproductivo para alcanzar resultados óptimos (Brüssow y Schneider, 1993), aunque existen trabajos que reportan transferencias asincrónicas con diferencias entre donantes y receptoras de hasta 1 día en el ciclo reproductivo (Webel *et al.*, 1970; Pope *et al.*, 1986).

El objetivo del presente estudio fue comunicar la puesta a punto de la técnica de transferencia embrionaria quirúrgica en cerdas, utilizando una relación donante-receptora de 2 a 1, con el propósito de evaluar resultados reproductivos y analizar la factibilidad económica a nivel comercial.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **- Animales:**

Se trabajó con hembras híbridas de razas maternas, Landrace x Yorkshire. Se utilizaron dos categorías de animales. En la categoría donantes, se incluyeron 2 cachorras de primer servicio de 8 meses de edad, con 135 a 140 kg de peso vivo y que habían manifestado su tercer celo visible. En la categoría de receptoras se trabajó con una cerda adulta de tercera parición, de 20 meses de edad y 200 kg de peso vivo. Todos los procedimientos realizados en los animales fueron aprobados por la Comisión Asesora Interna para el Cuidado y Uso de Animales de Experimentación (CAICUAE) de la Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Pampa (29/12/2021).

### **- Alojamiento:**

Las reproductoras (donantes y receptora) fueron alojadas en el Centro de Genética porcina de la Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLPam, ubicado en el campo escuela UDEP Dr. Hugo Roberto Álvarez, las mismas, fueron alojadas bajo las mismas

condiciones de ventilación, temperatura, iluminación, alimentación y libre acceso al agua de bebida.

- Manejo de los animales y Transferencia Embrionaria:

#### 1- Detección de celo

. La detección de celo fue observado utilizando el método de presión lumbar, se realizó 2 veces al día: por la mañana, a las 8 h, luego de la alimentación, y a última hora de la tarde. Para ayudar en la detección de celo, se utilizó un macho entero, el que pasó por delante de las cerdas para su estimulación, mientras un operario realizaba presión en la zona lumbar de las hembras. Los animales que presentaron reflejo de inmovilidad ante la prueba de presión lumbar y en presencia del macho fueron consideradas en celo, tomando ese momento como la hora cero del mismo.

#### 2 - Inseminación artificial

Se realizó la técnica de IA cervical, en la cual se usaron catéteres comerciales para la IA tradicional. Se utilizó semen fresco con una concentración de  $3 \times 10^9$  espermatozoides por dosis inseminante (volumen de 100 ml) y se administraron 3 dosis por animal: la primera dosis 12 horas después de iniciado el celo, mientras que la segunda y tercera dosis se introdujeron a las 24 y 36 horas del inicio del mismo. Para la técnica de IA se introdujo el catéter apuntando hacia el techo de la vagina (evitando introducir el catéter en el meato urinario); luego se colocó el catéter de forma horizontal con respecto al suelo y se introdujo hasta que la sonda se encontró con la entrada del cérvix, empujando suavemente hacia adelante. Luego del depósito del total del semen (duración 4 a 5 minutos), se procedió a retirar el catéter. Durante todo el proceso de inseminación, se presionó el anca del animal con las manos, para estimular el reflejo de inmovilidad, a modo de simular el efecto que produce el macho durante la monta natural.

La recolección de embriones se obtuvo mediante el lavado uterino 5 días posterior a la IA, para ello fue necesario realizar anestesia, asepsia y cirugía laparoscópica.

La anestesia de las cerdas donantes utilizó como medicación pre-anestésica ketamina, 15 mg/kg por vía intramuscular (IM), y xilacina, 3 mg/kg IM, a la hora cero del procedimiento anestésico. Posteriormente, se administró por vía endovenosa (EV) solución fisiológica de cloruro de sodio al 0,9 % con cristaloides de mantenimiento. En la etapa de inducción (25 minutos posteriores al inicio), se administró midazolam al 0,5 %, 0,15 mg/kg EV, y se intubó por vía oro-traqueal con tubo Nº 7, conectándolo a un ambú (bolsa autoinflable). Luego se ubicó al paciente en decúbito supino sobre camilla a 45°, donde se lo conectó a un oxímetro de lengua para su monitoreo. Como medicación analgésica y antiespasmódica se administró dipirone, 50 mg/kg por vía EV, luego de la inducción y a las 8 h de la primera administración, por vía IM. La anestesia del paciente se sostuvo con xilacina, 0,6 mg/kg EV, y ketamina, 3 mg/kg EV. El tubo se quitó entre 15 y 20 minutos luego de finalizado el procedimiento quirúrgico. Este protocolo anestésico ha sido descrito previamente por Miguel *et al.* (2023).

Una vez anestesiada y sobre la camilla se procedió al lavado y desinfección de la zona abdominal del paciente. Para ello se utilizó agua en cantidad suficiente, jabón neutro y yodo povidona. Luego de la limpieza, se colocaron paños de campo estériles y se procedió con la técnica de laparotomía.

#### 3 - Lavaje uterino de cerdas donantes:

La técnica de colecta de embriones inició con una incisión por línea media de 5 a

6 centímetros, con hoja de bisturí N° 24 (Printex). Se expusieron los cuernos uterinos y se realizó una incisión por desgarró con pinza Allis; luego se introdujo la sonda Foley N° 16 y se procedió al lavaje de cada cuerno. La introducción del líquido se realizó desde el extremo de cada cuerno (últimos 10 cm) con 30 ml de solución Ringer lactato atemperado a 39°C como medio de lavaje. El medio recuperado fue colocado en placas estériles de búsqueda de embriones. Luego de retirar la sonda se realizó un punto en X sobre el perimetrio. Este proceso se repitió en el otro cuerno uterino. Finalizado el lavaje de ambos cuernos, se introdujeron nuevamente en la cavidad pélvica y se realizó sutura de capas musculares, para la cual se utilizó nylon monofilamento N° 4,0 y 3 puntos simples en U, procedimiento basado en los trabajos pioneros de Kvasnicki (1951).

La búsqueda de los embriones se realizó utilizando una lupa estereoscópica (Nikon, Japón) y los mismos fueron almacenados en placas de 6 Wells estériles, con medio de cultivo Holding (Serendipia Lab, Argentina), atemperado a 39 °C en platina térmica. Posteriormente, fueron clasificados como mórulas y blastocistos de grado 1 y 2 (muy bueno y bueno, respectivamente). Para realizar la transferencia, los embriones seleccionados se cargaron en un catéter urinario estéril (Tomcat).

Una vez clasificados los embriones, se procedió a la sedación de la cerda receptora. Para ello se repitió el procedimiento de sedación y anestesia que se aplicó a las cerdas donantes. A diferencia de la cirugía realizada para la colecta de embriones en donantes, la incisión en las receptoras fue de 2 cm, se expuso sólo parte del útero y se realizó una pequeña incisión por desgarró con alambre de acero quirúrgico estéril de 3 mm de diámetro, por donde se introdujo el catéter y se depositaron los embriones. Luego de la implantación se suturaron los planos musculares, como se mencionó en el procedimiento de este documento.

El diagnóstico de preñez se realizó en la sala de gestación, en primera instancia se observó el no retorno a celo de la cerda transferida entre el día 18 y 23 del ciclo, como método indirecto de detección de preñez, y luego fue confirmada mediante ultrasonografía transabdominal entre el día 24 y 30 del ciclo con el reconocimiento de vesículas embrionarias y embriones normales. Se utilizó un ecógrafo portátil (SonoScape v5, Shenzhen, China) con sonda sectorial y con una frecuencia de 3,5 a 5,5 Mhz. La maniobra consistió en apoyar el traductor con gel obstétrico en la zona abdominal ubicada a la altura de la penúltima glándula mamaria y orientarlo hacia el flanco opuesto.

Durante el resto de la gestación se repitió esta maniobra semanalmente, momento en el que se evaluó el correcto desarrollo de las vesículas embrionarias, se midió el diámetro de los embriones y se lo contrastó con valores de referencia según el estadio gestacional. A partir de la semana 4 de gestación se visualizaron embriones dentro de las vesículas embrionarias, a partir del día 38 a 40 se observaron fetos con relativa facilidad y se reconocieron diversas estructuras anatómicas del feto. A partir del día 55 a 60 de gestación se observaron los latidos cardíacos. Esta prueba de viabilidad se utilizó hasta la semana previa al parto.

El parto se desarrolló de manera natural, sin inducción y tuvo una duración de 2,5 h. Se asistieron los lechones al nacer y se los secó con polvo secante; posteriormente se realizó corte y desinfección del cordón umbilical, se proporcionó una fuente de calor artificial durante 15 minutos y se realizó el calostro de los lechones, el procedimiento de parto se dio por finalizado cuando la cerda expulsó la totalidad de la placenta.

## RESULTADOS

Se recuperaron 36 embriones en total, provenientes de dos cerdas donantes, de los cuales 21 embriones fueron aptos para transferencia (58,4 %) y 15 se clasificaron como no aptos (41,6 %).

De la primera donante se recuperaron 16 embriones, de los cuales, 10 (62,5 %) se encontraban fertilizados (Grado 1 y 2) y 6 se encontraban detenidos en diferentes estadios de división (37,5 %)(Imagen 1).



**Imagen 1:** Embriones fertilizados de grado 1 y 2 en estadio de mórula y embriones detenidos en diferentes estadios de división.

De la segunda donante se recuperaron 20 embriones, de los cuales, 11 (55 %) se encontraban fertilizados (Grado 1 y 2), 3 detenidos en diferentes estadios de división (15 %) y 6 no fertilizados (30 %).

Se implantaron en la cerda receptora 21 embriones, 16 de grado 1 y 5 de grado 2. No se registró el porcentaje de embriones de grado 1 y 2 de cada cerda, ya que se trabajó con pool de embriones (Imagen 2).



**Imagen 2:** Transferencia embrionaria quirúrgica.

La recuperación de las cerdas donantes y receptoras fue buena, alimentándose con normalidad 3 horas posteriores a la cirugía. Tampoco se observaron complicaciones en semanas posteriores.

El resultado de este trabajo logró una gestación normal, concluyendo 110 días posteriores a la transferencia embrionaria, el día 28 de diciembre de 2021, con el nacimiento de 6 lechones viables con un peso promedio de 1.400 gramos, 1 lechón a término sin vida de igual peso y un feto momificado de menor tamaño (Imagen 3). De los 6 lechones nacidos vivos, 4 fueron hembras y 2 machos. El desempeño productivo de toda la camada fue normal.



**Imagen 3:** Lechones nacidos por transferencia embrionaria quirúrgica.

## **DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES**

El desarrollo de la técnica cumplió con los siguientes principios de bioética en la investigación con animales: 1) Reducción del número de animales, 2) Refinamiento de la técnica y 3) Reemplazo de animales por otras técnicas.

1- El número de animales utilizado fue el menor posible. Esto implicó utilizar dos cerdas donantes por cada receptora, ya que, si bien teóricamente una cerda podría ovular hasta 25 a 30 óvulos, la fertilidad y la recuperación en el lavaje no son del 100 %. Si sólo se hubiera utilizado una cerda donante por cada receptora se podría haber recuperado una cantidad insuficiente de embriones de buena calidad que garanticen una preñez y un parto a término.

2- El momento de la cirugía es el más estresante para la cerda y fue la etapa en la que se tomaron los mayores recaudos, tanto en la inducción, sostén y monitoreo anestésico como en la asepsia, velocidad en el procedimiento quirúrgico y el control de pronta recuperación postquirúrgica.

3- Existen a nivel mundial equipos de investigadores que están trabajando en la producción *in vitro* de embriones porcinos. Para ello se trabaja con ovarios de frigorífico, de animales que van a faena o de cerdas donantes vivas y se utiliza la técnica de transferencia no quirúrgica para evitar el estrés en los animales (Martínez *et al.*, 2004). En esta experiencia utilizamos animales *in vivo* para recuperar los embriones y la transferencia fue de forma quirúrgica. El valor reproductivo de las dos cerdas donantes ha sido un factor preponderante a la hora de seleccionar esta técnica.

El motivo de este trabajo fue poner a punto la técnica quirúrgica de transferencia de embriones porcinos. En nuestro país, esta tecnología fue implementada por primera vez por el Dr. Alejandro Wüst, de la Universidad Nacional de Lomas de Zamora, quien logró el primer nacimiento de lechones en una cerda receptora el día 24 de agosto de 1985 (diario Tiempo Argentino, 31/8/1985). Actualmente, existen algunos grupos de trabajo de otras universidades que están realizando investigaciones en transferencia quirúrgica y no quirúrgica de embriones, como por ejemplo en la Universidad de Buenos Aires (Luchetti *et al.*, 2017). Claramente, la técnica quirúrgica requiere mayores cuidados del animal, además de mayores insumos, recursos humanos capacitados, logística y, por ende, mayores costos. Diversos equipos de trabajo interdisciplinarios a nivel mundial trabajan en la tecnología de xenotrasplantes, donde el modelo animal es el porcino. Esta es otra importante tecnología que demandará en el futuro equipos de veterinarios que dominen los procedimientos de transferencia embrionaria.

En la actualidad diversos grupos de trabajo están investigando y analizando adaptar otras técnicas *in vitro* relacionadas con la transferencia de embriones, como la fertilización y el cultivo *in vitro*, la criopreservación/vitrificación, la producción *in vitro* de embriones idénticos (bisección, proliferación de blastómeros individuales), transferencia nuclear (clonación), sexado y transferencia de genes. Los trabajos con embriones producidos *in vitro* demandan seguir trabajando para mejorar los resultados obtenidos (Valadão *et al.*, 2020). Diferentes grupos de investigación a nivel mundial están utilizando la transferencia no quirúrgica de embriones vitrificados, con catéteres intrauterinos menos invasivos, con depósito de embriones en la primera porción de los cuernos uterinos, con resultados de preñez del 60 % y tasa de partos efectiva de hasta el 21 % (Tajima *et al.*, 2020). Estas técnicas necesitan procedimientos especiales de manipulación y cultivo, lo que conlleva un alto costo, por lo que es imprescindible tener puesta a punto la técnica de transferencia para que la gestación tenga éxito.

En nuestro estudio, la transferencia quirúrgica de embriones puede considerarse exitosa ya que se obtuvo el nacimiento de un número importante de

lechones viables. El desarrollo de este tipo de técnicas reproductivas tendrá un gran impacto futuro, tanto en la conservación del estatus sanitario nacional, en la conservación de material genético y, posiblemente, en el desarrollo de avances en salud humana a través de la tecnología de xenotrasplantes.

## BIBLIOGRAFÍA

Besenfelder, U.; Mödl, J.; Müller, M. y Brem, G. (1997). *Endoscopic embryo collection and embryo transfer into the oviduct and the uterus of pigs*. *Theriogenology*, 47(5), 1051-1060. [https://doi.org/10.1016/s0093-691X\(97\)00062-9](https://doi.org/10.1016/s0093-691X(97)00062-9).

Brüssow, K.; Rátky, J.; Antosik, P.; Kempisty, B. y Jaśkowski, J. (2018). *Embryo transfer in swine – an indispensable key for the application of reproductive techniques*. *EJPAU* 21(3). <https://doi.org/10.30825/5.EJPAU.782018.21.3>.

Brüssow, K.-P. y Kauffold, M. (1989). *Method of embryo transfer in swine*. *Mh Vet.-Med.*, 44, 312-317.

Brüssow, K.-P. y Rátky, J. (1996). *Endoscopic collection of porcine embryos*. *Reproduction in Domestic Animals*, 31(3), 711-715. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.1996.tb01443.x>.

Brüssow, K.-P. y Schneider, F. (1993). *Steroid hormone secretion in donor gilts after superovulation induction and the possible influence on embryo quality and transfer success*. *Mh Vet.-Med.*, 48, 405-411.

Edwards, A.K.; Wessels, J.M.; Kerr, A. y Tayade, C. (2012). *An overview of molecular and cellular mechanisms associated with porcine pregnancy success or failure*. *Reproduction in Domestic Animals*, 47(Suppl. 4), 394-401. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2012.02103.x>.

Hoffe, B. y Holahan, M.R. (2019). *The use of pigs as a translational model for studying neurodegenerative diseases*. *Frontiers in physiology*, 10, 838. <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00838>.

Hou, N.; Du, X. y Wu, S. (2022). *Advances in pig models of human diseases*. *Animal Models and Experimental Medicine*, 5(2), 141-152. <https://doi.org/10.1002/ame.12223>.

Kvasnicki, A.V. (1951). *Interbreed transplantation of ova*. *Sovetskaya Zootechnika*, 1, 36.

Luchetti, C.G.; Renoulin, E.G.; Salamone, D.F. y Lombardo, D.M. (2017). *Transferencia embrionaria quirúrgica y no quirúrgica en porcinos: experiencia inicial*. V Jornadas Internacionales Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal (INITRA), 16 al 19 de mayo de 2017, Libro de resúmenes, p. 123. <https://www.fvet.uba.ar/archivos/publicaciones/invet/vol19-1-2017/Resumenes-V-Jornadas-INITRA-2017-FINAL-8-02-2018.pdf>

Martínez, E.A.; Caamaño, J.N.; Gil, M.A.; Rieke, A.; Mccauley, T.C.; Cantley, T.C. et al. 2004. *Successful nonsurgical deep uterine embryo transfer in pigs*. *Theriogenology*, 61:137-46.

Martínez, E.A.; Martínez, C.A.; Cambra, J.M.; Maside, C.; Lucas, X.; Vázquez, J.L. et al. (2019). *Achievements and future perspectives of embryo transfer technology in pigs*. *Reproduction in Domestic Animals*, 54 (Suppl. 4), 4-13. <https://doi.org/10.1111/rda.13465>.

Miguel, M.C.; Gorra Vega, M.C.; Nicolás, A.; Rosetto, L.; Vélez, C.; Quiróz, A.; Meder, A.R. y Ramos, S. (2023). *Descripción de tres protocolos anestésicos fijos en cerdas sometidas a transferencia embrionaria quirúrgica*. *Vetec*, 5(1), 30-36. <https://cerac.unlpam.edu.ar/index.php/Vetec/article/view/8063>.

Pope, W.F.; Lawayer, M.S.; Nara, B.S. y First, N.L. (1986). *Effect of asynchronous superinduction on embryo survival and range of blastocyst development in swine*. *Biology of Reproduction*, 35(1), 133-137. <https://doi.org/10.1095/biolreprod35.1.133>.

Rátky, J.; Brüssow, K.-P.; Solti, L.; Torner, H. y Sarlós P. (2001). *Ovarian response, embryo recovery and results of embryo transfer in a Hungarian native pig breed*. *Theriogenology*, 56, 969-978. [https://doi.org/10.1016/S0093/691X\(01\)00623-9](https://doi.org/10.1016/S0093/691X(01)00623-9).

Tajima, S.; Motoyama, S.; Wakiya, Y.; Uchikura, K.; Misawa, H.; Takishita, R. et al. (2020). *Piglet production by non-surgical transfer of vitrified embryos, transported to commercial swine farms and warmed on site*. *Animal Science Journal*, 121, 145-151. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2010.05.004>.

Valadão, L.; Silva, H.; Kajabova, S. y Moreira da Silva, F. (2020). *In vitro production of porcine embryos: A descriptive approach, limitations and applications*. *Biomedical Journal of Scientific & Technical Research*, 265(2):19876-19881. <https://doi.org/10.26717/BJSTR.2020.26.004337>.

Walters, E.M.; Wells, K.D.; Bryda, E.C.; Schommer, S. y Prather, R.S. (2017). *Swine models, genomic tools and services to enhance our understanding of human health and diseases*. *LabAnimal*, 46(4), 167-172. <https://doi.org/10.1038/lablan.1215>.

Weibel, S.K.; Peters, J.B. y Anderson, L.L. (1970). *Synchronous and asynchronous transfer of embryos in the pig*. *Journal of Animal Science*, 30(4), 565-568. <https://doi.org/10.2527/jas1970.304565x>.