UNIVERSIDAD SAN SEBASTIAN

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA
CARRERA MEDICINA VETERINARIA
SEDE CONCEPCIÓN

TÉCNICAS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA PARA LA CONSERVACIÓN DE MAMÍFEROS AMENAZADOS. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Memoria para optar al título de Médico Veterinario

Profesor Patrocinante: DCs. Juana Paola Correa Galaz. MV

Estudiante: Andrés Ignacio Álvaro Mosso Vidal

® Andrés Ignacio Álvaro Mosso Vidal.

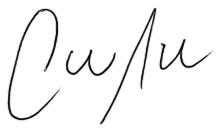
Se autoriza la reproducción parcial o total de esta obra, con fines académicos, por cualquier forma, medio o procedimiento, siempre y cuando se incluya la cita bibliográfica del documento.

Concepción, Chile

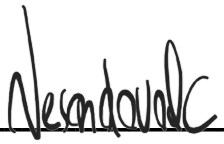
2025

HOJA DE CALIFICACIÓN MEMORIA DE TÍTULO

En Concepción, el 8 de julio del año 2025 los abajo firmantes, dejan constancia que el estudiante ANDRÉS IGNACIO ÁLVARO MOSSO VIDAL de la carrera de MEDICINA VETERINARIA, ha aprobado la memoria para optar al título profesional de MÉDICO VETERINARIO con una nota de 5,9.



Mg Camila Altamirano, MV
Profesor evaluador



Mg Nelson Sandoval, MV
Profesor evaluador

DCs Juana Correa, MV
Profesor evaluador

TABLA DE CONTENIDOS

INDICE DE TABLAS V
INDICE DE FIGURAS VI
RESUMEN VII
ABSTRACT VIII
1. INTRODUCCIÓN 1
2. OBJETIVOS 6
3. MATERIAL Y MÉTODO 7
4. RESULTADOS 10
5. DISCUSIÓN 21
6. CONCLUSIONES 28
7. REFERENCIAS 29
8. ANEXOS 34

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Éxito de las TRA en especies amenazadas……18
Tabla 2. Relevancia del uso de TRA en especies no amenazadas……26
Tabla 3. TRA utilizadas en mamíferos silvestres según documentos analizados…….34

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Resultados del análisis de fechas de publicación, autores, países y afiliación sobre TRA empleando la herramienta Scopus.....……10
Figura 2. Visualización de las redes de trabajo relacionadas con el estudio sobre TRA en mamíferos silvestres……..……13
Figura 3. Mapa de co-ocurrencia de palabras claves respecto a la TRA inseminación artificial……..14
Figura 4. Mapa de co-ocurrencia de palabras claves respecto a la TRA fertilización in-vitro……15
Figura 5. Cantidad de estudios según TRA utilizada en mamíferos amenazados……16
Figura 6. Cantidad de estudios de TRA en mamíferos amenazados por país…….20

RESUMEN

Se ha descrito, según científicos, que actualmente vivimos en la sexta extinción masiva de la historia de la Tierra, con un gran número de especies en peligro de extinción, entre estos, se encuentran los mamíferos, de los cuales está establecido según la UICN (Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza) que un 27% de ellos están en peligro de extinción, demostrando el grave riesgo que existe hacia la biodiversidad de nuestro planeta.

Ante esta problemática surge la pregunta: ¿Podrían las técnicas de reproducción asistida (TRA) tener la clave para remediar el daño producido en mamíferos silvestres y que estos ya dejen de encontrarse en peligro de extinción? Para poder responder la pregunta se plantea el objetivo de analizar las TRA existentes y su eficacia realizando una revisión bibliográfica sistemática de publicaciones científicas aceptadas por la comunidad científica. Se usarán criterios de búsqueda, palabras claves y criterios de inclusión y exclusión.

Algunas de estas técnicas que se discuten en esta revisión bibliográfica son, por ejemplo, criopreservación, fecundación y maduración *in-vitro*, inseminación artificial y transferencia de embriones. El uso de estas TRA en mamíferos ha tenido éxito en varias especies, entre ellas algunas carismáticas como el león africano (*Panthera leo*) y el oso panda (*Ailuropoda melanoleuca*).

En este análisis bibliográfico, la TRA más utilizada fue la inseminación artificial con o sin criopreservación, aplicada en 53 registros de uso de TRA, abarcando 44 especies y 9 familias. Se registraron 51 especies en total, de las cuales 25 están amenazadas y 26 no, concentradas principalmente en las familias Felidae, Cervidae y Bovidae. La inseminación artificial mostró las mayores tasas de éxito, alcanzando hasta un 100% en algunos casos, seguida por la fertilización in-vitro con inyección intracitoplasmática de espermatozoides (60-70% de éxito), aunque los resultados variaron dependiendo del conocimiento específico sobre la especie. Aun así, el uso de TRA sigue limitado a pocas familias, dejando fuera muchas especies amenazadas según la UICN, como Atelidae, Lemuridae, Tapiridae, Manidae, entre otras. Por ello, se destaca la necesidad de extrapolar conocimientos desde especies bien estudiadas hacia aquellas sin datos reproductivos previos, priorizando la investigación en nuevas familias para fortalecer las estrategias de conservación mediante técnicas reproductivas.

Palabras claves: Técnica de reproducción asistida, conservación de especies silvestres, biotecnología.

ABSTRACT

According to scientifics, nowadays we live in the sixth massive extinction in the history of Earth, with a big number of endangered species, among these we find mammals, which according to the IUCN (International Union for Conservation of Nature) 27% of them are in threat of extinction, showing the high risk that exists thowards the biodiversity of our planet. In light of this problem comes up the following question: Could assisted reproductive techniques (ART) hold the key to mend the harm caused in wildlife mammals and that these stop being endangered? Some of the techniques discussed in this present document are: Cryopreservation, *in vitro* fecundation and maduration, artificial insemination and embryo transfer. The use of these ART applied to mammals have succeded in several species, among these some are considered carismatics such as the african lion (*Panthera leo*) and the panda bear (*Ailuropoda melanoleuca*). To answer the question, the objective is stated to analyze existent ART and its efficiency by making a systematic bibliographic review from accepted scientific publications by the scientific community. Searching criteria, key words and exclusion-inclusion criteria will be used.

In this bibliographic analysis, the most frequently ART used was artificial insemination, with and without cryopreservation, applied in 53 records of ART usage involving 44 species across 9 families. A total of 51 species were identified, of which 25 were classified as threatened and 26 as non-threatened, mainly belonging to the families Felidae, Cervidae, and Bovidae. Artificial insemination showed the highest success rates, reaching up to 100% in some cases, follows by in -vitro fertilization with intracycloplasmic sperm injection, with success rates ranging from 60% to 70%. However, outcomes varied depending on species-specific knowledge. Despite these advances, the application of ART remains limited to a small number of families, excluding many that incluse threatened species according to the IUCN, such as Atelidae, Lemuridae, Tapiridae, and Manidae, among others. Therefore, it is essential to extrapolate knowledge from well-studied species to those lacking reproductive data, and to prioritize research in new taxonomic groups in order to strengthen conservation strategies through reproductive technologies.

Key words: Assisted reproductive techniques, wildlife species conservation, byotechnology.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Definición de técnicas de reproducción asistida

Las técnicas de reproducción asistida (TRA) en medicina veterinaria son procedimientos y tecnologías utilizadas para ayudar en la reproducción de animales, mejorar las tasas de concepción, la calidad genética y la salud reproductiva de los animales, estas TRA se consideran herramientas cruciales para salvar y mantener especies en peligro de extinción (Comizzoli, 2015), por ejemplo, en felinos mayores se han realizado trabajos importantes para lograr preñeces exitosas, minimizando el estrés por captura. Estos estudios destacan la necesidad de conocer la fisiología de cada individuo. Se han empleado técnicas desde la extracción y evaluación de semen hasta la criopreservación de gametos, eclosión asistida, gestación por sustitución y clonación, con resultados prometedores para asegurar la continuidad de las especies (Bernal, 2018). En casos extremos como el del rinoceronte blanco del norte (*Ceratotherium simum cottoni*), cuya población global se redujo a solo dos hembras infértiles, la ciencia, a través de TRA combinadas con la biobanca de células vivas, desempeña un papel vital para restaurar tanto el número de la población como la diversidad genética (Hildebrandt & Holtze, 2024).

1.2 Técnicas de reproducción asistida disponibles

1.2.1 Criopreservación

La criopreservación tiene como objetivo el mantenimiento de la viabilidad y funcionabilidad celular a temperaturas bajas (Ávila-Portillo et al., 2006). La criopreservación de ovocitos se ha vuelto una práctica común para tratamientos de fecundación *in-vitro* en humanos, en Alemania alrededor de un tercio de todos los ciclos de fecundación *in-vitro* son realizados con ovocitos en descongelación, llevando a una tasa de preñez de 29.1% (Zahmel et al., 2021). Esta TRA representa una herramienta importante para preservar la diversidad de información genética y variedad de especies en peligro de extinción, particularmente la criopreservación de gametos ofrece el potencial inmediato de usar estas células directamente después de descongelar para producir crías con la ayuda de TRA, en contraste a los ovocitos, la criopreservación de células espermáticas es un método establecido (Zahmel et al., 2021).

1.2.2 Fecundación y maduración in-vitro

El término fecundación *In Vitro*, implica que esta se realiza en un laboratorio, ella involucra el control de los mecanismos de maduración e interacción de los gametos femeninos y masculinos en un ambiente artificial con el fin de producir embriones (Filipiak & Larocca, 2012). Los protocolos de fecundación *in-vitro* para el gato doméstico incluyendo maduración *in-vitro* han sido publicados varias veces, pocas veces han sido transferidos a otras especies de félidos, hay registros de maduración *in-vitro* de ovocitos de león africano (*Panthera leo*) con un 55% de éxito, lo cual es positivo, aunque queda trabajo por investigar, ya que es una tasa claramente menor a la del gato doméstico, el cual tiene éxito de 75% bajo las mismas condiciones (Zahmel et al., 2021). La inseminación intracitoplasmática es considerada como el método de fecundación de elección para ovocitos vitrificados, ya que hay una criolesión en ovocitos vitrificados que está descrita en varias especies, el cual es el endurecimiento de la zona pelúcida (Zahmel et al., 2021). Existe una investigación en donde teniendo 68 racimos de ovocitos extraídos postmortem de un ejemplar de león africano que tenía dos años de vida se pusieron en medios de cultivo y se les realizó una inyección intracitoplasmática de un congénere desarrollando posteriormente embriones viables para convertirse en futuros felinos (Bernal, 2018).

1.2.3 Inseminación artificial

La inseminación artificial es una técnica reproductiva ampliamente utilizada en diversas especies domésticas, donde el semen previamente procesado es depositado en el aparato reproductor de la hembra en el momento oportuno del ciclo estral (Alarcón, 2012). Actualmente es la TRA más ampliamente aplicada en animales silvestres, los éxitos iniciales fueron conseguidos en bóvidos por el desarrollo significativo de TRA en la producción de ganado, la inseminación artificial ha sido exitosamente aplicada para producir crías vivas en 14 especies de bóvidos no domésticas y 7 especies de cérvidos (Comizzoli, 2015).

1.2.4 Transferencia de embriones

La transferencia de embriones es una biotecnología que permite recolectar embriones de una hembra donante y transferirlos a las receptoras con el fin de completar el período de

gestación (Britos et al., 2020). El primer reporte de TRA en una especie salvaje fue de Kraemer et al. (1976) quien en realidad triunfó en la primera transferencia de embriones en babuinos (*Papio cynocephalus*). Fue seguida por una exitosa transferencia de embriones interespecies del antílope eland común (*Taurotragus oryx*) y bisonte de la India (*Bos gaurus*) a vaca doméstica y de bongo (*Tragelaphus euryceros*) a eland común (Dresser et al., 1985). Este temprano énfasis en tecnologías embrionarias en los 1980s, así como también en los 1990s fue seguido por un fuerte interés en clonación somática y, más recientemente, en acercamientos genómicos para "rescatar" o incluso resucitar especies extintas; independientemente, quedan grandes técnicas y desafíos ecológicos para su aplicación en conservación (Comizzoli, 2015).

1.3 Importancia de las TRA en la conservación de mamíferos en peligro de extinción

La Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) estima que el 26% de los mamíferos están amenazados con extinguirse (*The IUCN Red List of Threatened Species*, s. f.). El gato doméstico es el único modelo de especies permanentemente disponible para TRA en félidos, tanto la conservación y particularmente la reproducción y criopreservación se podrían beneficiar de estas técnicas ya que muchas especies de félidos están amenazadas en la naturaleza, estas poblaciones *ex-situ* están en aprietos ya que tienen un limitado número de animales sanos y que además se encuentran cada vez más dispersos entre ellos (Zahmel et al., 2021).

Muchas poblaciones de estas especies salvajes son pequeñas y se encuentran fragmentadas en su hábitat con poco o nada de intercambio genético, lo que incrementa la homocigocidad y endogamia, por lo tanto, lleva a una baja capacidad de adaptación a cambios ambientales, problemas de fertilidad y disminución del rendimiento ecológico (Gurrutxaga, 2006). En adición a proteger especies en su hábitat natural (conservación *in situ*), es necesario mantener poblaciones viables en cautiverio (*ex situ*) para eventuales reintroducciones. La reproducción en cautiverio puede verse afectada por espacio reducido, problemas de salud, dietas inadecuadas, comportamiento sexual alterado o infertilidad. La conservación puede optimizarse con TRA para abordar estos problemas (Comizzoli, 2015).

Para superar los desafíos de la crianza natural (incompatibilidad entre individuos o ambientes sub-óptimos) y mitigar la endogamia, se han desarrollado inseminaciones artificiales, producción y transferencia de embriones en más de 24 especies de gatos salvajes, algunos factores que limitan el éxito de TRA son respuestas inconsistentes a estimulación ovárica, calidad variable de gametos y embriones, y preparación de hembras receptoras (Thongphkadee et al., 2020).

1.4 Algunos casos exitosos con técnicas de reproducción asistida

Las TRA se han usado para mejorar la conservación incluso de especies carismáticas; que son queridas e importantes para muchas personas como, por ejemplo, el oso panda (*Ailuropoda melanoleuca*), del cual se han podido originar ejemplares gracias a la inseminación artificial (Comizzoli, 2015) o el león africano (Zahmel et al., 2021). Se ha demostrado vitrificación exitosa, maduración *in-vitro* y fertilización de ovocitos de león africano para almacenamiento de recurso genético y aunque el desarrollo de embrión haya sido perjudicado, estos resultados entregan esperanza de que no sólo el esperma de félidos, sino que también ovocitos pueden ser criopreservados y almacenados en biobancos en el futuro (Zahmel et al., 2021).

Las investigaciones y los estudios realizados en grandes felinos involucran a aquellos como: lince ibérico (*Lynx pardinus*), guepardo (*Acinonyx jubatus*), leopardo (*Panthera pardus*), puma (*Puma concolor*) y jaguar (*Panthera onca*) y están enfocados específicamente a la inseminación artificial y a la criopreservación de esperma y de embriones, resaltando que estas TRA han dado resultados satisfactorios para la reproducción exitosa de estas especies, y dejan en claro que estas acciones representarán una esperanza de recuperación y conservación de especies que se encuentran amenazadas con desaparecer (Sergio, 2018).

En estudios previamente se realizaron maduración *in-vitro* y fertilización de ovocitos de leonas y fueron capaces de producir embriones avanzados después de inyección de esperma intracitoplasmático con esperma criopreservada (Zahmel et al., 2021). De los ovocitos vitrificados 7 clivaron y 9 ovocitos más se detuvieron en la etapa pronuclear. Todos los embriones del grupo vitrificado no se desarrollaron más allá del estadío de 4

células. Esta es la primera vez que embriones de león africano provenientes de *in-vitro* han sido producidos siguiendo una vitrificación de ovocitos (Zahmel et al., 2021).

1.5 Justificación

La conservación de especies silvestres tiene una gran relevancia en la medicina veterinaria, principalmente por el hecho de que las actividades humanas continúan consumiendo los recursos naturales y esta situación afecta de manera importante al ecosistema, poniendo en peligro la vida y supervivencia de ejemplares de alto valor económico y genético, como ejemplo, tiene importancia por la parte microbiológica, de reproducción, de zootecnia, de economía, y sobre todo de medicina de la conservación (Bernal, 2018). El éxito de las TRA para producir nuevos individuos depende de un mayor conocimiento en biología reproductiva y criobiología. Aunque se subestimó la complejidad de la reproducción animal y sobreestimamos nuestra capacidad para aplicar estas técnicas, aún presentan inconvenientes para su uso en especies silvestres. (Comizzoli, 2015). Se ha evidenciado que la pérdida de especies clave que actúan como arquitectos del paisaje (elefantes, rinocerontes y gorilas de montaña) o taxones en la cima de la cadena alimentaria como el león asiático (*Panthera leo persica*), el leopardo de Amur (*Panthera pardus orientalis*), y la ballena franca del Atlántico Norte (*Eubalaena glacialis*), puede causar el declive de comunidades enteras. Además, especies carismáticas como el panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*) o el koala (*Phascolarctos cinereus*), pueden cumplir una función similar debido a su atractivo emocional, lo que conlleva a una protección indirecta de sus hábitats naturales y comunidades de especies residentes (Hildebrandt & Holtze, 2024).

Se estima que el ritmo actual de la extinción de especies es unas mil veces superior al de la época pre-industrial, por lo que los científicos han calificado este declive como la sexta extinción masiva de la historia de la Tierra, y la única provocada por una criatura viviente: el ser humano (Normander, 2012). Ante esta problemática, surge la pregunta: ¿Podrían las TRA tener la clave para remediar el daño producido en mamíferos silvestres y que estos ya dejen de encontrarse en peligro de extinción? Es por esto que se hace necesario conocer los principales estudios, técnicas y científicos involucrados en potenciar el avance de las TRA en mamíferos.

2. OBJETIVOS

2.1 **Objetivo general**

Describir las principales técnicas de reproducción asistida disponibles hasta la fecha en mamíferos silvestres en alguna categoría de amenaza.

2.2 **Objetivos específicos**

1. Establecer un análisis bibliométrico a partir de la recopilación de información en bases de datos sobre las técnicas de reproducción asistida en mamíferos.
2. Evaluar los avances en conservación de especies amenazadas empleando técnicas de reproducción asistida, por país.

3. MATERIAL Y MÉTODO

3.1 Materiales

Computador portátil (notebook) hp.

3.2 Métodos

Para la presente revisión bibliográfica, se realiza una búsqueda de información a partir de artículos científicos, libros y memorias de título de universidades extranjeras y chilenas relacionados a TRA en la conservación de mamíferos amenazados. Esta información se contrasta con el uso de la herramienta de análisis de la base de datos Scopus y el software VOSViewer, lo que tiene como finalidad poder detectar los autores más relevantes, así como palabras clave que puedan usarse en la estrategia de búsqueda tradicional, principales instituciones y países dónde se llevan a cabo estos proyectos. Toda la información recopilada es revisada y organizada en un archivo Excel para poder comparar los avances en dichas técnicas y así facilitar el análisis general de todos estos estudios para llegar a una conclusión.

3.3 Estrategia de búsqueda

Se realiza una búsqueda bibliográfica en los siguientes motores de búsqueda y fuentes de información: Google Académico, PubMed y ProQuest. La búsqueda se efectúa utilizando los siguientes términos de búsqueda y palabras clave, junto con el operador booleano “AND” o “OR”.

-Técnicas de reproducción asistida AND conservación de especies silvestres / Assisted reproductive techniques AND conservation
-Inseminación artificial AND conservación / Artificial insemination AND conservation
-Criopreservación AND conservación / Cryopreservation AND conservation
-Transferencia de embriones AND conservación / Embryo transfer AND conservation
-Fecundación *in vitro* OR maduración *in vitro* AND conservación / Fecundation *in vitro* OR maduration *in vitro* AND conservation

3.4 Ventana temporal

Se incluyen publicaciones desde el año 2004 hasta el año 2024.

3.5 Criterios de inclusión

Para la presente revisión bibliográfica se incluyen artículos científicos que hablen sobre el uso de TRA en mamíferos silvestres en idiomas español o inglés, y que se encuentren dentro de la ventana temporal.

3.6 Criterios de exclusión

Se excluyen estudios que no cumplan con los criterios de inclusión, que estén en idiomas diferentes a los indicados, por fuera de la ventana temporal. Así mismo se excluyen resúmenes de congresos o póster.

3.7 Análisis bibliométrico

Se realiza una búsqueda exhaustiva en la base de datos Scopus (https://www.scopus.com/), ampliamente utilizada con fines de investigación bibliométrica. La consulta de búsqueda, "TITLE-ABS-KEY (wildlife mammals * AND Assisted reproductive techniques * AND (LIMIT-TO (LANGUAGE, "English"))", utiliza asteriscos para garantizar la inclusión de todas las variaciones posibles.

A continuación, desde la base de datos Scopus se exporta la información en formato RIS para ser analizada con la herramienta informática VOSViewer, considerando las relaciones y tendencias que hay entre palabras clave y autores (http://www.vosviewer.com/).

3.8 Análisis de datos

Las variables para evaluar son:

- el tipo de TRA,
- la especie/orden/familia,
- porcentaje de éxito con la técnica empleada,
- la cantidad de individuos nacidos/preñeces/ovocitos maduros/embriones reconstruidos dependiendo de la TRA utilizada,

- observaciones en el éxito de la TRA,
- año de publicación,
- autor,
- país de origen del estudio y
- categoría de amenaza de la especie estudiada.

Se calcula frecuencia del uso de las TRA por especie de mamífero silvestre, así mismo como porcentajes de éxito por técnica y por especie.

Se realizan tres gráficos comparativos; uno enfocado en los países encontrados en la investigación, otro con un enfoque en la TRA mencionada y un último con enfoque en el número de especies amenazadas según su *status* de conservación en las que se aplicaron las TRA. Esto es con el propósito de ordenar la información y tener un mayor entendimiento de este trabajo.

Finalmente, cada TRA es separada y se utilizaron palabras clave de cada una de ellas para realizar un mapa de co-ocurrencia en VOSviewer, para luego presentar los mapas individualmente y así entender la cantidad de frecuencia en el uso de términos.

3.9 Valorización de las referencias

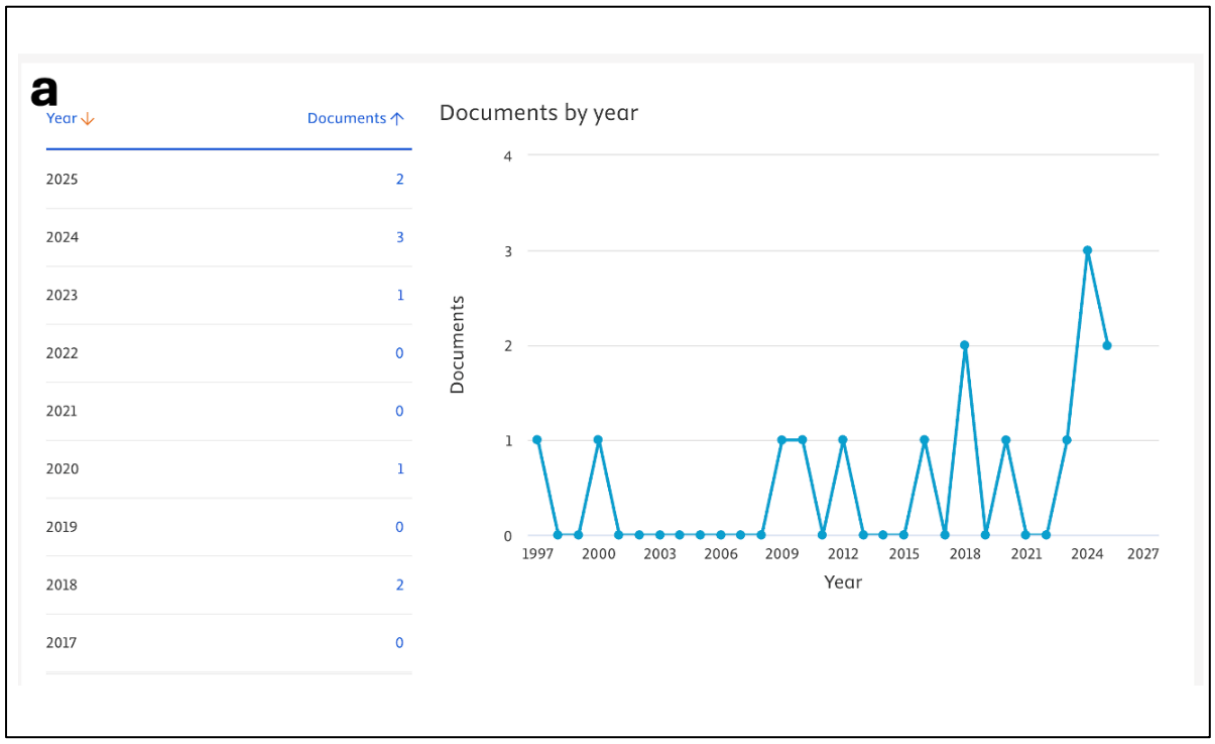
Independiente del tipo de artículo, se consideran las referencias seleccionadas por igual, con el mismo peso, siempre y cuando cumplan con los criterios de inclusión y exclusión establecidos.

4. RESULTADOS

Análisis bibliométrico a partir de la recopilación de información en bases de datos sobre las técnicas de reproducción asistida en mamíferos.

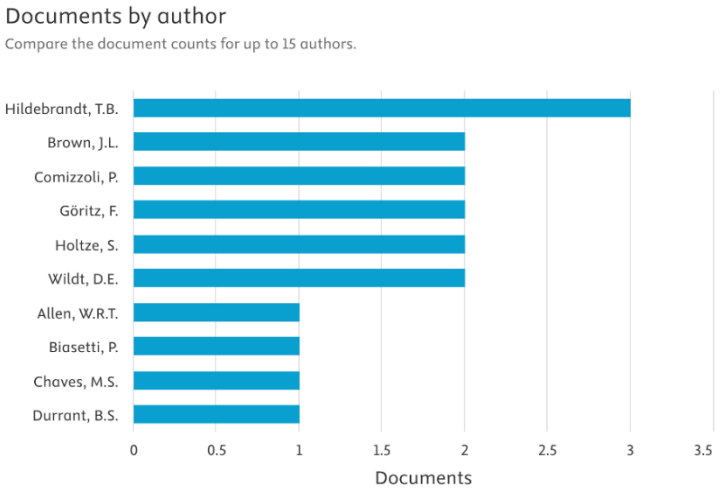
Se realiza un análisis bibliométrico empleando la base de datos Scopus y el software VOSviewer. En el primer análisis realizado directamente en Scopus se identifica que desde el año 2018 hay un aumento en las publicaciones sobre el tema objeto de búsqueda (ver Figura 1a), así mismo, el autor más sobresaliente por número de publicaciones es Hildebrandt (ver Figura 1b). El país con mayor participación en las publicaciones es Estados Unidos (ver Figura 1c) y la institución que más se ha dedicado a investigar y publicar sobre el uso de técnicas de reproducción asistida para mamíferos silvestres es Leibniz-Institut für Zoo- und Wildtierforschung de Alemania (ver Figura 1d).

Figura 1. Resultados del análisis de fechas de publicación, autores, países y afiliación sobre TRA empleando la herramienta Scopus.



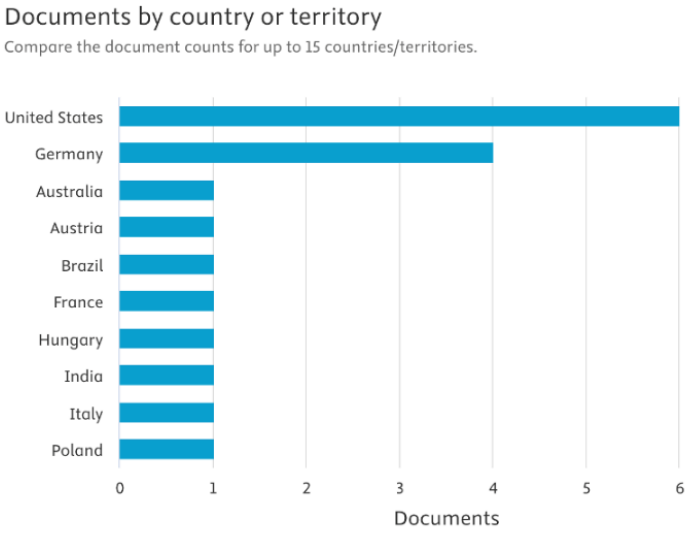
b

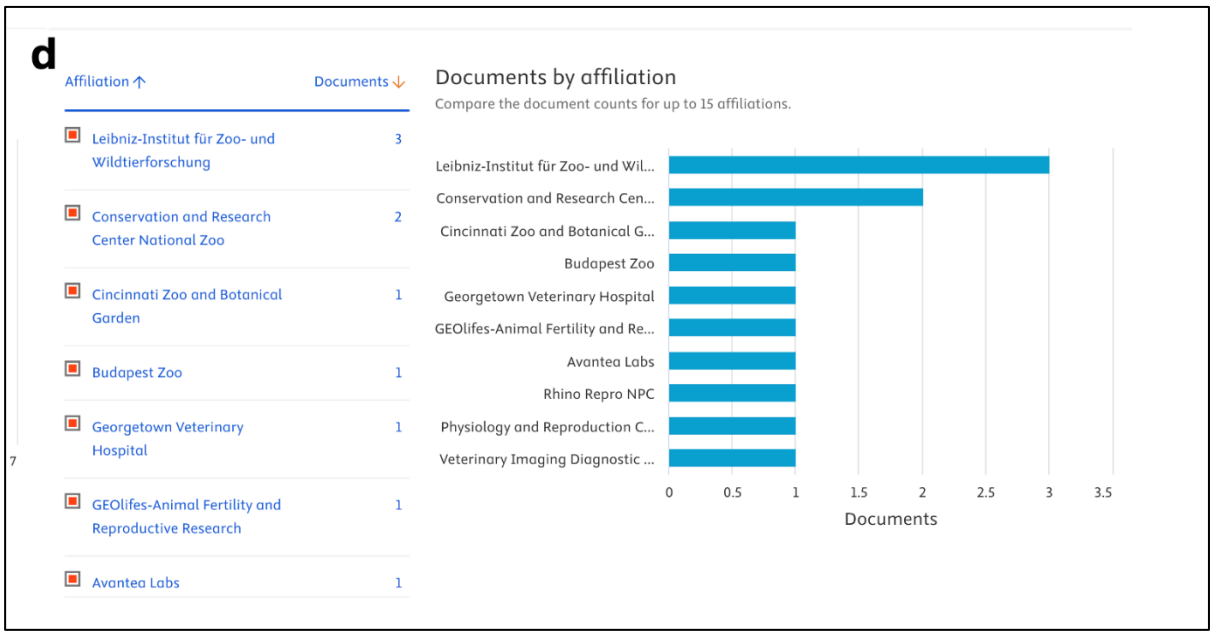
Author	Documents
Hildebrandt, T.B.	3
Brown, J.L.	2
Comizzoli, P.	2
Göritz, F.	2
Holtze, S.	2
Wildt, D.E.	2
Allen, W.R.T.	1
Biasetti, P.	1
Chaves, M.S.	1



c

Country/Territory	Documents
United States	6
Germany	4
Australia	1
Austria	1
Brazil	1
France	1
Hungary	1
India	1
Italy	1





Posterior a la descarga de la información desde la plataforma Scopus en formato RIS, se realiza un análisis bibliométrico empleando el software VOSviewer, identificando dos clúster de autores principales sobre el tema de búsqueda (Figura 2). Estos dos clúster o agrupación de autores (rojo y verde) demuestran dos redes importantes de colaboración, sobresaliendo el autor Hildebrandt como uno de los más citados por ambos grupos.

Posteriormente el análisis de co-ocurrencia de palabras clave arrojó los resultados mostrados en las Figuras 2, 3 y 4. En todos los mapas, cada nodo representa una palabra clave, donde tamaño indica la frecuencia de uso. Los colores agrupan términos que aparecen también frecuentemente juntos, formando *clusters*. Las lineas muestran la fuerza de la relación entre términos; mientras más gruesa es, mayor es su co-ocurrencia.

El mapa mostrado en la figura 3 fue generado a partir de 9 artículos indexados en SCOPUS entre 2004 y 2022, se utilizó un análisis de co-ocurrencia de palabras claves seleccionando aquellas que aparecieron 30 veces en el conjunto de datos. El mapa mostrado en la figura 4 fue generado a partir de 9 ar tículos indexados en SCOPUS entre 2004 y 2022, se utilizó un análisis de co-ocurrencia de palabras claves seleccionando aquellas que aparecieron 1 veces en el conjunto de datos.

Figura 2. Visualización de las redes de trabajo relacionadas con el estudio sobre TRA en mamíferos silvestres.

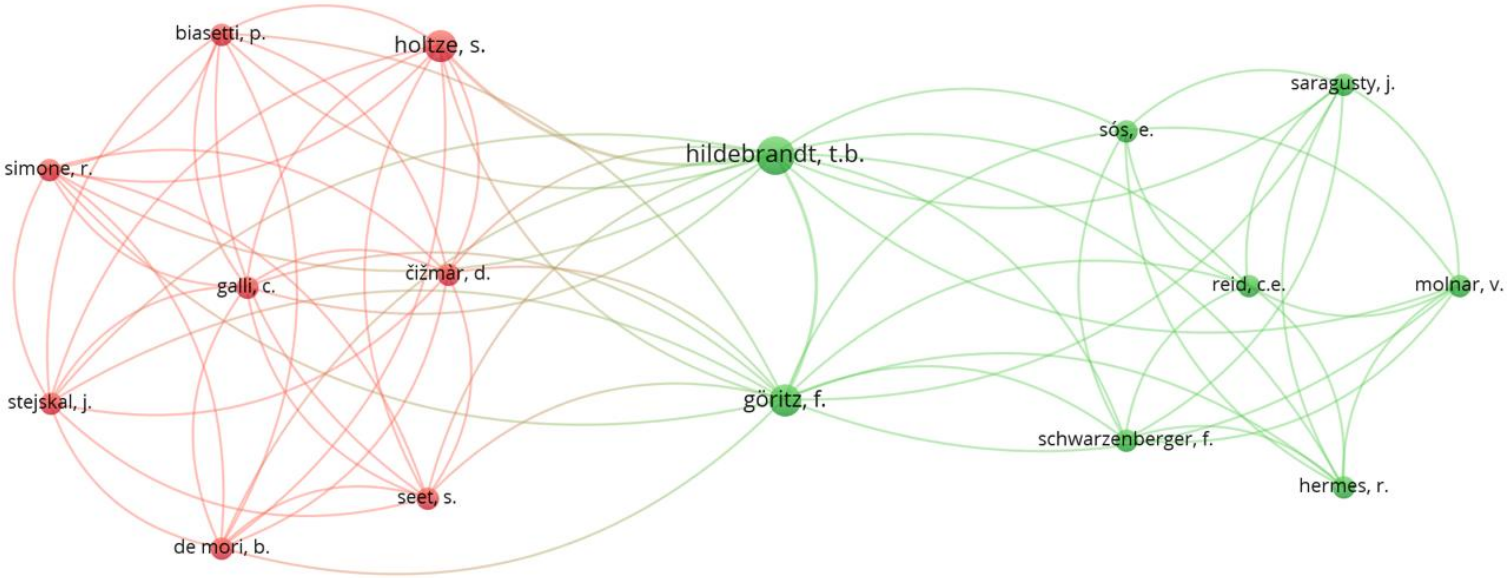


Figura 3. Mapa de co-ocurrencia de palabras claves respecto a la TRA **inseminación artificial.**

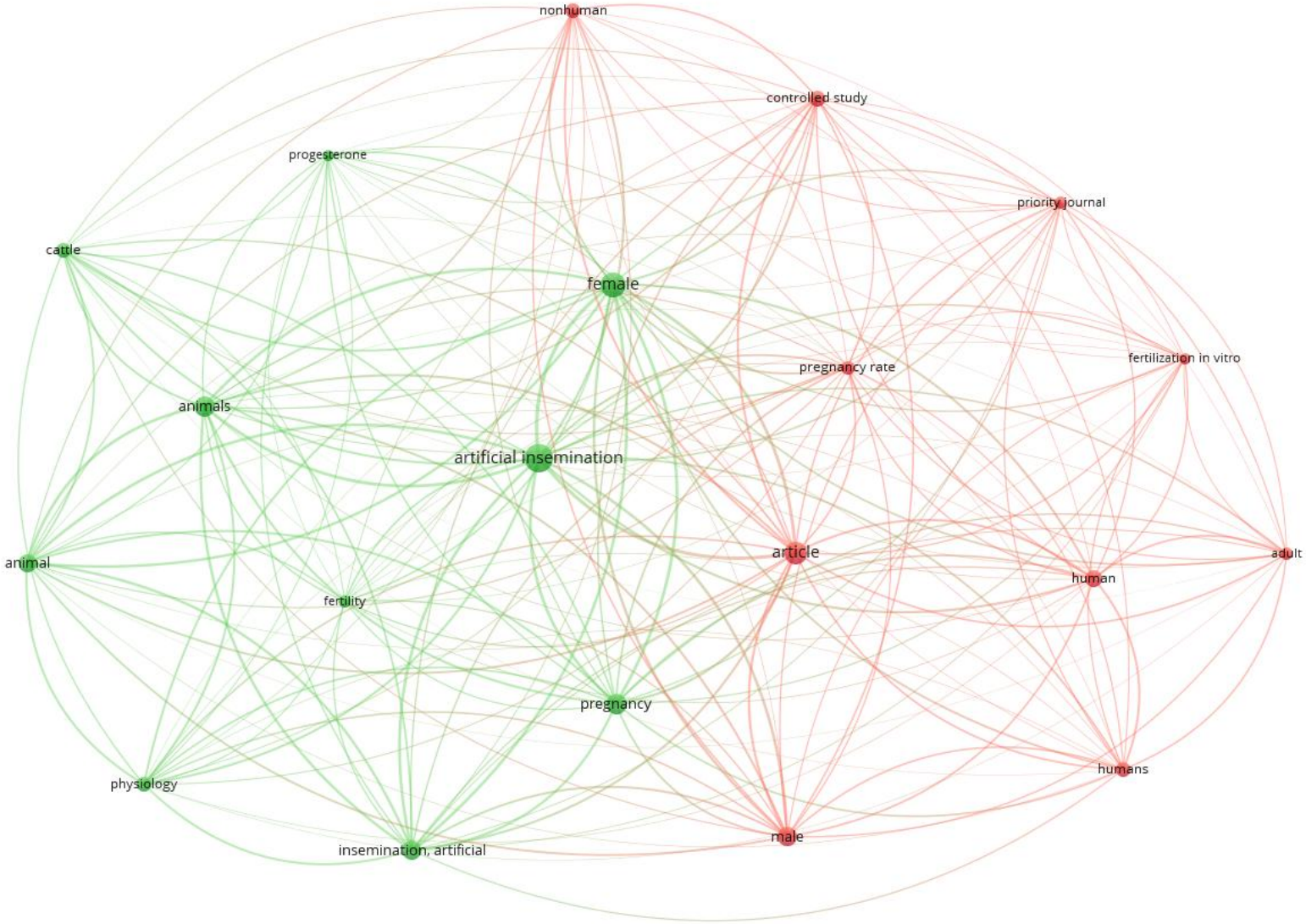
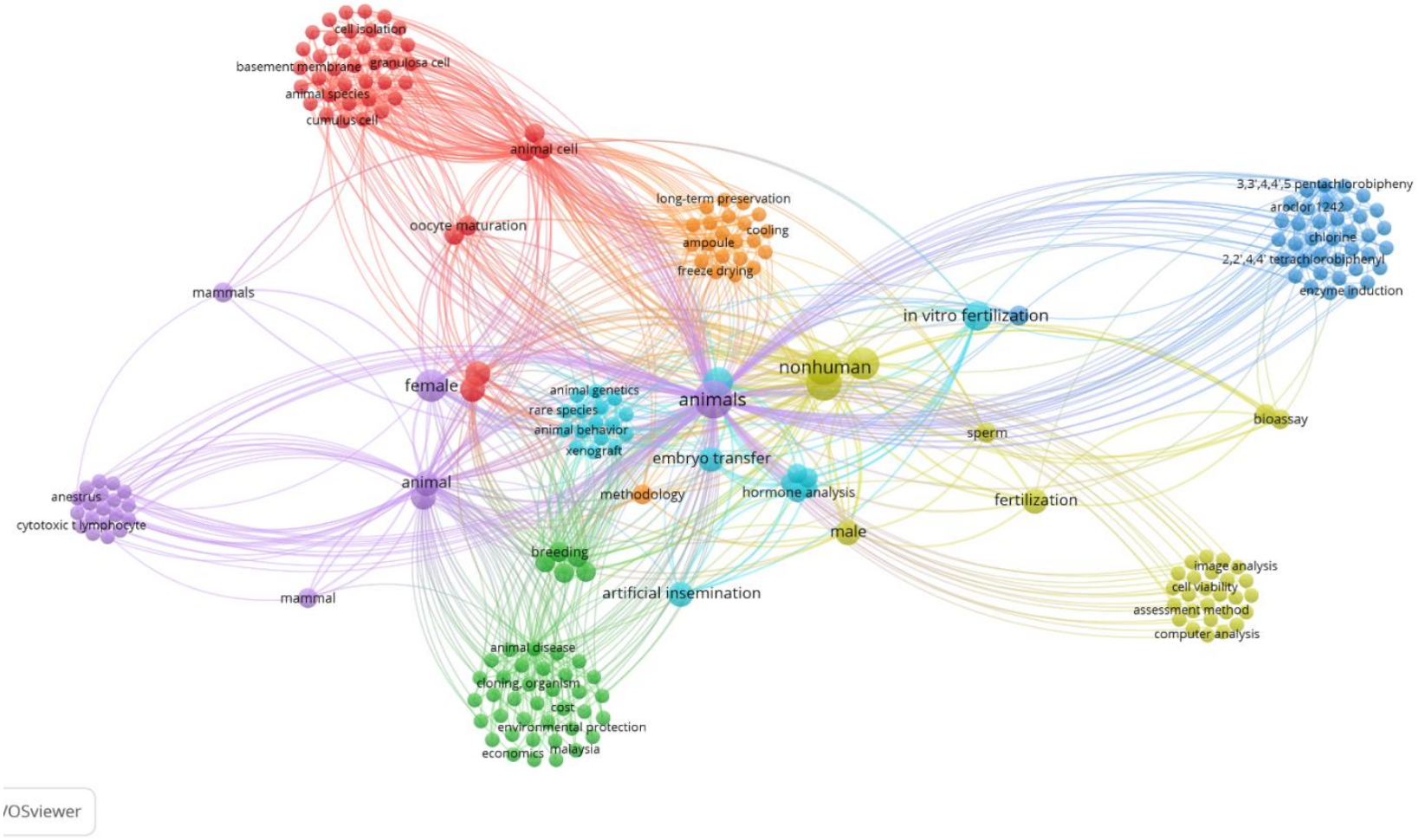


Figura 4. Mapa de co-ocurrencia de palabras claves respecto a la TRA **fertilización in-vitro.**

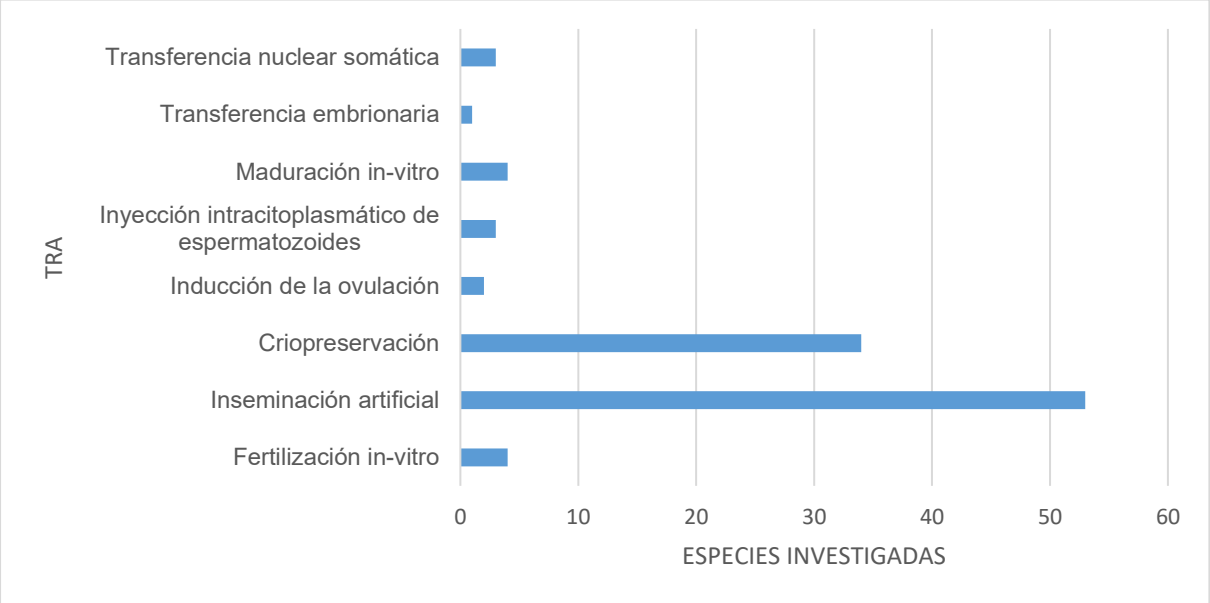


Para poder responder a los objetivos específicos mencionados en el texto se realiza una búsqueda en bases de datos como Google académico, Pubmed y Proquest, donde se encuentran un total de 52 publicaciones. De ellas, 15 cumplen con los requisitos de inclusión y son consideradas para esta revisión bibliográfica.

De los artículos analizados se obtiene un total de 65 registros de uso de TRA en mamíferos silvestres, aquí se separan los mamíferos no amenazados (26 especies) de los mamíferos amenazados (25 especies). Estas últimas son las que vemos en estos resultados y las especies no amenazadas forman parte de la discusión.

Al clasificar los documentos, los cuales están en tabla 3 (Ver Anexos) se encuentran un total de ocho TRA, estando la mayoría, con 53 registros de uso de TRA asociados a inseminación artificial, junto con criopreservación que tiene 34 registros. Por otro lado, el resto de las TRA investigadas, varían de 1 a 3 registros cada una (Ver figura 5).

Figura 5. Cantidad de estudios según TRA utilizada en mamíferos amenazados.



Como se muestra en la Tabla 1, en los trabajos realizados en especies amenazadas se encuentra uno asociado a una especie extinta en la vida salvaje (*Elaphurus davidianus*), tres a especies en estado crítico (*Addax nasomaculatus, Bos javanicus* y *Nanger dama*),

seis a especies en peligro (*Balaenoptera borealis, Rucervus eldii, Elephas maximus, Gazella spekei, Mustela nigripes* y *Oryx dammah*) y 13 en estado vulnerable (*Ammotragus lervia, Bos gaurus, Oryx beisa, Rangifer tarandus, Panthera leo, Acinonyx jubatus, Leopardus tigrinus, Neofelis nebulosa, Panthera uncia, Ursus maritimus, Phascolarctos cinereus, Ailuropoda melanoleuca* y *Prionailurus viverrinus*).

Tabla 1. Éxito de las TRA en especies amenazadas

TRA utilizada	Especie	Status de conservación (UICN)	% de éxito	Familia	Referencia
IA, C	Chita (*Acinonyx jubatus*)	V	0%	Felidae	Howard y Wildt; 2009
IA, C	Chita (*Acinonyx jubatus*)	V	24.5%	Felidae	Thongphakdee et al; 2020
IA	Chita (*Acinonyx jubatus*)	V	46.2%	Felidae	Howard y Wildt; 2009
IA, C	Adax (*Addax nasomaculatus*)	CR	100%	Bovidae	Morrow et al; 2009
IA	Oso panda (*Ailuropoda melanoleuca*)	V	100%	Ursidae	Siriaroonrat et al; 2009
IA, C	Oso panda (*Ailuropoda melanoleuca*)	V	35.7%	Ursidae	Asa et al; 2006
IA	Arruí (*Ammotragus lervia*)	V	50%	Bovidae	Morrow et al; 2009
FIV	Rorcual norteño (*Balaenoptera borealis*)	EN	16.2%	Balaenopteridae	Bhuiyan et al; 2008
IA, C	Gaur (*Bos gaurus*)	V	44%	Bovidae	Morrow et al; 2009
IA, C	Bantín (*Bos javanicus*)	CR	32%	Bovidae	Morrow et al; 2009
IA, C	Ciervo de Eld (*Rucervus eldii*)	EN	35%	Cervidae	Morrow et al; 2009
IA, C	Milú (*Elaphurus davidianus*)	EW	64%	Cervidae	Morrow et al; 2009
IA, C	Elefante asiático (*Elephas maximus*)	EN	14.3%	Elephantidae	Thongphakdee et al; 2022
IA	Elefante asiático (*Elephas maximus*)	EN	16.7%	Elephantidae	Brown et al; 2004
IA, C	Órix beisa (*Oryx beisa*)	V	0%	Bovidae	Morrow et al; 2009
IA, C	Gacela de Speke (*Gazella spekei*)	EN	50%	Bovidae	Morrow et al; 2009
IA	Tigrillo (*Leopardus tigrinus*)	V	25%	Felidae	Thongphakdee et al; 2020
IA	Turón patinegro (*Mustela nigripes*)	EN	59.8%	Mustelidae	Howard y Wildt; 2009
IA, C	Gacela dama (*Nanger dama*)	CR	30%	Bovidae	Morrow et al; 2009
IA, C	Pantera nebulosa (*Neofelis nebulosa*)	V	43.3%	Felidae	Thongphakdee et al; 2020
IA, C	Órix de cuernos de cimitarra (*Oryx dammah*)	EN	17.4%	Bovidae	Morrow et al; 2009
IIE, FIV	León (*Panthera leo*)	V	60%	Felidae	Asa et al; 2006

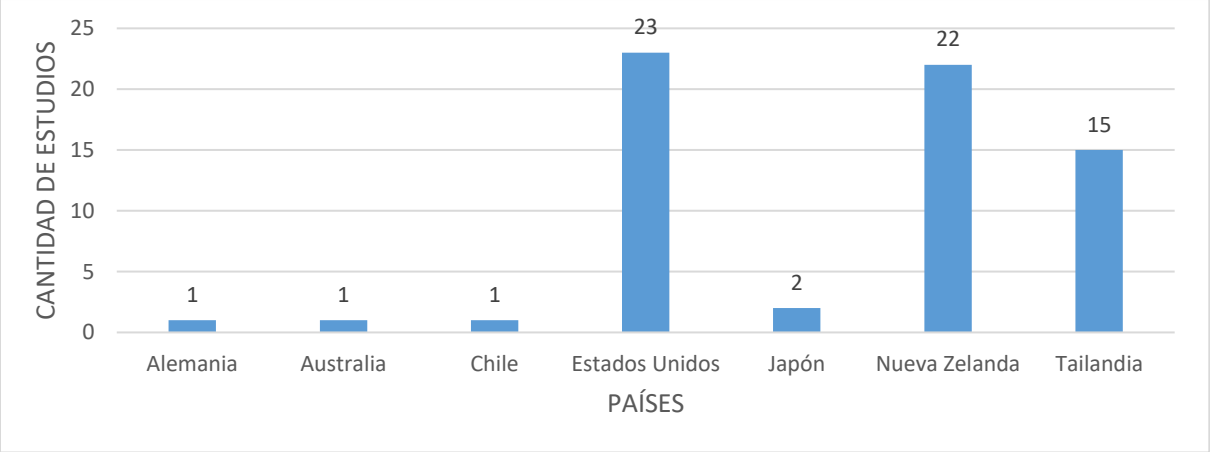
IA	León (*Panthera leo*)	V	28.6%	Felidae	Thongphakdee et al; 2020
MIV, IIE, C	León (*Panthera leo*)	V	48.7%	Felidae	Zahmel et al; 2021
IA	Leopardo (*Panthera pardus*)	V	100%	Felidae	Thongphakdee et al; 2020
IA	Tigre (*Panthera tigris*)	EN	10%	Felidae	Thongphakdee et al; 2020
IA	Leopardo de las nieves (*Panthera uncia*)	V	6.7%	Felidae	Thongphakdee et al; 2020
IIE, FIV	Gato pescador (*Prionailurus viverrinus*)	V	70%	Felidae	Asa et al; 2006
IA, C	Caribú (*Rangifer tarandus*)	V	20%	Cervidae	Morrow et al; 2009
IA, IO	Oso polar (*Ursus maritimus*)	V	0%	Ursidae	Curry et al; 2014
IA	Koala (*Phascolarctos cinereus*)	V	34 ejemplares nacidos	Phascolarctidae	Johnston y Holt; 2014
IA	Tigre (*Panthera tigris*)	V	1 preñez	Felidae	Thongphakdee et al; 2020

IA: Inseminación artificial. C: Criopreservación. FIV: Fertilización in-vitro. IIE: Inyección intracitoplasmática de espermatozoides. MIV: Maduración in-vitro. IO: Inducción de la ovulación. V: Vulnerable. CR: en peligro crítico. EN: en peligro. EW: extinto en la naturaleza.

Evaluación de los avances en conservación de especies amenazadas empleando técnicas de reproducción asistida, por país.

Se encuentran registros de uso de TRA realizados en siete países (Figura 6), estando la mayoría situados en tres de ellos (Estados Unidos, Nueva Zelanda y Tailandia). En los países restantes, los números de estudios no superan el 2%.

Figura 6. Cantidad de registros de TRA en mamíferos amenazados por país.



5. DISCUSIÓN

Esta revisión bibliográfica empleó varios recursos para identificar las principales fuentes de información y establecer una relevancia en los estudios guiados por los principales autores. La herramienta VOSviewer y el análisis preliminar en Scopus arrojaron resultados similares, que a su vez guiaron y tuvieron concordancia con la búsqueda de información establecida en la metodología. Sin embargo, el número de trabajos identificados fue bajo. A pesar de esto, los mapas generados muestran co-ordenancia de trabajos investigados usando el mismo criterio de búsqueda para las TRA investigadas.

El desarrollo de TRA requiere inversión significativa, sin esta no es viable explorar ni aplicar estas técnicas en especies amenazadas. Países como Estados Unidos, con mayor presupuesto en conservación e investigación lideran estos avances (Howell & Witt, 2023). Aunque se ha trabajado más en Estados Unidos y otros países desarrollados, la falta de protocolos eficaces y la necesidad de recursos siguen siendo barreras importantes, solo instituciones con infraestructura y fondos pueden sostener estas investigaciones (Younas et al., 2024).

En este trabajo se recopiló información del uso de TRA en mamíferos amenazados, de esta forma se pudo observar que la más utilizada fue inseminación artificial y que esta presentó gran una variabilidad, incluso en una misma especie. Por ejemplo, se menciona que hubo un 0% de éxito en la inseminación en hembras cuya anestesia e inseminación se realizaron antes de la ovulación, porque no ovularon; mientras que un 46,2% de hembras anestesiadas e inseminadas después de la ovulación, obtuvieron resultados positivos. Esto se debe a que la inseminación debe realizarse justo antes de la ovulación para que los espermatozoides estén presentes en el lugar adecuado en el momento adecuado (Howard y Wildt, 2009). Sin embargo, el uso de anestesia antes de la ovulación puede afectar la liberación del óvulo y el éxito de la preñez en félidos, es decir, el momento preciso de la inseminación y la anestesia son factores importantes para considerar en la reproducción asistida en estos animales (Donoghue et al., 1996). La ovulación en félidos parece particularmente sensible a la anestesia, ya que es un evento

que puede inhibir ruptura folicular inducida por gonadotropinas y formación de cuerpo lúteo. Se sugiere que esto es debido al aumento de cortisol provocado por un estrés agudo relacionado con los eventos de manipulación asociados con la inducción de la anestesia y/o laparoscopía (Donoghue et al., 1996).

Las inseminaciones artificiales en félidos estimulados con gonadotropinas se realizan siempre después de que haya comenzado la ovulación, esta práctica evidentemente, requiere contar con información detallada sobre el momento de la ovulación, el cual varía según la especie (Howard & Wildt, 2009). Ejemplos de variablidad en el inicio de la ovulación tras el tratamiento con gonadotropina coriónica equina (eCG)/gonadotropina coriónica humana (hCG) oscilan entre 25 y 30 hrs post-hCG en el gato doméstico y el gato leopardo (*Prionailurus bengalensis*), hasta 39-46 hrs en el caso del tigre (Howard & Wildt, 2009).

Otro caso documentado con un 0% de éxito, se registró en una hembra de oso polar (*Ursus maritimus*), que constituyó el primer intento conocido de estimulación ovárica, inducción de la ovulación e inseminación artificial en esta especie (Curry et al., 2014). Si bien el perfil endocrino evidenció un aumento en la actividad ovárica, después de la administración de eCG, aún no se ha establecido la duración de los ciclos reproductivos ni la dinámica folicular en la especie. Debido a esto, no fue posible determinar si el ejemplar de oso polar respondió efectivamente a la estimulación hormonal o si se encontraba en estro de forma natural. Esta especie se caracteriza porque las hembras son ovuladoras inducidas y presentan un patrón poliéstrico estacional. En condiciones naturales o de cautiverio, las hembras que no quedan preñadas ni entran en pseudogestación, suelen mostrar eventos de apareamiento hasta mayo o junio. Sin embargo, aquellas que ovulan tienden a interrumpir sus ciclos reproductivos, y este se refleja en una disminución marcada de la testosterona fecal y en el cese del comportamiento reproductivo activo (Curry, 2014).

Con respecto a la gestación en cautiverio se describe que el estrés crónico producido por factores estresantes puede llevar a la supresión del ciclo reproductivo debido a la

exposición prolongada a altos niveles de glucocorticoides (hormonas del estrés) que daña las áreas del cerebro responsables de terminar la respuesta al estrés. Existen varios factores estresantes que puede sufrir un animal en cautiverio, lo que indirectamente afecta la reproducción, por ejemplo, el ruido, las condiciones de iluminación, olores, experiencia táctil y térmica, el sustrato, la restricción de movimiento, la ausencia de espacio de retirada, la proximidad forzada con humanos, los cuidados de rutina, la alimentación restringida, los grupos sociales, entre otros (Morgan & Tromborg, 2007).

La inhibición de la reproducción por estrés crónico es resultado de la interferencia entre los dos ejes descritos de regulación por parte del hipotálamo, el que conecta a la hipófisis con las adrenales y el que lo hace con las gónadas. La secreción de hormonas hipotalámicas e hipofisiarias que promueven la reacción de estrés afectan el ritmo de las que regulan los ciclos reproductivos y, por ende, las concentraciones de estrógenos en las hembras y de andrógenos como la testosterona en los machos, afectando directamente el potencial reproductivo de animales en cautiverio o en estado silvestre (Valdespino et al., 2007).

Continuando con este caso de la hembra de oso polar, las concentraciones de testosterona disminuyeron tras la administración de hormona luteinizante porcina (pLH) y se mantuvieron bajas durante todo el verano, lo que indica que la ovulación ocurrió con éxito. La ausencia de actividad de apareamiento tras la reintroducción de la pareja de osos proporcionó una confirmación adicional de que la hembra había ovulado. A pesar de un aumento prolongado de pregadeniol-3-glucuronoide (pdG), que coincidió con el periodo en que normalmente ocurre la implantación embrionaria, la hembra no dio a luz. Cabe destacar que esta hembra tenía antecedentes de sangrado intermitente con patrón estacional, pero se desconoce si la sangre observada en julio tenía origen vaginal, lo que podría sugerir implantación embrionaria o aborto, o si provenía de la región perivulvar. Este tipo de sangrado se ha reportado, relativamente frecuente, en hembras de oso polar mantenidas en cautiverio (Curry, 2014).

Con respecto a cómo el cautiverio afecta la reproducción, se afirma que los largos periodos sin reproducción inducen un envejecimiento reproductivo asimétrico en animales en cautiverio. Las consecuencias son una fertilidad reducida, menor duración de la vida reproductiva y, eventualmente, aciclicidad irreversible. Es imperativo utilizar medidas correctivas apropiadas, como las TRA, para asegurar gestaciones tempranas en animales cautivos (Hermes et al., 2004).

En especies silvestres aún no existen asociaciones firmemente establecidas entre parámetros espermáticos específicos y la producción de descendencia tanto *in vitro* como *in vivo* (Durrant, 2008). Debido a que las relaciones temporales entre el estrógeno y el pico ovulatorio de la hormona luteinizante (LH), así como entre la LH y el aumento de la progesterona, son específicas de cada especie, la medición directa de LH resulta más informativa que el análisis de hormonas esteroides para determinar el momento óptimo de la inseminación artificial (Durrant, 2008). Desentrañar las complejidades de la reproducción, con su infinita variación interespecífica, representa un desafío para los conservacionistas que buscan mejorar la propagación de la fauna silvestre mediante TRA (Durrant, 2008). La producción de crías genéticamente valiosas a través de manipulaciones mínimamente invasivas, como la inseminación artificial, contribuirá significativamente a la supervivencia a largo plazo de las especies, tanto en cautiverio como en vida libre (Durrant, 2008). La falta de protocolos de inseminación artificial que sean exitosos de manera rutinaria en la mayoría de las especies no domésticas y en peligro de extinción resalta la necesidad de una investigación colaborativa y focalizada, orientada a establecer datos de base sobre la recolección, evaluación y preservación de semen; el número de espermatozoides viables requeridos por inseminación; los efectos ambientales sobre la producción de gametos; los protocolos de estimulación folicular; la detección precisa del estro y la ovulación; y la anatomía reproductiva (Durrant, 2008). Algunos o todos estos parámetros aún se desconocen para la mayoría de los animales silvestres, y es fundamental que se reconozca la importancia de generar este conocimiento y que se destinen fondos para su desarrollo (Durrant, 2008).

Aunque las estrategias de conservación *in situ*, como la preservación del hábitat, suelen ser la mejor manera de conservar la biodiversidad, en ocasiones son necesarias otras estrategias de rescate, como la criopreservación de germoplasma, para facilitar la continuidad de los procesos naturales de evolución (Rodrigues et al., 2015). Sin embargo, este método por si solo resulta ineficaz cuando una población está gravemente reducida o cuando la mayoría de los mamíferos restantes se encuentra en áreas no protegidas. Como resultado, ha aumentado el número de programas de conservación *ex situ* que incluyen preservación tanto *in vivo* como *in vitro*, incluyendo el establecimiento de bancos de germoplasma, los cuales representan un vínculo entre los programas de conservación in situ y ex situ; la conservación de recursos genéticos se centra en la criopreservación de gametos, embriones, tejidos gonadales y tejidos somáticos (Rodrigues et al., 2015).

Relevancia del uso de TRA en especies no amenazadas

La búsqueda bibliográfica arrojó resultados en los cuales algunas especies que, de acuerdo con la UICN, no se encuentran amenazadas actualmente (Ver tabla 2). Sin embargo, en el pasado algunas sí estuvieron en alguna categoría de amenaza, otras han sufrido declinaciones de su rango geográfico y, por último, la mayoría de estas especies aún no estando amenazadas, se ha comprobado que el método puede ocuparse en subespecies o especies similares que sí se encuentran bajo una categoría de amenaza ya que las TRA desarrolladas para animales específicos se pueden utilizar como modelo para especies silvestres taxonómicamente similares. Esto se ha demostrado exitosamente con varias especies críticamente amenazadas, incluyendo el uso de protocolos de semen equino como modelo para especies de rinoceronte, y de bovino para especies de gacela (Bolton et al., 2022). La aplicación limitada de técnicas de reproducción asistida en especies silvestres se debe principalmente a escaso conocimiento sobre la biología reproductiva específica de muchos mamíferos amenazados, dificultades técnicas para recolectar y conservar esperma, óvulos y embriones en condiciones adecuadas, falta de protocolos específicos adaptados a especies no domésticas y restricciones logísticas y económicas, como la necesidad de infraestructura especializada con un personal capacitado (Kusunoki, 2005).

Tabla 2. Relevancia del uso de TRA en especies no amenazadas

Especie	Categoría de conservación actual	Característica que la vuelve relevante
Springbok (*Antidorcas marsupialis)*	PM	
Antílope indio (*Antilope cervicapra*)	PM	Hasta hace unos años se encontraba en categoría vulnerable y su tendencia poblacional es desconocida.
Chital (*Axis axis*)	PM	Tendencia poblacional desconocida. Requiere actualización. Además, el ciervo cerdo (*A. porcinus*) es un pariente del mismo género que el axis y se encuentra en peligro de extinción, por lo que el aprendizaje sobre estas TRA podría beneficiarlo.
Rorcual tropical (*Balaenoptera edeni*)	PM	Tendencia poblacional desconocida.
Lobo gris (*Canis lupus*)	PM	Estuvo en la categoría vulnerable durante más de una década, se cree posiblemente extinto en Bangladesh y ya se ha extinto en Irlanda, Japón y Reino Unido.
Cabra montés (*Capra pyrenaica*)	PM	Ha tenido que ser reintroducida en Francia y Portugal, ya se ha extinto en Andorra y Gibraltar.
Ciervo rojo (*Cervus elaphus*)	PM	Extinto en Albania, Israel, Jordania, Líbano, Siria y República Árabe Unida. Ha debido reintroducirse en Grecia y Marruecos.
Ciervo sika (*Cervus nippon*)	PM	Su categorización requiere actualización. Posiblemente extinto en Vietnam. Extinto en Corea del Sur. Ha debido reintroducirse en China. El ciervo de hocico blanco (*C. albirostris*) es una especie del mismo género y se encuentra vulnerable, por lo que el aprendizaje sobre estas TRA podría beneficiarlo.
Gamo común (*Dama dama*)	PM	Tendencia poblacional desconocida. Status requiere actualización. Además, un pariente de su mismo género; el gamo persa (*D. mesopotámica*) se encuentra en peligro de extinción.
Gato montés africano (*Felis lybica*)	PM	Tendencia poblacional desconocida. Su existencia en casi la mitad de su rango geográfico es incierta.
Gato de las arenas (*Felis margarita*)	PM	Tendencia poblacional desconocida. Status requiere actualización. Posiblemente extinto en Israel, Pakistán y Yemen. Su existencia es incierta en Marruecos y Catar.
Ocelote (*Leopardus pardalis*)	PM	Estuvo por años en categoría vulnerable. Tendencia poblacional en disminución. Status requiere actualización.

Generuk (*Litocranius walleri*)	CA	Tendencia poblacional en disminución.
Turón de la estepa (*Mustela eversmanii*)	PM	Tendencia poblacional en disminución. Su existencia es incierta en la India y Serbia. Además, una especie del mismo género, el visón europeo (*M. lutreola*) se encuentra en peligro crítico.
Suni (*Neotragus moschatus*)	PM	Antes se encontraba en la categoría en peligro. Su presencia es incierta en Suazilandia.
Ciervo de cola blanca (*Odocoileus virginianus*)	PM	
Manul (*Otocolobus manul*)	PM	Tendencia poblacional en disminución. Su existencia es desconocida en Tajikistán y Uzbekistán. Posiblemente extinto en Armenia y Azerbaiyán.
Gato leopardo (*Prionailurus bengalensis*)	PM	Su presencia es incierta en Macao. En su rango geográfico se observan áreas tanto posiblemente extinto, como extinto. Además, una especie con la que comparten género; el gato de cabeza plana (*P. planiceps*) se encuentra en peligro de extinción.
Pudú (*Pudu puda*)	CA	Tendencia poblacional en disminución.
Puma (*Puma concolor*)	PM	Tendencia poblacional en disminución. Status requiere actualización. Su presencia es incierta en Uruguay.
Eland común (*Tragelaphus oryx*)	PM	De este género tenemos al eland gigante (*T. derbianus*) el cual se encuentra vulnerable. Extinto en Burundi.
Delfín nariz de botella (*Tursiops truncatus*)	PM	Tendencia poblacional desconocida. El aprendizaje sobre esta especie es utilizado como modelo biológico representante de otros cetáceos silvestres que si están en peligro. Sus poblaciones son cada vez más desplazadas.
Oso negro americano (*Ursus americanus*)	PM	Extinto casi en un tercio de su rango geográfico.
Oso pardo (*Ursus arctos*)	PM	Posiblemente extinto en Bután. Extinto en Algeria, Bélgica, Dinamarca, Egipto, Alemania, Hungría, Irlanda, Israel, Jordania, Liechtenstein, Lituania, Luxemburgo, México, Moldavia, Mónaco, Marruecos, Países Bajos, Palestina, Portugal, San Marino, Túnez, Reino Unido y una gran parte del territorio de Estados Unidos. Su existencia es incierta en Andorra, Austria, República Checa, Suiza y Turkmenistán.
Zorro ártico (*Vulpes lagopus*)	PM	Status requiere actualización.
Zorro rojo (*Vulpes vulpes*)	PM	

PM: Preocupación menor; CA: Casi amenazado

6. CONCLUSIONES

En este análisis bibliográfico, de los 65 registros de usos de TRA, la técnica más observada fue principalmente inseminación artificial con o sin criopreservación, donde se vieron un total de 53 registros, esta TRA fue aplicada en 44 especies y 9 familias.

En la presente investigación, se vieron un total de 51 especies; 25 amenazadas y 26 no amenazadas. Además de un total de 10 familias diferentes, donde las tres familias con más registros de uso de TRA son Bovidae con un total de 14 registros, Cervidae con un total de 15 registros y Felidae con un total de 20.

Las TRA con mayor tasa de éxito observada es la inseminación artificial con o sin criopreservación, ya que tuvo éxito de 100% en varios trabajos, aunque hubo casos donde por desconocimiento de ámbitos especie-específico hubo 0% de éxito y la fertilización *in vitro* con el uso de inyección intracitoplasmática de espermatozoides, ya que el rango fue entre 60 y 70% de éxito.

La aplicación de TRA continúa concentrándose en un número limitado de familias taxonómicas. Existen muchas otras familias con especies en categorías de amenaza según la UICN en las que no se encontraron estudios sobre TRA, como Atelidae, Lemuridae, Tapiridae, Manidae, Hylobatidae, Hippopotamidae, entre otras.

La extrapolación de conocimientos de especies silvestres tanto amenazadas como no amenazadas permite generar una base sobre la fisiología y técnica que puede adaptarse a estas especies carentes de datos reproductivos. Se proyecta como prioritario expandir la investigación hacia nuevas familias de mamíferos amenazados, especialmente aquellas sin antecedentes de manejo reproductivo asistido, con el fin de incrementar las herramientas disponibles para su conservación.

7. REFERENCIAS

Alarcón, V., Garcia, W., & Bravo W. (2012). inseminación artificial de alpacas con semen colectado por aspiración vaginal y vagina artificial. *Revista de investigaciones Veterinarias de Perú, 23*(1). 43-50. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172012000100007

Asa, C. S., Bauman, K., Callahan, P., Bauman, J., Volkmann, D. H., & Jöchle, W. (2006). GnRH-agonist induction of fertile estrus with either natural mating or artificial insemination, followed by birth of pups in gray wolves (*Canis lupus*). *Theriogenology, 66*(6–7), 1778–1782. https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.01.035

Ávila-Portillo, L. M., Madero, J. I., López, C., León, M. F., Acosta, L., Gómez, C., Delgado, L. G., & Gómez, C. (2006). Basic points in cryopreservation. *Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecología.*, *57*(4), 291-300. http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0034-74342006000400008&script=sci_arttext

Bernal, M. de L. L. (2018). *Las técnicas de reproducción asistida como herramientas para la conservación de Panthera onca* [Tesis de licenciatura, Universidad Autónoma del Estado de México]. Repositorio Institucional UAEMex. http://ri.uaemex.mx/handle/20.500.11799/94903

Bhuiyan, M. M. U., Suzuki, Y., Watanabe, H., Matsuoka, K., Fujise, Y., Ishikawa, H., Ohsumi, S., & Fukui, Y. (2009). Attempts at in vitro fertilization and culture of in vitro matured oocytes in sei (*Balaenoptera borealis*) and Bryde's (*B. edeni*) whales. *Zygote, 17*(1), 19–28. https://doi.org/10.1017/S0967199408004887

Bolton, R. L., Mooney, A., Pettit, M. T., Bolton, A. E., Morgan, L., Drake, G. J., Appeltant, R., Walker, S. L., Gillis, J. D., & Hvilsom, C. (2022). Resurrecting biodiversity: Advanced assisted reproductive technologies and biobanking. *Reproduction and Fertility, 3*(3), R121–R146. https://doi.org/10.1530/RAF-22-0005

Britos, A., Acosta, T., Román, R., Giménez, F., & Domínguez, R. (2020). *Manual de transferencia de embriones.* Universidad Nacional de Canindeyú (UNICAN).

https://www.conacyt.gov.py/sites/default/files/upload_editores/u454/Manual_de_transferencia_de_embriones.pdf

Brown, J. L., Göritz, F., Pratt-Hawkes, N., Hermes, R., Galloway, M., Graham, L. H., Gray, C., & Hildebrandt, T. B. (2004). Successful artificial insemination of an Asian elephant at the National Zoological Park. *Zoo Biology, 23*(1), 45–63. https://doi.org/10.1002/zoo.10116

Comizzoli, P. (2015). Biotechnologies for wildlife fertility preservation. *Animal Frontiers, 5*(1), 73-78. https://academic.oup.com/af/article/5/1/73/4638708

Curry, E., Wyatt, J., Sorel, L. J., MacKinnon, K. M., & Roth, T. L. (2014). Ovulation induction and artificial insemination of a captive polar bear (*Ursus maritimus*) using fresh semen. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine, 45*(3), 645–649. https://doi.org/10.1638/2013-0055R1.1

Donoghue, A. M., Byers, A. P., Johnston, L. A., Armstrong, D. L., & Wildt, D. E. (1996). Timing of ovulation after gonadotrophin induction and its importance to successful intrauterine insemination in the tiger (*Panthera tigris*). *Journal of Reproduction and Fertility*, *107*, 53-58. https://doi.org/10.1530/jrf.0.1070053

Dresser, B. L., Pope, C. E., Kramer, L., Kuehn, G., Dahlhausen, R., Maruska, E. J., Reece, B. A., & Thomas, W. D. (1985). Birth of bongo antelope (*Tragelaphus eurycerus*) to eland antelope (*Taurotragus oryx*) and cryopreservation of bongo embryos. *Theriogenology, 23*(1), 190. https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0093691X85900962?via%3Dihub

Durrant, B. S. (2009). The importance and potential of artificial insemination in CANDES (companion animals, non-domestic, endangered species). *Theriogenology, 71*(1), 113–122. https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.09.004

Filipiak, Y., & Larocca, C. (2012). *Manual de fertilización in vitro en bovinos*. Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Uruguay.

Gurrutxaga, M., & Lozano, P. J. (2006). Efectos de la fragmentación de hábitats y perdida de conectividad ecológica dentro de la dinámica territorial. *Polígonos. Revista de Geografía*, 16, 111-132. https://revpubli.unileon.es/ojs/index.php/poligonos/issue/view/38

Hastie, G., Ross, J., Weir, L., & Robeck, T. R. (2006). Estrous cycle characterisation and artificial insemination using frozen–thawed spermatozoa in the bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*). *Theriogenology, 66*(4), 883–893. https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.04.004

Hermes, R., Hildebrandt, T. B., & Göritz, F. (2004). Reproductive problems directly attributable to long-term captivity—Asymmetric reproductive aging. *Animal Reproduction Science, 82–83*, 49–60. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2004.05.015

Hildebrandt, T. B., & Holtze, S. (2024). Advanced assisted reproduction technologies in endangered mammalian species. *Reproduction In Domestic Animals*, *59*(S3), e14700. https://doi.org/10.1111/rda.14700

Holt, W. V., Brown, J. L., & Comizzoli, P. (Eds.). (2014). *Reproductive Sciences in Animal Conservation: Progress and Prospects*. Springer. P.215. https://link.springer.com/book/10.1007/978-1-4939-0820-2

Howell, L. G., & Witt, R. R. (2023). Emerging arguments for reproductive technologies in wildlife and their implications for assisted reproduction and conservation of threatened marsupials. *Theriogenology, 198*, 19–29. https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2022.12.008

Howard, J. G., & Wildt, D. E. (2009). Approaches and efficacy of artificial insemination in felids and mustelids. *Theriogenology, 71*(1), 130–148. https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.09.046

Kraemer, D., Moore, G. T., & Kramen, M. A. (1976). Baboon Infant produced by Embryo Transfer. *Science*, *192*(4245), 1246-1247. https://doi.org/10.1126/science.818710

Kusunoki, H. (2005). Reproductive technologies for species conservation. *Japanese Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, *10*(1), 1–12 https://doi.org/10.5686/jjzwm.10.1_1

Morgan, K. N., & Tromborg, C. T. (2007). Sources of stress in captivity. *Applied Animal Behaviour Science*, *102*(3-4), 262-302. https://doi.org/10.1016/j.applanim.2006.05.032

Morrow, C. J., Penfold, L. M., & Wolfe, B. A. (2009). Artificial insemination in deer and non-domestic bovids. *Theriogenology, 71*(1), 149–165. https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.09.001

Le Gac, S., Ferraz, M., Venzac, B., & Comizzoli, P. (2021). Understanding and assisting reproduction in wildlife species using microfluidics. *Trends in Biotechnology, 39*(6), 584–597. https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2020.08.012

Normander, B. (2012). Biodiversidad: combatir la sexta extinción masiva. La situación del mundo 2012: Hacia una prosperidad sostenible (pp.99-120). https://www.fuhem.es/media/cdv/file/biblioteca/Situaci%C3%B3n%20del%20Mundo/2012/Biodivesidad_combatir_la_sexta_extincion_masiva_B._Normander.pdf

Rodrigues, A., Lima, G., Peixoto, G., & Souza, A. L. (2015). Cryopreservation in mammalian conservation biology: current applications and potential utility. *Reproductive Biology and Endocrinology*, *12*(1), 1–8. https://doi.org/10.2147/RRBS.S54294

Siriaroonrat B., Thongphakdee, A., Tip´kantha, W., Nimtragul, K., Kornkeawrat, K., Khejornwong, R., Buntragulpoontawee, P., & Kamolnorranath, S. (2015). Successful Transcervical insemination in Giant Panda at Chiangmai Zoo, Thailand. *The Thai Journal of Veterinary Medicine, 39*(3), 199-204. https://digital.car.chula.ac.th/cgi/viewcontent.cgi?article=2174&context=tjvm

The IUCN Red List of Threatened Species. (s. f.). IUCN Red List of Threatened Species. https://www.iucnredlist.org/

Thongphakdee, A., Sukparangsi, W., Comizzoli, P., & Chatdarong, K. (2020). Reproductive biology and biotechnologies in wild felids. *Theriogenology*, *150*, 360-373. https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.02.004

Valdespino, C., Martínez-Mota, R., García-Feria, L. M., & Martínez-Romero, L. E. (2007). Evaluación de eventos reproductivos y estrés fisiológico en vertebrados silvestres a partir de sus excretas: Evolución de una metodología no invasiva. *Acta Zoológica Mexicana*, *23*(3), 151-180. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0065-17372007000300016

Venegas, F., Guillomot, M., Vignon, X., Servely, J.-L., Audouard, C., Montiel, E., Le Bourhis, D., Perón, S., Soto, P., & Rojas, M. (2006). Obtaiment of Pudu (*Pudu pudu*) deer Embryos by the Somatic Nuclear Transfer Technique. *International Journal of Morphology, 24*(2), 285–292. https://doi.org/10.4067/S0717-95022006000300026

Yin, X.-J., Lee, H.-S., Choi, E.-G., Yu, X.-F., Park, G.-Y., Bae, I., Yang, C.-J., Oh, D.-H., Kim, N.-H., & Kong, I.-K. (2007). In vitro maturation of oocytes derived from the brown bear (*Ursus arctos*). *Journal of Reproduction and Development, 53*(3), 685–690. https://doi.org/10.1262/jrd.18157

Younas, K., Numan, A., Ali, H., Bilal, H. M., Saeed, H., Huzaifa, M. A., Iqbal, K., Khan, R. A. A., Usman, M., & Raza, H. (2024). The role of assisted reproductive biotechnology (ARTs) in conservation biology. *Continental Veterinary Journal, 4*(1), 101–109. https://doi.org/10.71081/cvj/2024.013

Zahmel, J., Jänsch, S., Jewgenow, K., Sandgreen, D., Simonsen, K. S., & Colombo, M. (2021). Maturation and fertilization of African lion (*Panthera leo*) oocytes after vitrification. *Cryobiology*, *98*, 146-151. https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2020.11.011

8. ANEXOS

Tabla 3. TRA utilizadas en mamíferos silvestres según documentos analizados.

Especie	Cantidad	TRA	% Éxito	Éxito (observaciones)	Referencia bibliográfica	País
Canis lupus	1 preñez	IA	33.3%	Preñez	Asa et al; 2006	Estados Unidos
Canis lupus	1 preñez	IA, C	No se reporta	-	Asa et al; 2006	Estados Unidos
Canis lupus baileyi	3 preñeces	IA	100%	Preñez	Asa et al; 2006	Estados Unidos
Canis lupus rufus	1 camada	IA, C	No se reporta	-	Asa et al; 2006	Estados Unidos
Vulpes lagopus	No se reporta	IA, C	80%	Preñez	Asa et al; 2006	Estados Unidos
Vulpes vulpes	No se reporta	IA, C	80%	Preñez	Asa et al; 2006	Estados Unidos
Acinonyx jubatus	0 preñeces	IA, C	0%	Preñez	Howard y Wildt; 2009	Estados Unidos
Acinonyx jubatus	9 preñeces	IA, C	24.5%	Preñez	Thongphakdee et al; 2020	Tailandia
Acinonyx jubatus	6 preñeces	IA	46.2%	Preñez	Howard y Wildt; 2009	Estados Unidos
Felis lybica	No se reporta	TNS	1%	Ejemplares nacidos	Asa et al; 2006	Estados Unidos
Felis margarita	No se reporta	TNS	0.9%	Ejemplares nacidos	Asa et al; 2006	Estados Unidos
Leopardus pardalis	3 preñeces	IA, C	50%	Preñez	Thongphakdee et al; 2020	Tailandia
Leopardus tigrinus	1 preñez	IA	25%	Preñez	Thongphakdee et al; 2020	Tailandia
Neofelis nebulosa	3 preñeces	IA, C	43.3%	Preñez	Thongphakdee et al; 2020	Tailandia

Otocolobus manul	1 preñez	IA	No se reporta	-	Thongphakdee et al; 2020	Tailandia
Panthera leo	No se reporta	IIE, FIV	60%	Segmentación de ovocitos	Asa et al; 2006	Estados Unidos
Panthera leo	4 preñeces	IA	28.6%	Preñez	Thongphakdee et al; 2020	Tailandia
Panthera leo	23 embriones segmentados	MIV, IIE, C	48.7%	Maduración de ovocitos	Zahmel et al; 2021	Alemania
Panthera pardus saxicolor	1 preñez	IA	100%	Preñez	Thongphakdee et al; 2020	Tailandia
Panthera tigris	1 preñez	IA	10%	Preñez	Thongphakdee et al; 2020	Tailandia
Panthera tigris altaica	1 preñez	IA	No se reporta	-	Thongphakdee et al; 2020	Tailandia
Panthera uncia	1 preñez	IA	6.7%	Preñez	Thongphakdee et al; 2020	Tailandia
Prionailurus bengalensis	2 preñeces	IA, C	100%	Preñez	Thongphakdee et al; 2020	Tailandia
Prionailurus bengalensis eutilura	1 preñez	IA	50%	Preñez	Thongphakdee et al; 2020	Tailandia
Prionailurus viverrinus	No se reporta	IIE, FIV	70%	Segmentación de ovocitos	Asa et al; 2006	Estados Unidos
Puma concolor	1 preñez	IA	12.5%	Preñez	Thongphakdee et al; 2020	Tailandia
Mustela eversmanii	42 ejemplares nacidos	IA	80%	Preñez	Howard y Wildt; 2009	Estados Unidos

Mustela nigripes	139 ejemplares nacidos	IA	59.8%	Preñez	Howard y Wildt; 2009	Estados Unidos
Mustela nigripes	>4500 individuos liberados	IA, C, IO	64.3%	Individuos nacidos y liberados	Le Gac et al; 2021	Estados Unidos
Ailuropoda melanoleuca	1 ejemplar nacido	IA	100%	Preñez	Siriaroonrat et al; 2009	Tailandia
Ailuropoda melanoleuca	5 preñeces	IA, C	35.7%	Preñez	Asa et al; 2006	Estados Unidos
Ursus americanus	1 ejemplar nacido	TE	No se reporta	-	Asa et al; 2006	Estados Unidos
Ursus arctos	No se reporta	MIV	50%	Maduración de núcleo	Asa et al; 2006	Estados Unidos
Ursus arctos	3 ovocitos maduros	MIV	17.6%	Maduración de ovocitos	Yin et al; 2007	Estados Unidos
Ursus arctos	19 ovocitos maduros	MIV	59.4%	Maduración de ovocitos	Yin et al; 2007	Estados Unidos
Ursus maritimus	0 ejemplares nacidos	IA, IO	No se reporta	-	Curry et al; 2014	Estados Unidos
Balaenoptera borealis	38 ovocitos segmentados	FIV	16.2%	Segmentación de ovocitos	Bhuiyan et al; 2008	Japón
Balaenoptera edeni	13 ovocitos segmentados	FIV	6.6%	Segmentación de ovocitos	Bhuiyan et al; 2008	Japón
Addax nasomaculatus	1 ejemplares nacidos	IA, C	100%	Preñez	Morrow et al; 2009	Nueva Zelanda
Ammotragus lervia	2 ejemplares nacidos	IA	50%	Preñez	Morrow et al; 2009	Nueva Zelanda
Antidorcas marsupialis	0 ejemplares nacidos	IA, C	0%	Preñez	Morrow et al; 2009	Nueva Zelanda
Antilope cervicapra	6 ejemplares nacidos	IA, C	36.6%	Preñez	Morrow et al; 2009	Nueva Zelanda
Bos gaurus	3 ejemplares nacidos	IA, C	44%	Preñez	Morrow et al; 2009	Nueva Zelanda
Bos javanicus	3 ejemplares nacidos	IA, C	32%	Preñez	Morrow et al; 2009	Nueva Zelanda
Capra pyrenaica	2 ejemplares nacidos	IA	50%	Preñez	Morrow et al; 2009	Nueva Zelanda

Gazella spekei	1 ejemplares nacidos	IA, C	25%	Preñez	Morrow et al; 2009	Nueva Zelanda
Litocranius walleri	0 ejemplares nacidos	IA, C	62.5%	Preñez	Morrow et al; 2009	Nueva Zelanda
Nanger dama	1 ejemplares nacidos	IA, C	30%	Preñez	Morrow et al; 2009	Nueva Zelanda
Neotragus moschatus	No se reporta	IA, C	37.5%	Preñez	Morrow et al; 2009	Nueva Zelanda
Oryx beisa	0 ejemplares nacidos	IA, C	0%	Preñez	Morrow et al; 2009	Nueva Zelanda
Oryx dammah	14 ejemplares nacidos	IA, C	17.4%	Preñez	Morrow et al; 2009	Nueva Zelanda
Taurotragus oryx	1 ejemplares nacidos	IA, C	25%	Preñez	Morrow et al; 2009	Nueva Zelanda
Axis axis	14 ejemplares nacidos	IA, C	52.2%	Preñez	Morrow et al; 2009	Nueva Zelanda
Cervus elaphus	276 ejemplares nacidos	IA, C	49.1%	Preñez	Morrow et al; 2009	Nueva Zelanda
Cervus nippon	No se reporta	IA, C	35%	Preñez	Morrow et al; 2009	Nueva Zelanda
Dama dama	54 ejemplares nacidos	IA, C	58.6%	Preñez	Morrow et al; 2009	Nueva Zelanda
Elaphurus davidianus	3 embriones	IA, C	64%	Preñez	Morrow et al; 2009	Nueva Zelanda
Odocoileus virginianus	77 ejemplares nacidos	IA, C	71.8%	Preñez	Morrow et al; 2009	Nueva Zelanda
Pudu puda	44 embriones nacidos	TNS	77.5%	Embriones reconstruidos	Venegas et al; 2006	Chile
Rangifer tarandus	2 ejemplares nacidos	IA, C	20%	Preñez	Morrow et al; 2009	Nueva Zelanda
Rucervus eldii	12 ejemplares nacidos	IA, C	35%	Preñez	Morrow et al; 2009	Nueva Zelanda
Tursiops truncatus	5 preñeces	IA, C	62.5%	Preñez	Robeck et al; 2005	Estados Unidos
Elephas maximus	1 ejemplar nacido	IA, C	14.3%	Preñez	Thongphakdee et al; 2022	Tailandia
Elephas maximus	1 preñez	IA	16.7%	Preñez	Brown et al; 2004	Estados Unidos
Phascolarctos cinereus	34 ejemplares nacidos	IA	No se reporta	-	Johnston y Holt; 2014	Australia

IA: Inseminación artificial. C: Criopreservación. TNS: Transferencia nuclear somática. IIE: Inyección intraplasmática de espermatozoides. FIV: Fertilización in-vitro. MIV: Maduración in-vitro. IO: Inducción de la ovulación.