

Factores que afectan la eficiencia reproductiva y los bajos índices de preñez de la hembra receptora en un programa de transferencia de embriones bovinos en Colombia.

Oscar Eduardo Flórez Sarmiento.



Universidad Nacional Abierta y a Distancia  
Escuela De Ciencias Agrícolas, Pecuarias y del Medio Ambiente.  
Duitama.  
2014.

Factores que afectan la eficiencia reproductiva y los bajos índices de preñez de la hembra receptora en un programa de transferencia de embriones bovinos en Colombia.

Oscar Eduardo Flórez Sarmiento.  
Código 80225375.

Trabajo de grado modalidad monografía para optar al título de zootecnista.

Director  
Horacio Rojas Cárdenas  
Zoot, esp. Msc.

Universidad Nacional Abierta y a Distancia  
Escuela De Ciencias Agrícolas, Pecuarias y del Medio Ambiente.  
Duitama.  
2014.

Nota de Aceptación

---

---

---

---

---

Firma del Presidente del Jurado

---

Firma del Jurado

---

Firma del Jurado

Duitama octubre 27 del 2014

## Dedicatoria

A Dios. Por darme esta vida tan maravillosa, acompañándome en todos mis sueños y mis logros, siempre aconsejándome y guiándome por el camino del bien y permitirme llegar a la culminación de este proyecto de vida.

A mis padres. Luis Eduardo Flórez Rodríguez Y Nubia Esperanza Sarmiento López a quienes quiero mucho, por haberme dado la vida y haber echo de mí una persona de bien y con muchos valores y principios.

A mi mujer y compañera, Alba Milena Cuesta Ovalle, a quien amo y respeto por ser una persona incondicional y constante, persona con la cual compartí todo este maravilloso proceso, siempre estuvo ahí con su voz de aliento y su increíble personalidad, dándome todo el apoyo que siempre necesite.

A mis hijos. Mariana y Juan Manuel quienes son el mayor logro de mi vida y por quienes siempre luchare y sacare adelante como un gran padre, gran amigo y gran ejemplo.

A mi padrino. José Camacho, a quien quiero y respeto mucho por haber sembrado en mí el amor por el campo y los animales, además de haberme enseñado cosas importantes en mi vida y haber echo de mí una muy buena persona.

A mis hermanos, por ser grandes personas y sobre todo por todo su cariño y apoyo, dando siempre voz de aliento en momentos de debilidad.

A la familia Unadista, por ser una excelente institución, por brindar una profesión tan hermosa como lo es la zootecnia, por los inolvidables grandes momentos que compartimos y por sus grandes y maravillosas enseñanzas.

## **Agradecimientos**

Con admiración a la honorable jurado, Zootecnista MsC, Janeth Deháquiz.

A mi director y profesor, Zootecnista MsC Horacio Rojas, Gracias por las facilidades brindadas, su amistad, el apoyo, el tiempo dedicado y la confianza en la realización de este trabajo.

A mis tutores. Quienes con su amplia sabiduría, transmitieron conocimientos en mi formación académica, siempre brindando lo mejor de cada uno, en mi realización profesional y también como persona.

A la facultad de ciencias agrícolas pecuarias y del medio ambiente. ËCAPMA" UNAD Duitama. Por haberme abierto las puertas de esta gran institución brindandome la oportunidad de estudiar zootecnia.

Factores que afectan la eficiencia reproductiva y los bajos índices de preñez de la hembra receptora en un programa de transferencia de embriones bovinos en Colombia

### Resumen.

La transferencia de embriones en ganado bovino es una de las biotecnologías más difundidas en el mundo, ha tenido gran impacto a nivel zootécnico pues ha permitido incrementar la descendencia de reproductores de alto valor genético y ha venido difundiéndose muy marcadamente en los últimos años en Colombia. Sin embargo esta biotecnología que tiene un enorme potencial de mejoramiento genético se encuentra limitada por varios factores que disminuye su aplicación. Con el objeto de incrementar la eficiencia en estos programas se realizó una revisión bibliográfica de los factores que afectan la eficiencia reproductiva de la hembra receptora en un programa de transferencia de embriones bovinos tales como los aspectos asociados a la hembra donante, al embrión, aplicación de la técnica, a la hembra receptora, sincronismo donante-receptora, sincronismo embrión-receptora, desarrollo postransplante del embrión y finalmente se evaluaron algunas alternativas para incrementar las tasas de preñez.

Palabras claves: biotecnologías, genética, embrión, sincronismo, transplante, micromanipulación

## Abstract

Title: "factors affecting the reproductive efficiency and low pregnancy indices of receiving female in a program of cattle embryo transfer in Colombia"

Embryo transfer is one of the most widespread biotechnologies in the world and has had great impact on zoo technical level it has increased the offspring of high genetic value players and has been spreading very sharply in recent years in Colombia. However this biotechnology has enormous potential breeding is limited by several factors decreasing its application. In order to increase the efficiency of these programs a literature review of the factors affecting reproductive efficiency of the host female in a transfer program such as bovine embryos aspects associated with the female donor, the embryo was performed application technique, the receiving female donor-recipient synchronization, sync embryo-recipient, post-transplant embryo development and finally some alternatives were evaluated to increase pregnancy rates.

Keywords: biotechnology, genetics, embryo, sync, transplant, micromanipulation

## Contenido

	pág
Introducción.	11
1. Marco Referencial	14
1.1 Marco Teórico	14
1.2 Marco Conceptual	16
1.3 Marco Legal	18
1.4 Marco Geográfico	18
2. Metodología	21
2.1 Tipo de estudio	21
2.2 Definición de la población y muestra.	21
2.3 Fuentes de información	21
2.4 Instrumentos de recolección de Datos	22
3. Resultados	24
3.1 Posible causas que afectan los porcentajes de preñez en los programas de transferencia de embriones que se han venido realizando en el ganado bovino de Colombia.	24
3.2 Aspectos asociados a la eficiencia en el transplante de embriones relacionados con la hembra donante.	28
3.2.1 La selección de la hembra donante.	28
3.2.2 Estado del ovario en el momento del tratamiento.	33
3.2.3 Edad	35
3.2.4 Estado nutricional.	36
3.2.5 Historia reproductiva.	38
3.2.6 Tratamientos sucesivos.	38
3.2.7 Raza.	39
3.2.8 La multiovulación de la hembra donante	40
3.2.9 Gonadotrofina empleada.	41
3.3 Aspectos asociados a la eficiencia en el transplante de embriones relacionados al embrión.	44
3.3.1 Calidad embrionaria.	44



3.3.2	Estadio del desarrollo.	48
3.3.3	Calidad Embrionaria.	49
3.3.4	Edad embrionaria.	51
3.3.5	Criopreservación.	52
3.3.6	Micromanipulación.	53
3.4	Aspectos asociados a la eficiencia en el trasplante de embriones relacionados con la aplicación de la técnica.	54
3.4.1	Mecanismos para colectar los embriones.	54
3.4.2	Dificultad en el momento de la transferencia.	56
3.5	Aspectos asociados a la eficiencia en el trasplante de embriones relacionados con la hembra receptora.	58
3.5.1	Selección de la hembra receptora.	59
3.5.2	Importancia de la evaluación de las estructuras ováricas en la hembra receptora.	66
3.6	Desarrollo post-trasplante del embrión y activación de los mecanismos luteotropicos y luteoliticos.	73
3.6.1	Porcentaje de preñez.	78
3.6.2	Causas de mortalidad embrionaria.	79
3.6.3	Otros factores causantes de mortalidad embrionaria.	81
3.6.4	Factores relacionados con el momento de la transferencia.	91
3.6.5	Factores relacionados con el medio ambiente.	91
3.6.6	Factores relacionados con la nutrición	93
3.6.7	Factores de manejo y administrativos.	94
3.6.8	Factores genéticos.	96
3.7	Alternativas utilizadas con el fin de incrementar los porcentajes de preñez.	97
4.	Discusión	99
5.	Conclusiones.	104
6.	Recomendaciones.	106
	Referencias bibliográficas	108
	Anexos.	113

## Lista de tablas

	pág
Tabla 1. Promedio de embriones transferibles según el intervalo entre tratamientos.	39
Tabla 2. Porcentaje de preñez obtenido transfiriendo embriones congelados en diferente estadio de desarrollo	49
Tabla 3. Efecto de la calidad de embriones producidos in vivo y transferidos en fresco, sobre el porcentaje de preñez.	50
Tabla 4. Efecto de la calidad de embriones producidos in vivo previo a la congelación sobre el porcentaje de preñez.	50
Tabla 5. Tasa de preñez para las variables asociadas técnico que transfiere el embrión	58
Tabla 6. Porcentaje de preñez obtenido luego de transferir embriones congelados en diferentes categorías de receptoras.	63
Tabla 7. Porcentaje de preñez obtenido luego de transferir embriones congelados en diferentes categorías de receptoras.	64
Tabla 8. Tasa de preñez según CC de las receptoras	65
Tabla 9. Porcentajes de preñez obtenidos por distintos autores luego de efectuar transferencias sucesivas.	65
Tabla 10. Tasa de preñez (n) después de la 1, 2 y 3 transferencia de embriones producidos in vitro a la misma receptora. (Cutini A. Teruel M. Cabodevila J., 2000).	66
Tabla 11. Efecto de la calidad del CL sobre la tasa de preñez después de la transferencia de embriones.	69
Tabla 12. Relación entre la calidad del cuerpo lúteo y la preñez de las receptoras después de la transferencia de embriones producidos in vitro.	69
Tabla 13. Estudio de desarrollo embrionario codificado y edad estimada	71
Tabla 14. Efecto de la sincronidad donante/receptora y embrión/receptora sobre la tasa de preñez.	71
Tabla 15. Efecto del estadio del embrión sobre la tasa de preñez.	73
Tabla 16. Preñeces Mortalidad Embrionaria según el origen de las donantes.	81
Tabla 17. Relación tamaño del cuerpo lúteo/producción de P4 y porcentaje de preñez	88
Tabla 18. Tasa de preñez según la calidad del cuerpo lúteo	89
Tabla 19. Porcentaje de preñez obtenido en receptoras con diferente historia reproductiva.	90
Tabla 20. Efecto de las transferencias reiteradas en receptoras.	90

### **Introducción.**

En Colombia la demanda por la aplicación de la transferencia de embriones es cada vez mayor, pero la variabilidad en cuanto a los resultados tras la aplicación de esta es muy alta, debido a que no se toman en cuenta factores importantes en la selección de animales que entran en el programa de transferencia de embriones. De ahí que la transferencia de embriones se ve afectada por diversas variables o factores que podrían afectar su tasa de éxito, entre ellos: selección de las donadoras, recolección y clasificación de embriones, selección de hembras receptoras y aplicación de la técnica. Estos factores han sido estudiados tratando de estandarizarlos para obtener mejores resultados; pero sin duda uno de los factores más importantes en la obtención de resultados positivos, representado en preñeces y nacimientos, es la óptima selección de la hembra receptora que va a recibir un embrión alogénico en su útero, de tal manera que puedan brindarle unas condiciones adecuadas que permitan la supervivencia, implantación y desarrollo del embrión hasta que la preñez llegue a su término. Por este motivo es de suma importancia conocer los cambios que transcurre durante el ciclo estral y en las primeras etapas de desarrollo, para así poder determinar claramente los factores que van a incidir de manera directa sobre la eficiencia en un programa de transferencia de embriones. Esta Monografía persigue entonces el estudio, la investigación y el análisis posterior de resultados para poder entender y tener una dirección mejor encaminada en cuanto al tema objeto de este trabajo.

El proceso reproductivo constituye la esencia de la renovación biológica en todas las especies, una alta eficiencia reproductiva es requisito indispensable para el éxito económico no solo de la ganadería de leche sino también para la de carne.

La baja eficiencia reproductiva se traduce en baja producción de leche y por ende baja tasa de producción de terneros al año, que en un sistema de doble propósito significara grandes pérdidas de producción de carne anual.

El proceso reproductivo está regulado directamente por el sistema endocrino y está influenciado fuertemente por las condiciones ambientales en las que se desenvuelven los animales, En condiciones normales, cada vaca produce una sola cría al año, lo cual significa que cuando mucho producirá 6 a 8 becerros durante su vida. A través de la inseminación artificial se pueden obtener miles de crías de un toro; con la transferencia de embriones se han llegado a tener más de cien crías de una vaca durante su vida productiva, lo cual facilita el mejoramiento genético, con el consecuente incremento de la producción de carne y/o leche.

Esta monografía está encaminada y direccionada a investigar, analizar y actualizar los efectos adversos que influyen en los bajos índices de preñez en las receptoras para los programas de transferencia de embriones en Colombia, ya que la demanda por la aplicación de la transferencia de embriones es cada vez mayor, pero la variabilidad en cuanto a los resultados tras la aplicación de esta es muy alta, debido a que no se toman en cuenta factores importantes en la selección de animales que entran en el programa de transferencia de embriones. De ahí que la transferencia de embriones se ve afectada por diversas variables o factores que podrían afectar su tasa de éxito, entre ellos: selección de las donadoras, recolección y clasificación de embriones, selección de hembras receptoras y aplicación de la técnica.

El objetivo general es analizar y actualizar los factores que pueden afectar la eficiencia reproductiva de la hembra receptora en un programa de transferencia de embriones y las alternativas utilizadas con el fin de incrementar los porcentajes de preñez y la eficiencia de los programas de TE en bovinos en Colombia.

Dentro de los objetivos específicos se tiene.

Realizar una revisión bibliográfica sobre las posibles causas que afectan los porcentajes de preñez en los programas de transferencia de embriones que se han venido realizando en el ganado bovino de Colombia.

Evaluar algunas variables asociadas a la transferencia de embriones que pueden afectar las tasas de preñez en las hembras receptoras.

Actualizar información sobre las nuevas técnicas y avances que se han realizado en cuanto a los trabajos realizados en transferencia de embriones

## **1. Marco Referencial**

### **1.1 Marco Teórico**

El marco teórico contiene información propia sobre la Transferencia Embrionaria (TE) es una técnica que permite lograr un mayor aprovechamiento de los animales genéticamente superiores, como toda técnica posee muchas ventajas, y algunas desventajas. Algunas de las ventajas que trae aparejada su utilización son: mayor progreso genético, multiplicación de los llamados fenotipos deseables, comercialización de embriones, etc. El desarrollo de tratamientos de sincronización que posibilitan efectuar la transferencia de embriones a tiempo fijo (TETF), ha sido un aporte significativo ya que no sólo mejora el manejo de las receptoras debido a la omisión de la detección de celo, sino que también posibilita un mayor aprovechamiento de las mismas. El resultado de la TE se ve influenciado por distintas variables que se pueden agrupar como, relacionadas con el embrión, con la receptora y con la transferencia propiamente dicha, por ello este trabajo abordara diferentes temas relacionados a la transferencia de embriones y sus bajos índices de preñez en bovinos, tomando como referencias distintos textos, bibliografías, webgrafia y otros instrumentos como revistas, periódicos y demás para el buen desarrollo del mismo, que posteriormente serán citados.

A mediados de los años setenta, la tecnología de transferencia de embriones (TE) se usó comercialmente para multiplicar rápidamente animales de genética valiosa. Posteriormente, con la congelación de embriones, se crea la posibilidad de movilizar animales entre países con barreras sanitarias. En la última década, con el uso comercial de embriones producidos *in vitro* (PIV) se dinamizó la producción de los mismos; en la práctica, son múltiples los factores que pueden influir en los resultados de los programas de TE, estos tienen orígenes muy diversos:

factores del embrión (estado de desarrollo, calidad, componente genético, etc.), factores de la receptora (condición corporal, cuerpo lúteo) y factores externos (época del año, factores de manejo de los animales (Thibier, 2002; 2003; 2004; 2005; 2006). Este documento abordará los temas asociados a los factores que podrían afectar las tasas de preñez en los programas de TE.

La investigación reseña aspectos fundamentales de los factores que afectan el bajo índice de preñez en hembras receptoras bovinas, encaminados a la transferencia de embriones. Entre los que se encuentran los factores extrínsecos e intrínsecos ya que inciden en gran medida en los resultados y deben ser tenidos en cuenta en la implementación de biotecnologías reproductivas bovinas, de igual forma se menciona la el referente legal que rige la aplicación de biotecnologías reproductivas bovinas garantes de buen uso del material genético obtenido sin que represente algún tipo de riesgo para el ser humano. Para mayor comprensión del contenido en uno de los ítems se recopila una serie de conceptos técnicos que pudieran en algún momento dificultar la comprensión de la temática expuesta.

Mundialmente se acepta que en los programas de transferencia embrionaria se puede obtener un 50% de preñez promedio en trabajos realizados con técnicas similares. Distintos autores reportan resultados similares en diferentes países, tanto para embriones obtenidos por métodos convencionales como para los embriones producidos *in-vitro* (PIV). Hasler (2001) en su estudio reporta datos de 20 años de Transferencia de Embriones convencionales en vacas Holstein para Norte América donde para un total de 14.699 transferencias en diferentes locaciones y a largo de diferentes años (1987, 88, 91 y 92) se han obtenido tasas de preñez que varían entre 40 y 70%. Thibier (2005) reporta datos del laboratorio de la unión Nacional de Cooperativas de Inseminación artificial en Francia (UNCEIA; París, Francia, 2005) quienes en su programa comercial de Transferencia de embriones PIV reportan 46.3% de preñez al día 90. Para

este autor los resultados de Transferencia de Embriones (TE) convencionales y PIV son similares. Siendo estos resultados de preñez total comparables con los obtenidos por Franco (2006), y con los de Thibier (2005) por lo que se puede concluir que la tasa de preñez de trabajos de Transferencia de embriones PIV puede variar entre 43 y 46%. (Oyuela A., 2009).

## **1.2 Marco Conceptual**

Haciendo referencia a aquellos conceptos fundamentales que harán parte del trabajo de investigación, se procede a especificar el significado que para la comprensión del mismo por parte del lector requiere de precisión y objetividad.

**Transferencia de embriones:** Es una técnica para el mejoramiento genético del ganado, consiste en provocar que una vaca o vaquilla "donadora", mediante un tratamiento hormonal e inseminación con un toro probado con un alto valor genético, produzca varios embriones que siete días después le son extraídos para ser transferidos a otras hembras "receptoras", que previamente fueron sincronizadas con el calor de la "donadora". La receptora no transmite ninguna característica genética a la cría y sólo sirve para mantenerla hasta el parto y durante la lactancia.

**Prostaglandina F2 $\alpha$ :** Es una hormona producida en el endometrio cuya función es provocar la regresión del cuerpo (CL) evento que marca el fin del diestro e inicio del proestro. La administración de PGF2 $\alpha$  entre los días 6-16 del ciclo estral provoca el estro en las siguientes 48-120 horas, razón por la cual en la actualidad se utiliza para sincronización del estro en grupos de hembras. (Gasque, 2008)

**Progestágenos:** Constituyen un grupo de hormonas esteroides liposolubles, termoestables y que no se inactivan por vía digestiva. Estas propiedades hacen posible administrarlas por vía oral, a través de la mucosa vaginal o en implantes subcutáneos de liberación prolongada. La



función principal es la de suprimir la secreción de LH, con lo que se inhibe la maduración final del folículo y la ovulación. (Gasque, 2008)

Hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH): Es un neurotransmisor. Cuando el hipotálamo libera GnRH, ésta es receptada por la hipófisis o pituitaria anterior para que produzca la liberación de FSH y LH al torrente sanguíneo. La GnRH tiene un efecto directo sobre la oleada preovulatoria que se inicia por los altos niveles de estrógenos procedentes del folículo que se está madurando

Superovulación: Puede ser definida como el desarrollo de más de un folículo y la subsiguiente ovulación. Dividiéndose en dos fases, la primera consiste en el desarrollo y maduración de más de un folículo causado por el efecto generado por la hormona (FSH), la segunda consiste en la ruptura de los folículos con la subsiguiente ovulación provocada por la administración de la hormona gonadotrópica con efectos luteinizantes (LH).

Sobreestimulación: Este término es frecuentemente utilizado cuando una donadora da un gran número de oocitos o no se recuperan estructuras a pesar de que el ovario está significativamente aumentado de tamaño.

Calor, celo, estro: Período de receptividad sexual en la hembra.

Cuerno ipsilateral: Cuerno adyacente al ovario que posee el cuerpo lúteo.

Donante: Hembra de la cual se colectan embriones.

Embrión: Huevo fertilizado, oocito fertilizado, ovum.

FSH: Hormona folículo estimulante.

Gonadotrofina: Hormona que estimula los ovarios y testículo.

Oocito: Huevo no fertilizado.

PMS-G: Gonadotrofina sérica de yeguas preñadas.

Receptora: Hembra que recibe un embrión proveniente de otra hembra.

Cuerpo luteo: glandula endocrina de tipo transitorio en el ovario de la hembra encargado de la producción de progesterona.

P4: progesterona.

Gestación: desarrollo embrionario y fetal que se lleva en el útero.

I.A: inseminación artificial.

IATF: inseminación artificial a término fijo.

TETF: transferencia embrionaria a término fijo.

TE: transferencia de embriones.

### **1.3 Marco Legal**

Según la normatividad expuesta por (IETS) internacional Embryo Transfer Society que se refiere a los estándares de identificación y correcta trazabilidad de embriones.

Respeto por los periodos de retiro contenidos en el decreto 616. Del año 2006 (decreto 616,2006 min. De protección social. 2006; Tecnología de los animales de granja. I. Gordon.

Res. Del ICA 02820 del 11 de octubre de 2001. Por la cual se dictan disposiciones para el control técnico de producción, importación y comercialización de material seminal y embriones.

### **1.4 Marco Geográfico**

Ubicación geográfica Colombia tiene una superficie de 1.141.748 km<sup>2</sup>. Está ubicada en la parte noroeste de Sudamérica, limita al norte con Panamá y el mar Caribe, al este con Venezuela y Brasil, al sur con Perú y Ecuador y al oeste con el océano Pacífico.

La diversidad natural ha sido determinante en el aspecto cultural; las relaciones entre los indígenas autóctonos, los descendientes de los colonos españoles y la población llevada de África ha dado como resultado una población mayoritariamente mestiza.

Contiene el 10% de la flora y fauna del mundo, pese a que su extensión geográfica apenas alcanza el 1% de la tierra. Está dominada por una topografía de montañas: La cordillera de los Andes está separada por los ríos más importantes; el Magdalena y el Cauca. Esto ha determinado los flujos de población concentrándose el 70% alrededor de las montañas y en la actualidad en las principales ciudades: Bogotá, Medellín, Cali, Barranquilla, Bucaramanga y Cartagena.

Importancia. La transferencia embriones se define como el proceso por el cual un embrión es recolectado (lavado) desde una hembra (donante o donadora) y transferido a otra hembra (la receptora) para completar el periodo de gestación.

Desde hace cerca de 40 años se viene desarrollando la transferencia de embriones (TE), técnica conducente a mejorar las características deseables de un hato ganadero, ya que a través del aumento del número de embriones y terneros, el potencial genético de la hembra puede emplearse con más eficiencia, lo cual facilita la implementación de programas de mejoramiento genético.

Para la ganadería colombiana esta biotecnología puede constituirse en una fuente fundamental de aprovechamiento de la genética de nuestras hembras bovinas, en las cuales se encuentren características como adaptación, rusticidad, productividad en características deseables, y reproducción eficiente, de manera que desde nuestros propios recursos genéticos se aproveche la posibilidad de mejorar el hato nacional, en lo posible con una estimación adecuada del valor genético con el que se cuenta, y de forma fundamental según los fines productivos y

comerciales que se busquen, para cubrir las demandas internas y el comportamiento de los mercados internacionales.

En la actualidad, la tecnología de transferencia de embriones es usada en muchos países alrededor del mundo, con un estimado de 530.000 embriones transferidos anualmente. Con promedios de recuperación de embriones por sesión, con calidad de transferibles de 5.9, según Thibier en 2008.

En el 2000, el 93% de transferencias, fueron de embriones producidos in vivo, y solo un 7% para embriones producidos in vitro.

## **2. Metodología**

Monografía de recopilación de Información, este trabajo se realiza tomando como referencia trabajos realizados en Colombia, ya que La transferencia de embriones (TE), como herramienta de mejoramiento, posicionando al país como productor de ganados elite especialmente de la raza Brahman.

### **2.1 Tipo de estudio**

Por la naturaleza del estudio se requirió la recopilación documental, que se trata del acopio de los antecedentes relacionados con la investigación. Para tal fin se consultaron documentos escritos, formales e informales, además de muchos documentos científicos, libros, textos, revistas especializadas. Consultas por internet, páginas especializadas de entidades dedicadas a la reproducción bovina, etc.

### **2.3 Fuentes de información**

Para el desarrollo de esta investigación fue necesario utilizar herramientas que permitieron recolectar el mayor número de información necesaria, con el fin de obtener un conocimiento más amplio de la realidad de la problemática.

Fuentes de información secundarias. Por naturaleza del estudio se requirió la recopilación documental, que se trata del acopio de los antecedentes relacionados con la investigación. Para tal fin se consultaron documentos escritos, formales e informales, además de muchos documentos científicos, libros, textos etc.

Materiales de campo y laboratorio. Los materiales que han sido requeridos para estos trabajos de investigación son: Lugares como fincas, laboratorios, establos. Granjas etc, y materiales necesarios para el trabajo de campo como: vacas, medicamentos, agujas, jeringas,

sondas, pipetas, cajas de Petri, mangas, pistolas de inseminar y de transferencia, equipos quirúrgicos, pajillas, termos y demás implementos requeridos para el programa de transferencia de embriones.

#### **2.4 Instrumentos de recolección de Datos**

Los datos que se pueden observar en este trabajo de investigación es que los investigadores, utilizaron instrumentos de recolección de datos como: registros de campo, documentación, notas, anexos fotográficos y de video

Técnicas de campo y/o laboratorio.

En Colombia, la transferencia de embriones ha cobrado gran importancia en las últimas dos décadas, en procura de obtener animales de alto valor genético, incrementando la progenie de vacas élite. El presente trabajo tiene como finalidad, investigar, indagar, actualizar haciendo una muy buena revisión bibliográfica sobre los factores que influyen por los bajos índices de preñez en la hembra receptora de los programas de transferencia de embriones, tomando, estudiando y analizando los factores: hormonales, nutricionales, raza, edad, clima, protocolos, alojamiento, sanidad, manejo para esto la definición tiene que ser clara, para que personas que no sean afines a la profesión la puedan entender, entonces: La transferencia embriones se define como el proceso por el cual un embrión es recolectado (lavado) desde una hembra (donante o donadora) y transferido a otra hembra (la receptora) para completar el periodo de gestación.

La finalidad de este trabajo es encontrar, observar, indagar y dar a conocer factores que afectan el bajo índice de preñez en la hembra receptora, con este programa de transferencia de embriones, ya que Para la ganadería colombiana esta biotecnología puede constituirse en una fuente fundamental de aprovechamiento de la genética de nuestras hembras bovinas, en las cuales

se encuentren características como adaptación, rusticidad, productividad en características deseables, y reproducción eficiente, de manera que desde nuestros propios recursos genéticos se aproveche la posibilidad de mejorar el hato nacional, en lo posible con una estimación adecuada del valor genético con el que se cuenta, y de forma fundamental según los fines productivos y comerciales que se busquen, para cubrir las demandas internas y el comportamiento de los mercados internacionales.

### **3. Resultados**

#### **3.1 Posible causas que afectan los porcentajes de preñez en los programas de transferencia de embriones que se han venido realizando en el ganado bovino de Colombia.**

**Transferencia de embriones.** Es una técnica para el mejoramiento genético del ganado, consiste en provocar que una vaca o novilla "donadora", mediante un tratamiento hormonal e inseminación con un toro probado con un alto valor genético, produzca varios embriones que siete días después le son extraídos para ser transferidos a otras hembras "receptoras", que previamente fueron sincronizadas con el calor de la "donadora". La receptora no transmite ninguna característica genética a la cría y sólo sirve para mantenerla hasta el parto y durante la lactancia.

Importancia de la transferencia embrionaria. La tecnología de la transferencia de embriones (TE) en bovinos requiere de la selección y el manejo, tanto físico como farmacológico, de las donadoras y las receptoras, y también de la recolección y transferencia de los embriones dentro de un periodo corto y específico después del estro (Mapletoft, 2006).

La TE se realiza desde hace más de treinta años (Merton et al., 2003, citado por Mollo et al, 2007). Hoy en día es muy utilizada en todo el mundo (Cutini, et al., 2000; Duica, et al., 2007) y tiene como principal objetivo la obtención de crías a partir de donadoras genéticamente superiores, utilizando el útero de receptoras de menor valor económico para llevar la gestación a término (Bó, 2000).

Ventajas de la transferencia de embriones.

Dentro de las ventajas que presenta la técnica se pueden mencionar (Duica et al, 2007):

Obtención de una descendencia genéticamente superior.



Disminución del riesgo de contagio de enfermedades infecciosas.

Mejoramiento genético de un grupo de animales a corto plazo.

Multiplicación de las características de una hembra genéticamente superior.

Rescate genético de animales accidentados o enfermos permanentes de los que se pudieran obtener embriones antes de que el animal muera.

Movimiento nacional e internacional de animales de alto valor genético (importación y exportación).

Maximiza el uso de material seminal de alto valor.

Permite hacer una planificación de los cruzamientos.

¿Qué otras Ventajas tiene la Transferencia de Embriones?

Permite hacer una rigurosa selección por el lado materno logrando un progreso genético acelerado.

Se pueden obtener crías de novillas que aún no alcanzan la edad y peso para cargarse, ya que será la receptora quien se encargue de mantener la preñez y parir la cría.

Es posible obtener terneros de vacas de alta calidad que por enfermedad o edad avanzada ya no son capaces de producir por si mismas una cría.

Con la ayuda de la bipartición de embriones se pueden obtener partos gemelares y aumentar la cosecha de terneros, sin el riesgo de obtener hembras estériles ya que ambas crías, proceden del mismo. (Duica et al, 2007):

**Transferencia de embriones a tiempo fijo.** Uno de los principales inconvenientes que posee la técnica de TE es la detección de celos en las receptoras, sobre todo en animales *Bos Indicus* (Peres et al., 2006). Esto se debe a la baja eficiencia que existe en la detección del celo hecho que influye en el costo de mantenimiento de una receptora hasta que queda preñada y en

consecuencia en el costo de la preñez lograda siendo considerado uno de los puntos críticos de la técnica de TE (Beal y Hinshaw, 2000, citado por Peres et al., 2006). Entre los factores que afectan la detección de celos se puede nombrar a la persona encargada de la misma, en cuanto al tiempo que utiliza en realizar dicha actividad. Otro factor que influye es la cantidad de vacas que conformen el rodeo, debido a que si hay muchas vacas en celo al mismo tiempo ellas se agruparán formando el grupo sexualmente activo y facilita dicha actividad. Con el fin de evitar la detección de celos se desarrollaron métodos de sincronización de la ovulación para facilitar la TE en forma sistemática, o también llamada transferencia de embriones a tiempo fijo (TETF) en donde se mejora no solo el manejo del rodeo debido a la omisión de la detección de celo, sino que también se obtiene un mayor aprovechamiento de las receptoras que inician el programa de sincronización.

Dichos métodos corresponden a tratamientos mediante el uso de GnRH, administrada al día 0, un agente luteolítico (PGF) en el día 7 y una segunda dosis de GnRH en el día 9 (Protocolo Ovsynch) que ha dado resultados aceptables. Un método alternativo al mencionado es el uso dispositivos con P4 combinado con estradiol, permitiendo este una efectiva sincronización de la nueva onda folicular. En el momento de retirar el dispositivo se administra PGF. Luego de retirado el dispositivo se aplica estradiol o hCG resultando en una efectiva sincronización de la ovulación y en aceptables tasas de preñez. Además, adelantando el momento de la aplicación de la PGF y administrando una dosis de eCG se ha logrado incrementar las tasas de preñez en receptoras de embriones tratadas con dispositivos con P4 y estradiol (Bó et al., 2006).

En conclusión, se puede optar según costos y posibilidades propias de cada establecimiento, por un tratamiento (con detección de celos) u otro (TETF). Un protocolo que resulta en una tasa de receptoras transferidas del 80 al 85% y una tasa de preñez final del 50% es

económicamente eficiente, sobre todo teniendo en cuenta que elimina la necesidad de la detección de celos y disminuye el intervalo desde el tratamiento a la preñez (Bó et al., 2006).

### **Factores que afectan la eficiencia reproductiva y los bajos índices de preñez de la hembra receptora en un programa de transferencia de embriones bovinos en Colombia**

El éxito de un programa de TE se mide por el número de terneros que nacen vivos por hembra donante en un determinado lapso de tiempo (Peres et al., 2006). Los resultados se ven afectados por una serie de factores inherentes a la donante, al embrión, a la aplicación de la técnica y a las receptoras, quienes reciben un embrión extraño a nivel uterino, permitiendo su desarrollo gestacional (Duica et al., 2007; Peres et al., 2006).

Factores como la raza de los animales a utilizar, selección de la donante así como la receptora, manejo de las hembras, respuesta de los animales a los tratamientos de sincronización, técnica para realizar la TE, día en que se efectúa la transferencia del embrión, calidad del embrión, respuesta de la receptora al embrión transferido, interacción embrión-hembra han sido estudiados tratando de estandarizarlos para obtener mejores resultados; pero sin duda uno de los factores más importantes en la obtención de resultados positivos, representados en preñeces y nacimientos, es la óptima selección de la hembra que va a recibir un embrión en su útero, de manera tal que pueda brindarle unas condiciones adecuadas que permitan la supervivencia, nidación y desarrollo de este. Esta gran cantidad de factores que afectan el éxito de la TE, explican la variabilidad de los resultados obtenidos.

Dentro de los factores embrionarios, la calidad influye claramente en el resultado de la transferencia, independientemente de que los embriones sean frescos, criopreservados, micromanipulados y/o producidos in vitro (Cutini et al., 2000). La congelación afecta la viabilidad de los embriones producidos in vivo, no obstante, como las diferencias no son

sustanciales se compensan con las ventajas que la técnica trae aparejada. La viabilidad post transferencia de los embriones producidos in vitro y/o micromanipulados es marcadamente inferior a la de los embriones producidos in vivo, tales diferencias se acrecientan cuando dichos embriones son criopreservados (Cutini et al., 2000).

### **3.2 Aspectos asociados a la eficiencia en el transplante de embriones relacionados con la hembra donante.**

La hembra donante de embriones ha sido uno de los puntos más estudiados en los programas de TE; debido a esto, se han realizado gran número de investigaciones e importantes avances en materia de selección de este tipo de animales, para de esta forma, obtener mejores resultados en la colecta de embriones bovinos, ya que este es el producto final que se obtiene de la hembra donante. (Cutini et al., 2000).

#### **3.2.1 La selección de la hembra donante.**

Es importante hacer una adecuada selección de la hembra donante ya que esta interviene directamente en los resultados obtenidos tras la aplicación de la técnica. Además de la superioridad genética en estas, se deben tener en cuenta los siguientes factores como ciclos estrales regulares, precocidad reproductiva, dos o menos servicios por concepción en los años anteriores, comportamiento individual superior a la media del grupo en características de importancia productiva (peso al destete, al año y a los dieciocho meses), que produzca crías superiores a la media del hato, especialmente comparado con las hermanas de la hembra (descendientes del mismo toro), ningún problema al parto, ninguna irregularidad reproductiva, así como ningún defecto genético o de conformación detectable (Bó, 2002).

Las hembras donantes deben ser incluidas en un programa de nutrición balanceada antes de efectuar el proceso de superovulación, donde se debe procurar administrar forrajes que brinden al animal los nutrientes necesarios para que se cumplan las funciones reproductivas, además de la incorporación de productos que proporcionen al animal adecuados niveles energéticos en la dieta así como suplementos vitamínicos y minerales (Gómez, 2005).

Se debe evitar el uso de animales obesos como donantes, ya que esta condición puede incidir directamente sobre la producción de los embriones (Palma, 2001). Todos estos factores acompañados de un excelente manejo sanitario van a hacer que se obtengan óptimos resultados en el proceso de obtención de embriones.

Así mismo, es necesario determinar qué tipo enfermedades están presentes en la hembra, ya que los embriones, además de transportar una valiosa información genética, también pueden ser una importante fuente de diseminación de enfermedades reproductivas, tales como las producidas por el herpes virus bovino Tipo (rinotraqueitis infecciosa bovina IBR), el virus de la diarrea viral bovina (DVB), Leucosis Viral Bovina, agentes bacterianos como *Brucella abortus*, *Campylobacter foetus Subs. Venerealis*, *leptospira interrogans serovar hardjo* y de otras bacterias como *Streptococo agalactiae*, *Actinomyces pyogenes* y *E. coli*, ya que el agente infeccioso va a estar presente en las células embrionarias o asociado con la zona pelúcida (Stingfellow, 2000). En los mamíferos, la zona pelúcida consiste en una matriz extracelular o “cubierta externa” que rodea a los ovocitos pre y ovulatórios, y a los embriones jóvenes hasta la fase de blastocisto cuando inicia la eclosión, que es cuando se fracciona esta área. Los embriones salen de zona pelúcida entre los ocho y los nueve días de edad (Gordon, 1999; Jiménez, 2005).

Además de tener estos puntos en cuenta, también se debe verificar que a la hembra donante se le dé un período postparto mínimo de 60 días, para que se garantice una efectiva

involución uterina y mostrar una buena ciclicidad reproductiva (Gonzales & Stagnaro, 2001). Es de extrema importancia que no se encuentre con un ternero al pie, para evitar el estrés de la lactancia y cuidados del ternero, logrando así un mayor rendimiento de la madre en este proceso biotecnológico (Palma, 2001).

Gran parte de las investigaciones se han dirigido al estudio de factores como el tipo de gonadotropina a ser utilizada en el protocolo de apoyo hormonal, evaluando cuál es más efectivo para producir ovulaciones múltiples con oocitos de buena calidad que generen un embrión excelente después de la fecundación. Pero tiene un valor importante en una superovulación exitosa, el desarrollo y el número de los folículos presentes a nivel ovárico al momento de la evaluación de la respuesta de la hembra donadora al tratamiento hormonal, por eso es de gran importancia hacer evaluaciones y seguimiento de los tamaños de las estructuras ováricas a lo largo de las diferentes etapas de la técnica de TE (Bó, 2003).

En la técnica de TE se busca que la hembra donante de embriones, ovule no una sino varias veces, por este motivo se comenzó desarrollar una técnica que brinda la biotecnología de la reproducción llamada multiovulación o superovulación de las hembras donantes de embriones. El objetivo principal de los tratamientos de superovulación en vacas es producir un gran número de folículos ovulatorios, que van a generar un número mayor de oocitos, para el momento de la IA obtener el máximo número de embriones transferibles o transplantables (Adams, 1992).

Actualmente se maneja un gran número de protocolos de superovulación en las hembras donantes de embriones los cuales utilizan gonadotropinas; se han utilizado tres tipos diferentes para inducir superovulación en hembras bovinas. Entre los cuales tenemos, extractos de pituitaria, gonadotropina coriónica de yegua preñada (eCG) y gonadotropina menopausica humana (hMG) (Bó, 2003).

Los resultados de los estudios muestran que para obtener mayor efectividad en el proceso de superovulación, el tratamiento debe iniciarse cuando comienza la onda de desarrollo folicular, antes de la selección del folículo dominante (Baruselli, 2003).

Así mismo, es importante tener en cuenta el tipo de tratamiento a emplearse en el protocolo de multiovulación, ya que hay varios fármacos que generan este efecto; como es el caso de la comparación que se efectuó entre productos de origen hormonal que generan multiovulación y extractos de glándula pituitaria porcina en los que se ultrafiltra la hormona foliculoestimulante (FSH), encontrándose diferencias significativas ( $P < 0,05$ ), ya que al aplicar este tipo de extractos que contienen alto porcentaje de hormona FSH, se encontraron 94% de embriones fertilizados y 68% de embriones transferibles. Mediante el uso de extractos de glándula pituitaria ultrafiltrada con bajo contenido de LH se recuperaron 90% de embriones fertilizados pero 52% de embriones transferibles y con la aplicación de gonadotropin coriónica de yegua preñada (eCG), la cual genera una acción folículo estimulante, pero contiene LH, se obtuvo un 77% de embriones fertilizados y un 57% de embriones transferibles; de esta manera se confirma que al utilizar extractos de glándula pituitaria porcina libre de hormona LH, se obtienen mejores resultados en el tratamiento para multiovulación, ya que por medio de estos se aplica hormona folículoestimulante (FSH) de alta pureza. Al aplicar estos ultrafiltrados de hormona FSH que tienen poca contaminación de hormona LH se obtiene una mejor respuesta multiovulatoria en los animales tratados (Grasso, 1989). Hallazgos similares fueron encontrado al aplicar tratamiento súper estimulatorio a tres grupos de vacas lecheras con dosis 450 $\mu$ g de FSH y variables cantidades de LH, encontrando que la tasa media de ovulación y el número de embriones recuperados y transferibles incrementaba en relación a la disminución en la aplicación de LH (Tribulo, 2002).

Lo cual se confirmaría con una serie de estudios en los que se evidencian las ventajas de la aplicación de los extractos de glándula pituitaria porcina, los que se someten a un procedimiento de ultrafiltrado para obtener hormona folículo estimulante (FSH) de alta pureza, con respecto a los extractos de pituitaria porcina a los cuales no se les retira la hormona luteinizante (LH) (Hasler, 1993; Bergfelt, 1994; Bó, 1994; Schallenberger, 1994).

La FSH se utiliza en protocolos superovulatorios de 4 días de aplicación dentro del marco del protocolo de sincronización para, de esta manera, poder obtener un ciclo sincronizado, en el que se controla el desarrollo folicular y una multiovulación desencadenada por la aplicación exógena de hormona FSH.

El protocolo de súper ovulación completo hasta el día de colecta de embriones dura 17 días. El día cero, se inserta el dispositivo intravaginal de liberación lenta de progesterona, sumado a este, el mismo día se aplica benzoato de estradiol para así producir un efecto supresor sobre la producción de gonadotropinas a nivel hipotalámico, al no liberarse la hormonas gonadotropicas se va a inducir atresia en los folículos antrales que se encuentren en ese momento presentes a nivel ovárico (Baruselli, 2003). El día 4 disminuye dicho bloqueo, ya que los niveles de estrógeno exógeno disminuyen; este es el día ideal para iniciar el tratamiento súper ovulatorio ya que se inicia la onda de desarrollo folicular. Al iniciar este día la aplicación de la FSH antes que se dé la selección del folículo dominante se obtendrá el crecimiento de un grupo de folículos logrando el objetivo de la técnica de multiovulación (Bungarts, 1994; Bó, 1996); la aplicación de la FSH se hace durante cuatro días en aplicaciones cada 12 horas para tener niveles los necesarios de hormona en el organismo del animal, permitiendo que esta ayuda hormonal produzca una multiovulación efectiva (Hasler, 1993). El día 6 se aplica prostaglandina F2 $\alpha$ , con el fin de producir la lisis de cualquier cuerpo lúteo que se encuentre presente a nivel ovárico, el día 7 se



retira el dispositivo de liberación lenta de progesterona con el objetivo de aumentar la liberación de estrógeno y el día 8 se aplica GnRH la cual va a producir una liberación transitoria de LH para favorecer la ovulación, seguido de la inseminación artificial a tiempo fijo 12 y 24 horas después de la aplicación de la GnRH, realizando finalmente una colecta de embriones el día 17 (Baruselli, 2003).

Después de colectados los embriones se realiza la TE en fresco a hembras receptoras, que están sincronizadas y se encuentran en el día 7 después de la ovulación para que coincida con la edad del embrión; o también es posible criopreservar los embriones. A nivel experimental este protocolo de multiovulación o súper ovulación es el más utilizado ya que ha presentado mejores resultados en comparación con otros protocolos (Hasler, 1993; Bó, 1994; Nigro, 1996; Nigro, 2002; Baruselli, 2003; 2005; Zanenga, 2003).

### **3.2.2 Estado del ovario en el momento del tratamiento.**

Los resultados de los estudios muestran que para obtener mayor efectividad en los procesos de superovulación, el tratamiento debe iniciarse cuando comienza la onda de desarrollo folicular, antes de la selección del folículo dominante. (Duica A.Tovio N. Grajales H, 2007)

Las gonadotrofinas exógenas provocan la ovulación de folículos antrales de tamaño mediano, una mayor proporción de estos folículos se encuentran en los ovarios entre los días 0-5 y 9-13 del ciclo estral. Esto hizo suponer una mejor respuesta superovulatoria a tratamientos efectuados en esos días. (Cabodevila J, Torquati S, 2008)

Para lograr los resultados esperados al iniciar los tratamientos superovulatorios se debe tener en consideración la influencia que ejerce el folículo dominante en el, la atresia de los folículos subordinados, pues aunque tanto el folículo dominante funcionalmente como los subordinados son capaces de responder a los tratamientos gonadotróficos, dichos tratamientos

deben iniciarse antes de que ocurra el proceso irreversible de la atresia folicular para obtener buena respuesta superovulatoria y calidad de los embriones. (Cordovez Zulema, 2010) Se ha observado una menor respuesta en las que comenzaron el día 3 con respecto a las que lo hicieron el día 9. Surgió entonces la hipótesis de que la respuesta superovulatoria depende de otros factores, además del número de folículos receptivos a las gonadotrofinas presentes en un momento determinado del ciclo estral. Entre estos factores estarían:

La concentración de hormonas esteroideas en el fluido folicular y el número de receptores a las gonadotrofinas presentes en las células de la teca y de la granulosa.

Los niveles de aromatasa en las células de la granulosa.

La presencia o no de un folículo dominante no ovulatorio al inicio del tratamiento. (Cabodevila J, Torquati S, 2008).

Hay dos factores claves que afectan la respuesta superovulatoria: La disponibilidad de un adecuado número de folículos antrales sensibles al estímulo gonadotrófico, presentes en el momento de administrar el tratamiento superovulatorio; y la ausencia de un folículo dominante. Esto depende de la dinámica de la población folicular, controlada por factores ováricos y por el sistema neuroendocrino, por lo tanto sensible al medio interno y externo del organismo. En condiciones de campo es impracticable controlar la población folicular. El otro factor es la calidad y dosificación de las gonadotrofinas. (Becaluba Facundo, 2007) Los folículos de la primera onda de desarrollo folicular responden a los tratamientos de superovulación de la misma manera que lo hacen los de la segunda onda. En ambos casos, se obtuvieron mejores resultados cuando el tratamiento comenzó el día antes o mismo día del inicio de la onda que cuando comenzó uno o dos días después. Actualmente se le asigna importancia a la fase en la que se encuentra el folículo dominante, se ha demostrado que el folículo dominante es capaz de afectar

la respuesta superovulatoria cuando se encuentra en crecimiento, no así cuando se halla en la fase estática o de regresión. (Cabodevila J, Torquati S, 2008).

### **3.2.3 Edad**

Se ha demostrado que el número de embriones transferibles obtenidos de donantes cuyas edades estaban comprendidas entre 3 y 6 años eran mayores del que se logró en vaquillonas y primíparas. Se efectuó un estudio retrospectivo en el que analizo la respuesta superovulatoria de 197 donantes, agrupándolas en 3 categorías; hasta 5 años, de 6- 8 años y mayores de 8 años; el promedio de embriones transferibles fue 5.2: 6 y 3.2. Existe una interacción entre la edad del donante y la dosis de gonadotrofina. Según su interpretación, cuando los animales jóvenes son tratados con dosis elevadas de gonadotrofinas se produce una sobre estimulación ovárica donde muchos folículos comienzan a desarrollar pero pocos son capaces de ovular y la mayoría sufren luteinización o se atresian. (Becaluba Facundo, 2007)

Se ha observado que al aumentar la edad de la donante disminuyeron el número de ovulaciones, la tasa de fertilización y la calidad embrionaria. La disminución en el número de ovulaciones se debería a una menor disponibilidad de folículos capaces de responder a las gonadotrofinas exógenas. . (Cabodevila J, Torquati S, 2008)

Existe una igualdad entre las vacas donantes (3-6 y 7-10 años) tanto en estructura como en porcentaje de fertilización; existiendo diferencia mínima en el número de embriones y un mayor porcentaje de recuperación de las donantes de 3 a 6 años siendo el rango de estas la óptima para la mayor producción de embriones. Con respecto a las hembras más jóvenes (novillas y vacas de primer parto), el número de embriones por donante es menor, debido a que las donantes jóvenes son tratadas con dosis elevadas de gonadotropinas y se produce una sobre estimulación

ovárica donde muchos folículos comienzan a desarrollar pero pocos son capaces de ovular y la mayoría sufre latinización o se atresian. (Vizuet A, 2012)

Se ha observado en vaquillonas tratadas con implantes de progestágenos y 18 mg de Hormona Folículo Estimulante (FSH-p), que las menores de 10 meses tendieron a tener más embriones degenerados que las de 14 meses o más. Basado en estas observaciones, resulta claro que para lograr un alto número de embriones transferibles, la dosis de gonadotropina debe ajustarse a la edad de la donante. Manteniendo una dosis de gonadotropina constante, el número de ovocitos y embriones recolectados deberían aumentar con la edad en los animales jóvenes hasta alcanzar un pico y luego disminuiría con la edad en las vacas más viejas. (Cabodevila J, Torquati S, 2008)

No existe diferencia en la cantidad ni en la calidad de embriones colectados de novillas y vacas Gyr lechero, sin embargo, entre las novillas mayores y menores a 30 meses, las últimas presentan mejor respuesta en cantidad y calidad embrionaria. (Delgado Motta. Pablo Andrés. Ramirez Yasnó. Nelly, 2011).

#### **3.2.4 Estado nutricional.**

Durante el proceso de selección de los animales que se realiza rutinariamente en los programas de TE de embriones PIV se efectúa una escogencia minuciosa de los animales a trabajar tanto donadoras como receptoras evitando al máximo el uso de animales con Condición Corporal (CC) extremas, gordas o flacas, y llevando un registro de las condiciones de manejo para optimizar cada uno de los procesos. (Oyuela A., 2009)

La respuesta superovulatoria se correlaciona positivamente con la condición corporal, observando además que las donantes a campo tuvieron 2,2 embriones transferibles más que las estabuladas. (Becaluba Facundo, 2007)

Se ha comprobado que en las vacas lecheras las dietas ricas en proteína producen un exceso de nitrógeno no proteico (amoníaco y urea) que afecta la fertilidad; cuando se las indujo a superovular, la suplementación con urea en el periodo comprendido entre la inseminación y la recolección de embriones, afectó el número de embriones recolectados y la calidad de los mismos, no ocurrió lo mismo cuando la suplementación ocurrió 10 días antes. En síntesis, la urea es tóxica para los embriones pero las vacas son capaces de ajustar su concentración plasmática en un periodo de 10 días. Además observaron que la suplementación con vitamina A en vacas Nelore mejora la calidad de los embriones recolectados, no así la cantidad de los mismos. (Cabodevila J, Torquati S, 2008)

Se debe evitar el uso de animales obesos como donantes, ya que esta condición puede incidir directamente sobre la producción de los embriones. (Duica A, Tovia N, Grajales H, 2007)

Las donadoras deben estar en una condición corporal entre 3.0 y 4.0 sobre un valor máximo de 5.0. Determinando unas condiciones nutricionales adecuadas, como el nivel de energía en la ración, el que influye en las tasas de ovulación, fecundación y viabilidad de embriones. También se encontraron una reducción en el número de embriones transferibles en vacas con demasiada grasa. Por eso las vacas que estén gordas se les racionan con una dieta en la cual se disminuye la cantidad de concentrado, se baja el nivel de energía y mantiene el nivel de consumo de pasto. (Vizuete A, 2012).

### **3.2.5 Historia reproductiva.**

El examen clínico va a determinar el estado reproductivo de preñada, en puerperio o vacía en sus condiciones de normal o patológico. Como regla solamente receptoras normales son aceptadas en el programa. Las donantes con problemas reproductivos son incorporadas después de haber sido convenientemente tratadas y dadas de alta. Las vacas post parto son incorporadas a programas de superovulación después de haber finalizado su puerperio y reiniciado la actividad ovárica. (Vizuet A, 2012)

Deben considerarse dos aspectos fundamentales; por un lado, se ha demostrado que la transferencia embrionaria es una técnica alternativa útil para el diagnóstico y tratamiento de aquellos casos en que la infertilidad no se debe a problemas intrínsecos del embrión, sino al ambiente uterino o algún otro factor materno. Por otro lado se ha observado claramente que las donantes que ingresan a los programas de transferencia embrionaria con antecedentes de infertilidad tienen una menor producción que aquellas donantes consideradas sanas. (Cabodevila J, Torquati S, 2008)

Es necesario determinar qué tipo enfermedades están presentes en la hembra, ya que los embriones, además de transportar una valiosa información genética, también pueden ser una importante fuente de diseminación de enfermedades reproductivas. (Duica A.Tovio N. Grajales H, 2007)

### **3.2.6 Tratamientos sucesivos.**

La mayoría de los investigadores coincide en que la respuesta superovulatoria disminuye con los tratamientos sucesivos. En algunos trabajos el número de embriones transferibles declino a partir del cuarto o quinto tratamiento, en otros la declinación se produjo a partir del tercer

tratamiento. Otros autores no encontraron variaciones en la respuesta superovulatoria a lo largo de diez tratamientos sucesivos. (Cabodevila J, Torquati S, 2008).

Es conveniente que los tratamientos estén separados por un período mínimo de 60 días dado que este lapso es el que tardan los folículos primarios en alcanzar el estado preovulatorio. Si no se respeta este período mínimo, la respuesta superovulatoria se afecta notoriamente. (Cabodevila J, Torquati S, 2008).

### **Embriones transferibles**

**Tabla 1. Promedio de embriones transferibles según el intervalo entre tratamientos.**

Intervalo entre tratamientos	1° tratamiento	2° tratamiento	3° tratamiento	4° tratamiento
80 a 90 días	4	5	3	6
45 a 60 días	1	3	2	-

(Cabodevila J, Torquati S, 2008).

Las respuestas pobres a un primer tratamiento superovulatorio tienen alta repetitividad. Esto fue corroborado por LAMBERSON y LAMBETH (1986) quienes informaron un 64% de repetitividad para las respuestas pobres al primer tratamiento y aproximadamente un 45% para las medias o altas. (Cabodevila J, Torquati S, 2008).

### **3.2.7 Raza.**

De diferentes estudios han surgido por ejemplo que las vacas Holstein requerían una proporción mayor de FSH mientras que las vacas Charoláis requerían una proporción mayor de LH para lograr la máxima respuesta superovulatoria. (Becaluba Facundo, 2007)

En un estudio retrospectivo sobre 1596 tratamientos de superovulación efectuada en donantes de 13 razas distintas productoras de carne, encontró que la raza de la donante es un factor de variación en aspectos tales como;

Número de ovocitos y embriones recolectados.

Número de embriones transferibles.

Porcentaje de embriones transferibles.

Numero de preñeces/recolección.

La comparación de estos resultados con otras donantes de raza Holstein, ubica a esta raza en un término medio en lo que respecta al número de ovocitos y embriones recolectados, mejorando su performance cuando se considera el porcentaje de embriones transferibles. (Cabodevila J, Torquati S, 2008)

En un estudio retrospectivo hecho en donantes de razas lecheras y productoras de carne, se observó en la raza Jersey una mayor proporción de donantes con respuesta ovárica excesiva, sin aumentar el número de embriones transferibles. (Cabodevila J, Torquati S, 2008)

En ganado Boss indicus, independientemente del grado de respuesta ovárica, los resultados pueden ser alterados por las características propias del tracto genital de estas hembras que ofrece dificultades para efectuar la recolección. (Cabodevila J, Torquati S, 2008).

### **3.2.8 La multiovulación de la hembra donante**

En la técnica de TE se busca que la hembra donante de embriones, ovule no una sino varias veces, por este motivo se comenzó desarrollar una técnica que brinda la biotecnología de la reproducción llamada multiovulación o superovulación de las hembras donantes de embriones. El objetivo principal de los tratamientos de superovulación en vacas es producir un gran número de folículos ovulatorios, que van a generar un número mayor de oocitos para el momento de la Inseminación Artificial (IA) y así obtener el máximo número de embriones transferibles o transplantables. (Duica A.Tovio N. Grajales H, 2007)



La respuesta superovulatoria resulta muy variable. En un estudio retrospectivo que incluyó 1263 donantes, el autor encontró que solamente el 68 % de las hembras inducidas a superovular produjeron embriones transferibles. El 32 % restante lo integraron;

7% sin estimulación ovárica.

7% sin recolección de ovocitos ni embriones.

17% sin embriones transferibles.

1% donde no se efectuó el lavaje porque presentaron celo antes de administrarse la prostaglandina F2 alfa durante el tratamiento hormonal. (Cabodevila J, Torquati S, 2008)

Tanto la tasa ovulatoria como el número de embriones viables producidos son caracteres relativamente inherentes a cada vaca donante. Los animales que tienen una respuesta baja en un tratamiento, probablemente responderán en forma similar en los tratamientos subsecuentes y los animales que responden bien inicialmente continuarán haciéndolo en esta forma. (Becaluba, 2007)

A pesar de los avances logrados en el conocimiento de la fisiología reproductiva en los últimos años, el promedio de embriones transferibles que se obtiene en la actualidad es similar a la que se registraban hace 20 años, por lo que se debe hacer un análisis de la variabilidad de los tratamientos hormonales.

### **3.2.9 Gonadotrofina empleada.**

La inducción a la superovulación se efectúa principalmente con gonadotrofina sérica de yegua preñada -PMSG- o con extractos de pituitaria porcina que generalmente se conocen como FSH-p, a pesar de que en muchos casos contienen mayor cantidad de hormona luteinizante (LH) que hormona folículo estimulante -FSH-p. (Duica A.Tovio N. Grajales H, 2007)

A los efectos de profundizar el conocimiento de los mecanismos de acción de la PMSG, se han efectuado recientemente numerosos estudios endócrinos y de histología folicular. Estos estudios han demostrado que la neutralización de la PMSG, pocas horas después de producido el pico de LH, sincroniza la maduración folicular y acorta el período en el que ocurren las ovulaciones múltiples. (Cabodevila J, Torquati S, 2008)

La vía de administración es otro factor a considerar. Dentro de los protocolos tradicionales de 2 inyecciones diarias se ha observado que la administración i.m. de los extractos de pituitaria resulta en una respuesta superovulatoria significativamente superior que las inyecciones subcutáneas. La administración subcutánea de extractos pituitarios produjo niveles circulantes mucho más bajos de FSH, que se mantuvieron por periodos más largos de tiempo. (Becaluba Facundo, 2007)

La utilización repetida de hormonas induce una producción de anticuerpos y por consiguiente provoca una caída de la respuesta superovulatoria. (Cabodevila J, Torquati S, 2008).

**Dosis empleada.** En los tratamientos de superovulación, la existencia de una relación dosis- respuesta ha sido demostrada para distintas gonadotrofinas y en razas diferentes. Esto significa que cuando la dosis se incrementa más allá de lo óptimo, el número de ovulaciones no aumenta y el de ovocitos fecundados y embriones transferibles disminuye. (Cabodevila J, Torquati S, 2008).

En los animales sobre estimulados, generalmente se obtiene una menor tasa de recolección (ovocitos y embriones recolectados en función de los cuerpos lúteos palpados u observados). Se ha adjudicado para ello distintas razones:

Retención de ovocitos en los folículos luteinizados y en los cuerpos lúteos.

Retención de ovocitos y embriones en los oviductos

Niveles altos de estrógenos producidos por los grandes folículos no ovulados que bloquearían la capacidad de las fimbrias con la siguiente caída de ovocitos en la cavidad abdominal. (Cabodevila J, 2008)

Generalmente se piensa que cierta cantidad de LH es necesaria para lograr superovulación. No obstante se ha sugerido que, debido a una prematura activación del ovocito previo a la ovulación, los niveles de LH elevados durante la superestimulación afectan la calidad de los embriones. (Becaluba Facundo, 2007).

**Relación FSH/LH.** Se han realizado numerosos estudios para establecer la relación FSH/LH óptimas para la superovulación de hembras de raza distintas, productoras de carne o leche. Chupín y col. (1985), observaron que las donantes de la raza lechera son más sensibles que las productoras de carne a cantidades excesivas de LH en la preparación hormonal. Una cantidad excesiva de LH en la preparación hormonal provoca:

Menor tasa de ovulación.

Menor tasa de fecundación.

Menor número y porcentaje de embriones transferibles.

A fin de corroborar esta información, ALBERIO y col. (1991), trataron vacas Holando Argentino con una FSH-p cuya relación FSH/LH fue 10. Las mismas donantes fueron tratadas alternativamente de manera diferente: En un caso, se mantuvo la relación FSH/LH 10 constante y en el otro, se le incorporó a la FSH-p cantidades crecientes de LH pura a partir de la 3ra. Inyección. (Cabodevila J, 2008).

**Dosis y frecuencia de administración de la prostaglandina F2 alfa.** Durante el tratamiento de superovulación, independientemente de la gonadotropina que se emplee, a las 48-

72 horas de haber comenzado la inducción se debe administrar la prostaglandina F2 alfa para que cumpla su efecto luteolítico. (Cabodevila J, 2008)

La regresión completa del cuerpo lúteo durante la inducción tiene vital importancia dado que influye sobre:

El porcentaje de donantes que presentan celo, muy importante si se tiene en cuenta que la presentación de celo se correlaciona positivamente con el grado de estimulación ovárica.

El número de ovocitos y embriones recolectados.

El número de embriones transferibles. (Cabodevila J, 2008).

### **3.3 Aspectos asociados a la eficiencia en el transplante de embriones relacionados al embrión.**

A partir del desarrollo de la técnica de transferencia se observó que tanto la calidad de los embriones como el estadio de desarrollo y su edad podían afectar el resultado de la aplicación de la misma. Además de los factores propios del embrión, las técnicas tales como criopreservación, micromanipulación y más recientemente producción *in vitro* de embriones y otros factores se fueron sumando a aquellos que modificaban los resultados de preñez. Además, está demostrado que los resultados de preñez dependen no sólo de cada factor embrionario, sino de la interacción que pueda existir entre dos o más de ellos. (Cutini A. Teruel M. Cabodevila J., 2000).

#### **3.3.1 Calidad embrionaria.**

La realización de una minuciosa evaluación de la calidad embrionaria es de fundamental importancia para el éxito de la transferencia. Es así que embriones clasificados como excelentes o buenos tienen una alta probabilidad de alcanzar la preñez. No obstante, debe considerarse que embriones clasificados excelentes luego de ser transferidos normalmente, no terminan en preñez, mientras que embriones de buena calidad y transferidos con algún tipo de problema, resultan en

preñeces y nacimientos normales. Este hecho indica que si bien la calidad embrionaria puede determinar los resultados obtenidos, otros factores relacionados con la receptora o con la transferencia podrían modificar dichos resultados. (Cutini A. Teruel M. Cabodevila J., 2000) .

Después de la obtención de los embriones debe hacerse una muy buena clasificación de estos descartando estructuras que demuestren degeneramiento y que no coincidan con la edad porque esto indicaría que en algún momento del ciclo detuvieron el desarrollo (Bó, 2003). La evaluación visual de los embriones no es una ciencia exacta sino es una técnica subjetiva utilizada para evaluar un sistema biológico en desarrollo (Gorlach, 1999). En ese sentido, para obtener los mejores resultados, es importante tener en cuenta el sistema de clasificación, basado en la calidad y el estado de desarrollo del embrión que va a ser transferido. Según la Sociedad Internacional de

Transferencia de Embriones (IETS), los estados de desarrollo están clasificados así: 1. No fecundado; 2. Dos a doce células; 3. Mórula temprana; 4. Mórula; 5. Blastocisto temprano; 6. Blastocisto; 7. Blastocisto expandido; 8. Blastocisto eclosionado y 9. Blastocisto eclosionado expandido. Por calidad de los embriones los clasifica por código así: Código 1. Excelente o bueno; Código 2. Regular; Código 3. Malo; y Código 4. Muerto / degenerado (Stingfellow, 2000). Después de ser clasificados los embriones pueden ser empajillados y ser congelados, utilizando un medio criopreservante. En el estado de criopreservación los embriones pueden ser almacenados durante largo tiempo desde que se cumplan ciertas exigencias en cuanto a la temperatura de almacenamiento, la cual debe ser de  $-197^{\circ}$  C. Los embriones también pueden ser empajillados en un medio nutritivo para ser transplantados o transferidos en fresco a una hembra receptora previamente seleccionada y sincronizada, la cual debe encontrarse en el día siete postcelo para que coincida con la edad del embrión que va a recibir en su útero (Gorlach, 1999),

ya que la no sincronización entre las hembras donante y receptora, va a afectar los resultados después de la aplicación de ésta técnica (Bó, 2003).

La técnica de transplantar o transferir el embrión ya empajillado consiste en la introducción de la pajilla (que contiene el embrión) en el interior de una pistola para TE y con la ayuda de esta por vía vaginal introducir el embrión y depositarlo a la altura de la curvatura mayor del útero del cuerno ipsilateral al ovario que presente el cuerpo lúteo o el que presente mayor tamaño, tratando de ejercer la menor manipulación posible al útero, para de así evitar la liberación de prostaglandinas que afectarían la viabilidad de la gestación (Gordon, 1999; Gorchach, 1999; Gonzales & Stagnaro, 2001).

Se ha reportado una mayor incidencia de muerte embrionaria cuando se transfieren embriones de calidad pobre, que cuando los mismos son morfológicamente normales. Por su parte, los resultados de preñez luego de transferir embriones congelados de calidad excelente pueden diferir de los de calidad buena. (Cordovez Zulema, 2010).

Resulta dificultoso comparar la información publicada por distintos autores dado que se utilizan diferentes escalas para evaluar la calidad embrionaria. Actualmente muchos autores optan por la escala propuesta por la Sociedad Internacional de Transferencia Embrionaria que agrupa los embriones según su calidad en 4 grados. (Oyuela A., 2009)

Calidad 1: Excelente o bueno. La masa embrionaria es simétrica y esférica, con blastómeros individuales uniformes en tamaño color y densidad. El desarrollo del embrión es consistente con la fase del desarrollo esperada. Presenta irregularidades relativamente menores y por lo menos el 85% del material debe permanecer intacto dentro de la masa embrionaria. La zona pelúcida debe ser lisa y no debe tener ninguna superficie cóncava o delgada. (Oyuela A., 2009)

Calidad 2: Regular. Presenta irregularidades moderadas en la forma global de la masa embrionaria o en el tamaño, color y densidad de las células individuales. Por lo menos el 50% del material celular debe permanecer intacto dentro de la masa embrionaria. (Oyuela A., 2009)

Calidad 3: Malo. Presenta irregularidades mayores en la forma de la masa embrionaria o en el tamaño, color y densidad de las células individuales. Por lo menos el 25% del material celular debe permanecer intacto dentro de la masa embrionaria. (Oyuela A., 2009)

Calidad 4: Muertos, degenerados o con retrasos en el desarrollo y óvulos no fertilizados no serán transferidos. (Oyuela A., 2009)

La observación y clasificación de los embriones por transferir es esencial en los trabajos de TE. Tanto los embriones PIV como los de TE convencional tienen la misma dinámica de desarrollo, y los parámetros de clasificación se pueden aplicar de igual forma en cualquiera de los dos procesos. Las diferencias morfológicas están dadas porque el desarrollo del embrión PIV es ligeramente más rápido que el de TE convencional; prueba de esto es que embriones de día-7 PIV son principalmente blastocitos expandidos, mientras que en el convencional este mismo día se encuentran mayormente blastocitos tempranos. (Oyuela A. Jimenes C., 2010)

Después de la obtención de los embriones debe hacerse una muy buena clasificación de estos descartando estructuras que demuestren degeneramiento y que no coincidan con la edad porque esto indicaría que en algún momento del ciclo detuvieron el desarrollo. (Duica A. Tovia N. Grajales H, 2007).

Por su parte, los resultados de preñez luego de transferir embriones congelados de calidad excelente pueden diferir de los de calidad buena. Con ambas calidades se obtienen mejores resultados que con aquellos de calidad regular. (Cutini A. Teruel M. Cabodevila J., 2000).

A continuación se describirán algunos factores relacionados con el embrión que afectan el resultado de la TE:

### **3.3.2 Estadio del desarrollo.**

El efecto que causa el estadio del desarrollo del embrión no está del todo claro debido a que hay diferentes trabajos con resultados variables. En un trabajo realizado por Bó (2008), no observó diferencias en el porcentaje de preñez obtenido de embriones congelados en diferentes estadios de desarrollo (Tabla 1). Por otro lado, blastocistos tempranos y blastocitos resultaron en mayores porcentajes de preñez que mórulas, blastocistos expandidos y blastocitos protruidos (Hasler, citado por Cutini et al., 2000).

Se ha conocido por mucho tiempo que la calidad y el desarrollo del embrión ejercen una marcada influencia sobre los resultados de la TE. La transferencia de una mórula temprana resulta en menores tasas de preñez que cuando se transfieren embriones en estadio más avanzado. Esto puede ser explicado debido a que al transferir un embrión cuyo desarrollo haya sido más rápido, este podría expresar más rápidamente los factores de reconocimiento de preñez, comparado con un contemporáneo de menor desarrollo. (Oyuela A. Jimenes C., 2010)

Cuando los que se transfirieron fueron blastocistos, los porcentajes de preñez fueron del 65 al 70%. Para embriones producidos in vivo y congelados, los porcentajes de preñez fueron del 40% para mórulas y blastocistos tempranos, disminuyendo a un 27% para blastocistos y blastocistos expandidos. (Cordovez Zulema, 2010)



**Tabla 2. Porcentaje de preñez obtenido transfiriendo embriones congelados en diferente estadio de desarrollo**

Estadio del Embrión	Mórula	Blastocisto Temprano	Blastocisto	Blastocisto expandido
Preñez embriones – Calidad 1	48/108	22/41	28/54	2/5
%	44	54	52	40

(Bó, 2008).

Otros autores, obtuvieron mejores resultados con blastocistos que con mórulas; así, Dochi, et al. (Citado por Cutini et al., 2000) observaron que mórulas y blastocistos tempranos resultaron en porcentajes de preñez más elevados que blastocistos o blastocitos expandidos. Contrariamente, Cutini et al, 2000 no han hallado efecto del estadio de desarrollo.

### **3.3.3 Calidad Embrionaria.**

La clasificación que se utiliza para los embriones en la mayoría de los casos sigue la escala propuesta por la Sociedad Internacional de Transferencia Embrionaria que agrupa los embriones según su calidad en 4 grados: I (excelentes y buenos), II (regulares), III (pobres) o IV (degenerados). Existen diferentes trabajos que indican que embriones Grado I tienen más altas probabilidades de alcanzar la preñez que aquellos clasificados como de Grado II, tanto en TE en fresco, sin criopreservar (Tabla 2), como congelados (Tabla 3). Embriones clasificados como excelentes o buenos tienen una alta probabilidad de alcanzar la preñez. No obstante, debe considerarse que embriones calificados excelentes luego de ser transferidos normalmente, no terminan en preñez, mientras que embriones de buena calidad y transferidos con algún tipo de problema, resultan en preñeces y nacimientos normales (Cutini et al., 2000).

**Tabla 3. Efecto de la calidad de embriones producidos in vivo y transferidos en fresco, sobre el porcentaje de preñez.**

Autores	Calidad Embrionaria	Embriones Transferidos	Receptoras		Preñadas
			N	%	
Wright(1981)	Buena	1748	1122		64,2 <sup>a</sup>
	Regular	438	198		45,2 <sup>b</sup>
	Pobre	100	33		33,0 <sup>c</sup>
Hasler et al.(1987)	Buena	5521	4037		73,1 <sup>a</sup>
	Regular	304	181		59,5 <sup>b</sup>
	Pobre	76	31		40,8 <sup>c</sup>

Valores con superíndices diferentes dentro de cada autor difieren: P<0,05  
Fuente: Cutini, et al, 2000.

**Tabla 4. Efecto de la calidad de embriones producidos in vivo previo a la congelación sobre el porcentaje de preñez.**

Autores	Calidad Embrionaria pre-congelación	Embriones Transferidos	Receptoras		Preñadas
			N	%	
Leibo(1986)	Excelente	173	84		48,6 <sup>a</sup>
	Buena	220	98		44,6 <sup>a</sup>
	Regular	83	20		24,1 <sup>b</sup>
Arreseigor et al.(1998)	Excelente	233	133		57,1 <sup>a</sup>
	Buena	276	146		52,9 <sup>a</sup>
	Regular	276	86		31,2 <sup>b</sup>
Munar et al.(1998)	Excelente	1633	996		60,9 <sup>a</sup>
	Buena	565	301		53,3 <sup>b</sup>
	Regular	123	49		39,8 <sup>c</sup>

Valores con superíndices diferentes dentro de cada autor difieren: P<0,05  
Fuente: Cutini, et al, 2000

Además los embriones de baja calidad tienen una mayor probabilidad de sufrir muerte embrionaria cuando se transfieren que aquellos que son morfológicamente normales (Cutini et al, 2000).

La incapacidad de lograr la preñez por parte de algunos embriones clasificados como de buena calidad puede ser explicado en parte por el estudio realizado por Aguilar y Gallina (2002), en el cual encontraron que el 30% de los embriones clasificados como de buena calidad al ser evaluados por microscopia de luz y electrónica presentaron características de embriones en

estado de degeneración, de esta forma demostraron que si bien hoy en día la clasificación es muy subjetiva y se realiza por microscopia estereoscópica tiene sus errores y hacen que embriones sean transferidos o más grave aún congelados disminuyendo la posibilidad de una gestación.

Si bien la calidad embrionaria puede determinar los resultados obtenidos, otros factores relacionados con la receptora o con la transferencia podrían modificar dichos resultados.

#### **3.3.4 Edad embrionaria.**

La mayoría de los embriones bovinos son recolectados y transferidos con una edad de 6 a 8 días y no queda claro si realmente hay un efecto de la edad en días o del estadio de desarrollo. A su vez, distintos estudios han mostrado que no hubo diferencias en los porcentajes de preñez luego de la transferencia de embriones de estas edades. Por otro lado, la transferencia de embriones de 9 días o más, prácticamente no se realiza, pues es dificultoso encontrar los embriones en el medio de lavaje luego que los mismos han perdido la zona pelúcida. No obstante cuando se realizaron transferencias con dichos embriones, los resultados fueron contradictorios y mientras algunos autores no hallaron disminución en los porcentajes de preñez, otros observaron menores valores que cuando utilizaron aquellos de días 6 - 8. Los resultados de preñez luego de transferir embriones frescos producidos *in vitro*, de día 6 ó 7 no mostraron diferencias significativas, con valores de preñez al día 40 de gestación de 78 y 68% respectivamente. No obstante, la transferencia de embriones clasificados como excelentes y buenos ya sean de día 7 u 8 resultaron en mayores porcentajes de preñez que aquellos de calidad regular. Ling y col. Obtuvieron mayores porcentajes de preñez con mórulas de día 6 ó 7 y blastocistos de día 7 que con blastocistos de día 6 ó blastocistos expandidos de día 7 u 8 quedando demostrado una vez más la interacción entre factores embrionarios. (Cutini A. Teruel M. Cabodevila J., 2000)

Para el día siete el embrión se encuentra ubicado a nivel del cuerno uterino y alcanza el estadio de blastocisto. Al obtener los embriones provenientes de una hembra donante se espera que estos se encuentren en la fase evolutiva correspondiente a los seis días y medio o siete días de evolución, correspondientes a los estadios de mórula o blastocisto temprano (conservando aun su zona pelúcida intacta), este es el momento adecuado para realizar la colecta de estas estructuras. (Duica A.Tovio N. Grajales H, 2007)

Muchos de los datos publicados sobre el efecto de la edad embrionaria y/o del estadio del desarrollo al momento de la transferencia sobre la tasa de supervivencia, derivan del análisis retrospectivo de transferencias, donde el factor edad se confunde con el grado de sincronismo y el método de transferencia, entre otros. La mayoría de los embriones bovinos son recolectados y transferidos con una edad de 6 a 8 días y no queda claro si realmente hay un efecto de la edad en días o del estadio de desarrollo. A su vez, distintos estudios han mostrado que no hubo diferencias en los porcentajes de preñez luego de la transferencia de embriones de estas edades. Por otro lado, la transferencia de embriones de 9 días o más prácticamente no se realiza, pues es difícil encontrar los embriones en el medio de lavaje luego que los mismos han perdido la zona pelúcida. (Cordovez Zulema, 2010).

### **3.3.5 Criopreservación.**

El efecto de la criopreservación de los embriones sobre los resultados de preñez es muy variado y ello se debe a que se producen interacciones con otros factores tales como la edad embrionaria, la calidad embrionaria y el estadio de desarrollo y a su vez si los mismos han sido producidos in vivo o in-vitro. Es importante considerar además que los porcentajes de preñez resultantes de la transferencia de embriones congelados son inversamente proporcionales al

tiempo transcurrido desde la recolección hasta el comienzo de la congelación, dado que la viabilidad embrionaria disminuye significativamente cuando dicho período es mayor de 3 hs. A su vez, la calidad embrionaria pos descongelación también afecta los porcentajes de preñez, con valores que oscilan entre 30% y 68% para embriones de calidad regular y excelente respectivamente. (Cutini A. Teruel M. Cabodevila J., 2000)

El método de criopreservación utilizado debe tenerse en cuenta; cuando los embriones son congelados convencionalmente, las tasas de preñez oscilan entre 50 y 60% resulta no levemente inferior a las obtenidas con embriones frescos. Cuando se utiliza la vitrificación como método de conservación, los porcentajes de preñez oscilan entre 0 y 60%. Las bajas temperaturas a las que son sometidos los embriones así como las altas concentraciones de crioprotectores utilizadas serían la causa de la disminución en la viabilidad de estos embriones. (Cutini A. Teruel M. Cabodevila J., 2000).

### **3.3.6 Micromanipulación.**

Actualmente los embriones bovinos son micromanipulados con el fin de obtener algunas células y proceder a la identificación del sexo previo a su transferencia o para ser divididos en dos partes iguales (hemiembriones) y producir mellizos idénticos, lo que permite la disponibilidad de animales idénticos en los programas de transferencia embrionaria. Con referencia a aquellos embriones que son destinados a la identificación del sexo, los blastómeros son abordados penetrando la zona pelúcida y aspirando 4 a 6 células o cortando la zona y los blastómeros con una navaja. En trabajos realizados con embriones sexados y transferidos frescos, la tasa de preñez fue de alrededor de 45%, observándose además que los resultados dependieron de la calidad embrionaria. (Cutini A. Teruel M. Cabodevila J., 2000)

La sección de embriones provoca una pérdida celular embrionaria de aproximadamente del 10 %, que posiblemente compromete la viabilidad de los embriones de calidad inferior. (Cordovez Zulema, 2010).

### **3.4 Aspectos asociados a la eficiencia en el trasplante de embriones relacionados con la aplicación de la técnica.**

El equipo técnico encargado de realizar los diferentes procedimientos durante las diferentes etapas de la técnica de TE, también interviene directamente en la obtención de buenos resultados tras la aplicación de esta biotecnología, por esto es de gran importancia que esté compuesto por un personal idóneo y con experiencia. En un trabajo realizado por Bó *et al.* (2003), se evidencian diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) en los resultados, representados en tasa de preñez, después de realizar TE, por cuatro diferentes operarios que aplicaron esta técnica, también evaluando la calificación de la transferencia (Buena, regular, mala) en un grupo experimental,  $n=867$ . De esta manera la aplicación de la técnica afecta directamente la eficiencia en un programa de TE.

#### **3.4.1 Mecanismos para coleccionar los embriones.**

Al obtener los embriones provenientes de una hembra donante se espera que estos se encuentren en la fase evolutiva correspondiente a los seis días y medio o siete días de evolución, correspondientes a los estadios de mórula o blastocisto temprano (conservando aun su zona pelúcida intacta), este es el momento adecuado para realizar la colecta de estas estructuras. (Duica A. Tovia N. Grajales H, 2007)

Actualmente, la técnica se utiliza para recuperar los embriones es la técnica no quirúrgica en la que por vía vaginal se introduce un catéter mediante el cual se insufla un medio enriquecido

que es recuperado posteriormente por sifonaje en el que están contenidos los embriones. La obtención de los embriones debe ser realizada por un profesional con experiencia en este tipo de actividades ya que se realiza una gran manipulación de los tejidos uterinos y cualquier imprecisión en el manejo de estos causaría disminuciones en la obtención de buenos resultados gracias a la liberación de prostaglandinas a nivel uterino. (Duica A.Tovio N. Grajales H, 2007).

Después de treinta horas de llevarse a cabo la inseminación comienzan producirse los primeros clivajes del cigoto y diez horas después se producen los segundos. Durante estas primeras horas de desarrollo, el embrión utiliza el oxalacetato y piruvato para su mantenimiento. Después de transcurridas cien horas postinseminación se encuentra al interior del embrión un grupo de 16 células aproximadamente (Hamilton, 1986), en este estado inicia la migración de este hacia el oviducto. Ya para el día seis el embrión presenta entre 16 y 32 células aproximadamente en su interior, utilizando como fuente energética la glucosa (Garrett, 1988). Una vez transcurridos 6 días, el embrión se dirige hacia el útero, y comienza a sufrir la compactación de las células presentes en su interior; este estadio recibe el nombre de mórula temprana. Durante esta etapa de compactación aumenta la presión entre las células lo cual hace que se formen uniones fuertes entre estas permitiendo que funcionen conjuntamente como un organismo y comienza a acumularse líquido proveniente del metabolismo celular, el cual hace que se desplace el paquete celular para formarse un espacio al interior del embrión que recibe el nombre de blastocele. Este espacio permite evidenciar una capa celular interna y una externa que reciben el nombre de embrioblasto y trofoblasto respectivamente ya para esta etapa comienzan a presentarse las anomalías de tipo cromosómico las cuales pueden desencadenar pérdida embrionaria (Hernández, 1995). Para el día siete el embrión se encuentra ubicado a nivel del cuerno uterino y alcanza el estadio de blastocisto (Lequarre, 2004; Araujo, 2005); al obtener los

embriones provenientes de una hembra donante se espera que estos se encuentren en la fase evolutiva correspondiente a los seis días y medio o siete días de evolución, correspondientes a los estadios de mórula o blastocisto temprano (conservando aun su zona pelúcida intacta), este es el momento adecuado para realizar la colecta de estas estructuras (Stingfellow, 2000).

Las técnicas para coleccionar los embriones se basan en realizar un lavado al interior de los cuernos uterinos para de esta forma poder coleccionar en un medio nutritivo los embriones, ya que estos todavía no se han fijado a la pared uterina, esta práctica puede efectuarse de forma quirúrgica, por la cual se alcanza el útero mediante una laparotomía lateral o medial, por la línea alba, la cual ya no es utilizada por ser una técnica altamente invasiva.

Actualmente, la técnica para recuperar los embriones se utiliza la técnica no quirúrgica en la que por vía vaginal se introduce un catéter mediante el cual se insufla un medio enriquecido que es recuperado posteriormente por sifonaje en el que están contenidos los embriones (Tribulo, 2002). La obtención de los embriones debe ser realizada por un profesional con experiencia en este tipo de actividades ya que se realiza una gran manipulación de los tejidos uterinos y cualquier imprecisión en el manejo de estos causaría disminuciones en la obtención de buenos resultados gracias a la liberación de prostaglandinas a nivel uterino (Bó, 2003).

### **3.4.2 Dificultad en el momento de la transferencia.**

El hecho de depositar un embrión en el interior del cuerno uterino supone una invasión del tracto reproductivo, este procedimiento está asociado a posibles lesiones del endometrio y a la consecuente producción de PGF2-alfa, lo que reduciría los índices de preñez. Barceló-Fimbres *et al.* (2009) en su estudio de TE de embriones PIV, analizaron los efectos de la dificultad al momento de la transferencia en la tasa de preñez, entre otros factores. Encuentran que las tasas de



preñez resultado de transferencias realizadas sin ningún tipo de dificultad (n=40) son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ) comparadas con las transferencias realizadas con algún tipo de dificultad (n=33) que incluye movimientos bruscos de la receptora, receptoras problemáticas y/o evidencias de sangre en la pistola de TE. Esto resulta en 53% de preñez para las TE sin dificultad *versus* 21% de preñez en los casos en los que hubo alguna dificultad. (Oyuela A. Jimenes C., 2010)

Del mismo modo, operadores con experiencia pueden lograr buenos porcentajes de preñez (50%) aun cuando deben transferir los embriones a receptoras que presentan un cuello uterino tortuoso, difícil de enhebrar. (Munar y col). Reportaron que el grado de dificultad al atravesar el cérvix con el instrumental y la dificultad para depositar el embrión en el sitio deseado del útero, afecta significativamente la tasa de abortos. (Cutini A. Teruel M. Cabodevila J., 2000).

Causar traumas al endometrio en el momento de la transferencia puede producir PGF2-alfa que afectaría negativamente la tasa de preñez. La dificultad en la transferencia se basó en el tiempo en que se demoró el operario en depositar el embrión (mayor a 3 minutos) y/o por solicitud del técnico de realizar la anotación de dificultad causada por exceso de manipulación de un cérvix de difícil manejo o por úteros de tamaño muy grande que dificulten la transferencia. (Oyuela A., 2009).

**Tabla 5. Tasa de preñez para las variables asociadas técnico que transfiere el embrión**

Cantidad de embriones	transferidos	preñadas	% de preñez
1 – 30	1017	396	39 %
31- 62	210	66	31 %
Lado de la transferencia			
Derecho	746	282	38 %
izquierdo	481	180	37 %
Experiencia del operario			
Experimentado	1132	434	38 %
novato	95	28	29 %
técnico			
Experimentado A	191	72	38 %
Experimentado A	845	315	37 %
Experimentado A	96	47	49 %
Novato A	70	22	31 %
Novato B	25	6	24 %
Total	Transferidos 1227	Preñadas 462	% preñez 38 %

(Oyuela. A 2009)

### **3.5 Aspectos asociados a la eficiencia en el transplante de embriones relacionados con la hembra receptora.**

Gran parte de la atención en la investigación ha sido enfocado hacia la hembra donante de embriones en materia de TE, ya que se han aplicado un sin número de protocolos de sincronización del estro, técnicas de obtención, manipulación y preservación de los embriones, así como de protocolos de multiovulación en los que se han utilizado varios tipos de hormonas que desencadenan este efecto en el que se obtienen ovulaciones múltiples. Pero al obtener un embrión después de realizar la clasificación de éste, uno de los puntos de gran importancia que afecta la eficiencia de esta técnica, está asociado a todo el ambiente que va a rodear el embrión ya que al ser óptimo va a permitir el desarrollo de este nuevo ser, por esta razón es de suma importancia realizar una excelente selección de la hembra que va a alojar este embrión en su

interior. La eficiencia en este tipo de programas se ha visto afectada debido a la utilización de hembras receptoras con deficiencias nutricionales, sanitarias, de manejo, entre otras que hacen que los resultados no fueran los mejores. Pero actualmente el criterio de selección de estas hembras es más estricto por parte de los profesionales que aplican esta técnica lo cual ha sido comprendido por los productores que utilizan esta biotecnología en busca realizar mejoras en sus diferentes tipos de explotaciones mediante la aplicación de TE. (Duica A.Tovio N. Grajales H, 2007).

### **3.5.1 Selección de la hembra receptora.**

Gran parte de la atención en la investigación ha sido enfocado hacia la hembra donante de embriones en materia de TE, ya que se han aplicado un sin número de protocolos de sincronización del estro, técnicas de obtención, manipulación y preservación de los embriones, así como de protocolos de multiovulación en los que se han utilizado varios tipos de hormonas que desencadenan este efecto en el que se obtienen ovulaciones múltiples. Pero al obtener un embrión después de realizar la clasificación de éste, uno de los puntos de gran importancia que afecta la eficiencia de esta técnica, está asociado a todo el ambiente que va a rodear el embrión ya que al ser óptimo va a permitir el desarrollo de este nuevo ser, por esta razón es de suma importancia realizar una excelente selección de la hembra que va a alojar este embrión en su interior. La eficiencia en este tipo de programas se ha visto afectada debido a la utilización de hembras receptoras con deficiencias nutricionales, sanitarias, de manejo, entre otras que hacía que los resultados no fueran los mejores. Pero actualmente el criterio de selección de estas hembras es más estricto por parte de los profesionales que aplican esta técnica lo cual ha sido comprendido por los productores que utilizan esta biotecnología en busca realizar mejoras en sus diferentes tipos de explotaciones mediante la aplicación de TE.

En el éxito de un programa de TE influyen mucho factores, pero tal vez uno de los más importantes es la selección de las hembras receptoras; estas deben ser saludables y reproductivamente sanas (Huertas, 1991), verificando la presencia de estructuras que demuestren ciclicidad a nivel ovárico. El objeto de la exploración y valoración es rechazar animales con anormalidades (órganos sexuales juveniles, hermafroditismo, ninfomanía, endometritis, entre otros) comprobando que no tenga ninguna alteración ni deformidad a nivel de cuello uterino.

Además de presentar un chequeo serológico negativo a las enfermedades infectocontagiosas que afecten las características reproductivas de estos animales. Si se utilizan hembras en período de postparto, estas deben presentar un útero libre de infecciones, debe haber pasado por lo menos tres meses de haber ocurrido su último parto y no estar en etapa de amamantamiento a la cría.

Además de tener un comportamiento estral cíclico y no presentar sobrepeso (Hafez, 2000), ya que estos son factores que afectan directamente el desempeño de estos animales; estas hembras ciclando no deben ser expuestas a la presencia de toros y se debe contar en el plantel en donde se practique la TE con un sistema de identificación simple, efectivo y permanente, así mismo debe llevarse a cabo un excelente programa de detección de calores, contar con un personal capacitado para el manejo de los animales y contar con unas buenas instalaciones para realizar manejo adecuado de las hembras (Gómez, 2005).

Las receptoras deben ser reproductivamente sanas para recibir un embrión y llevar la gestación a término, poseer un tamaño que les permita parir sin grandes dificultades y deben ser de buena capacidad lechera para alimentar al ternero de manera que le permita expresar su potencial genético. (Cutini A. Teruel M. Cabodevila J., 2000)

Los trabajos de investigación de los últimos años han sido orientados principalmente a los embriones, tendiendo a mejorar su viabilidad después de la transferencia. En contraste, son menores los esfuerzos que se han hecho para incrementar el potencial de las receptoras para preñarse y llevar la gestación a término. (Cutini A. Teruel M. Cabodevila J., 2000).

Con respecto a los factores relacionados con la receptora, además de una variedad de parámetros que deben ser evaluados, como el factor racial, empleo reiterado, edad, estado fisiológico, sanidad, peso, integridad del tracto reproductivo y manejo, es de gran importancia hacer un seguimiento de las estructuras ováricas presentes durante la sincronización del estro, así, como de las etapas previa y posterior a transferir el embrión. De este modo, un óptimo desarrollo folicular será determinante para la formación de un cuerpo lúteo (CL) que genere concentraciones plasmáticas de progesterona (P4) suficientes para ofrecer un medio ambiente uterino adecuado y favorecer el óptimo desarrollo embrionario (Duica et al., 2007).

Al momento de la transferencia, la receptora ideal es aquella con sincronismo o con un asincronismo de +/- 24 h, en la que se ha comprobado la presencia del CL; además se debe relacionar el estadio de desarrollo embrionario con el día del ciclo de la receptora (Cutini et al., 2000).

Las receptoras deben ser reproductivamente sanas para recibir un embrión y llevar la gestación a término, poseer un tamaño que les permita parir sin dificultades y deben ser de buena capacidad lechera para alimentar al ternero de manera que le permita expresar su potencial genético.

A continuación se describirán algunos factores relacionados con la receptora que afectan el resultado de la TE:

**Raza** Las evidencias en la literatura sobre el efecto de la raza de la receptora sobre el resultado de la transferencia son escasas. Generalmente se prefiere a las razas cruzas antes que a las puras, posiblemente porque las primeras sean más fértiles. Según la opinión de estos autores, las cruzas entre las razas británicas y la Holstein son preferibles a las cruzas continentales porque ellas son baratas, de tamaño medio y de buen potencial lechero, además algunas cruzas continentales son consideradas temperamentales. No obstante, otros autores, si bien transfirieron embriones congelados y vitrificados, no hallaron diferencias de preñez entre receptoras de razas lecheras (46,0%), cárnicas (43,2%) y doble propósito (43,9%). (Cutini A. Teruel M. Cabodevila J., 2000)

Asegura que la raza de las receptoras no es tan importante como si el biotipo del animal relacionado con la función y adaptabilidad al sistema de manejo. (Cordovez Zulema, 2010)

**Categoría.** Hay criterios desencontrados respecto a si es mejor utilizar novillas o vacas. Los que proponen el uso de vacas lo hacen argumentando que las mismas ya han parido alguna vez. Por otro lado, las vaquillonas son seleccionadas principalmente como receptoras por razones económicas, logísticas y técnicas, entre ellas se puede mencionar que es menos probable que se encuentren bajo estrés nutricional o que tengan una historia con problemas sanitarios, además el útero virgen es más apropiado para recibir un embrión transferido. Se considera que, así como en la inseminación artificial, en la transferencia embrionaria se obtiene mayor porcentaje de preñez en novillas que en vacas. (Cutini A. Teruel M. Cabodevila J., 2000).

En un trabajo en el cual se determinó la influencia de la categoría sobre el porcentaje de preñez concluyeron que las receptoras con mayores porcentajes de preñez fueron las vacas con cría, seguidas por aquellas vacas que destetaron sus crías ( $P \leq 0,05$ , Villarreal et al., 2009).

Posteriormente se ubicaron las novillas y por último, las vacas secas. Estas, fueron vientres que no se habían preñado en el último servicio y quizás esa haya sido la causa de su baja fertilidad.

**Tabla 6. Porcentaje de preñez obtenido luego de transferir embriones congelados en diferentes categorías de receptoras.**

Categoría	Totales	Preñez (%)
1-Novilla	53	45,3 <sup>a</sup>
2-Vaca c/cría al pie	73	61,6 <sup>b</sup>
3-Vaca c/cría destetada	58	56,9 <sup>ab</sup>
4-Vaca seca	23	26,1 <sup>c</sup>
Totales	207	52,2

(Villarreal, et al., 2009) Valores con distintos superíndices difieren significativamente ( $p \leq 0,05$ )

La receptora ideal es una vaca joven, criada en el establecimiento y por lo tanto bien identificada, adaptada al medio, con antecedentes conocidos, sanidad, fertilidad, facilidad de parto y habilidad materna. (Cordovez Zulema, 2010).

En un trabajo en el cual se determinó la influencia que tiene la categoría sobre los porcentajes de preñez concluyeron que las receptoras con mayores porcentajes de preñez fueron las vacas con cría, seguidas por aquellas vacas que destetaron sus crías ( $P \leq 0,05$ , Villarreal *et al.*, 2009). Posteriormente se ubicaron las vaquillonas y por último, las vacas secas. Estas, fueron vientres que no se habían preñado en el último servicio y quizás esa haya sido la causa de su baja fertilidad. (Irouleguy Javier, 2009).

**Tabla 7. Porcentaje de preñez obtenido luego de transferir embriones congelados en diferentes categorías de receptoras.**

Categoría	Totales	Preñez (%)
1- Vaquillona	53	45,3 a
2- Vaca con cría al pie	73	61,6 b
3- Vaca con cría desteta	58	56,9 ab
4- Vaca seca	23	26,1 c
TOTALES	207	52,2

Fuente: (Villarreal, et al., 2009).

**Estado Nutricional.** La condición corporal de las receptoras y el contenido energético de la alimentación que éstas reciben son los factores más importantes. Si se produce una disminución marcada de la condición corporal se afectan el intervalo parto-celo y los porcentajes de preñez y parición. Tomando como referencia la escala 1-5, es necesario lograr una condición corporal 3,5 al parto para que ésta no resulte inferior a 2.5-3 en el momento de la transferencia. Luego, el nivel energético debe seguir siendo correcto, sin llegar al exceso, y debe continuar hasta que la nidación del embrión haya finalizado, resultando determinante entre los días 21 y 45 de gestación. Mapletoft y col., obtuvieron mayor porcentaje de preñez con receptoras de condición corporal entre 2 Y 3, que con aquellas de 1 o 4. (Irouleguy Javier, 2009).

La alimentación y el estado nutricional en una receptora es un factor muy importante, como ya se sabe cuándo un animal entra en déficit alimenticio los primeros que se ven perjudicados son los parámetros reproductivos. Por este motivo este aspecto es de suma importancia más aun considerando que el embrión que se deposita en el útero de una receptora corresponde a un animal de alto valor genético.

Mapletoft et al, 1986, citado por Cutini et al, 2000, obtuvieron mayor porcentaje de preñez con receptoras de CC 2 y 3, que con aquellas de condición  $\leq 1$  o  $\geq 4$  (Tabla 8).



**Tabla 8. Tasa de preñez según CC de las receptoras**

Condición Corporal	Receptoras		Transferidas
	N	Preñez (%)	
≤ 1	230	44 <sup>a</sup>	
2	460	53 <sup>b</sup>	
3	633	55 <sup>b</sup>	
≥ 4	175	47 <sup>a</sup>	

Fuente: Valores con superíndices diferentes difieren: P<0,05) Mapletoft et al, 1986, citado por Cutini et al, 2000

**Empleo reiterado.** Cuando se diagrama un programa de transferencia embrionaria surge el interrogante sobre cuántas veces puede repetirse la transferencia de embriones a una misma receptora. Se ha observado que la tasa de preñez no es afectada hasta la tercera transferencia y que luego tiende a disminuir progresivamente. Esto ocurre con vaquillonas y vacas y con embriones producidos *in vivo* e *in vitro*. En base a esta información se ha establecido un criterio donde se señala que cada receptora podrá tener tres oportunidades de quedar preñada, luego de haber sido transferida correctamente con un embrión de buena calidad. (Cutini A. Teruel M. Cabodevila J., 2000).

**Tabla 9. Porcentajes de preñez obtenidos por distintos autores luego de efectuar transferencias sucesivas.**

Autores	Transferencias			
	1°	2°	3°	4°
Donaldson (27)	58,8	52,5	56,4	50.2
Hasler y col. (36)	73	72	67	50
Liebrich (52)*	56	46	37	-

Fuente (Cutini A. Teruel M. Cabodevila J., 2000)

### Embriones producidos *in vitro*

**Tabla 10.** Tasa de preñez (n) después de la 1, 2 y 3 transferencia de embriones producidos in vitro a la misma receptora.

Transferencias	Receptoras	N preñez	% preñez
1°	183	102	56
2°	108	50	46
3°	40	15	37

(Cutini A. Teruel M. Cabodevila J., 2000).

No se encontraron diferencias para el número de transferencias consecutivas antes de quedar preñada (1: 39%, 2: 37% y 3 o más 33%). (Oyuela A., 2009).

### **3.5.2 Importancia de la evaluación de las estructuras ováricas en la hembra receptora.**

En la evaluación de las estructuras ováricas en las hembras receptoras de embriones, por medio de ultrasonografía trans-rectal, se ha podido determinar que el folículo preovulatorio afecta de manera directa el subsecuente tamaño del cuerpo lúteo, observando que un folículo preovulatorio de 1,3 cms da paso a un cuerpo lúteo que el día siete mide 5mm y produce niveles de progesterona plasmáticos de 1,22 ng/mL y el día 14 el cuerpo lúteo mide 6 mm y genera concentraciones plasmáticas de progesterona de 2,48 ng/ml.

Así mismo, un folículo preovulatorio de mayor tamaño (1,6 cms) da paso a un cuerpo lúteo que el día siete mide 6 mm y produce unos niveles de progesterona plasmáticos de 1,61 ng/mL y el día 14 el mismo cuerpo lúteo mide 9 mm, generando unas concentraciones plasmáticas de 3,05 ng/mL ( $P < 0,05$ ) así, al haber una mayor producción de progesterona plasmática se esperaría generar unas condiciones uterinas más favorables para el desarrollo embrionario temprano. Por eso es importante determinar el tamaño de las estructuras ováricas antes de realizar el trasplante del embrión a la hembra receptora, lo cual permite obtener mejores resultados después de la aplicación de la técnica de TE (Vasconcelos, 2001).

Al realizar seguimiento de la estructuras ováricas por medio de ultrasonografía a un grupo de 140 animales, los cuerpos lúteos de más de dos centímetros de diámetro producen niveles de progesterona circulantes de 2,44 ng/mL, y una tasa de concepción del 58% en hembras a las que se le transfirió un embrión el día siete postcelo; a las hembras que se les encontraron cuerpos lúteos de 1,5 centímetros de diámetro producen niveles de progesterona circulantes de 1,75 ng/mL, y una tasa de concepción del 41%; y, a las hembras a las que se les encontraron cuerpos lúteos menores de 1,5 centímetros de diámetro presentaron niveles de progesterona circulantes de 1,19 ng/mL, y una tasa de concepción del 31% ( $P < 0.05$ ) (Baruselli, 2001). Mientras que al encontrar un cuerpo lúteo de 2,36 centímetros de diámetro se detectó una concentración plasmática de progesterona equivalente a 4,2 ng/mL y una tasa de preñez del 70%, en hembras receptoras de embriones a las que se les fue transferido el embrión el día siete postcelo ( $P < 0,05$ ) (Spell, 2001).

La relación entre la tasa de preñez y la concentración plasmática de Progesterona (P4) de acuerdo al tamaño del CL en receptoras de embriones 1246 bovinos, ha sido objeto de controversia en varios estudios realizados. Algunos investigadores han verificado la correlación positiva entre estas variables, encontrando que a mayor área del CL mayor es la concentración de P4 plasmática, y consecuentemente mayor es la tasa de preñez. Con estos resultados se podría evidenciar que los incrementos en la concentración de P4 durante el “periodo crítico” estimula la secreción de los agentes antiluteolíticos con lo cual se hace eficiente el RMP. (Tovio L. Duica A. Grajales H., 2008)

Contrariamente algunos autores como Spell no han encontrado correlación entre las siguientes variables:

Tamaño del CL, concentración de P4 plasmática y porcentaje de preñez en hembras receptoras con embrión trasplantado. (Tovio L. Duica A. Grajales H., 2008)

El cuerpo lúteo presente al momento de la implantación del embrión juega un papel importante en los resultados de la transferencia de embriones ya que se espera que secreta suficiente cantidad de progesterona para el mantenimiento de la preñez del embrión transferido. (Tovio L. Duica A. Grajales H., 2008)

La evaluación del tamaño del cuerpo lúteo se hace el día de la transferencia del embrión, vía palpación rectal. Siguiendo la clasificación descrita por Zemjanis (1996): (Oyuela 2009)

- Cuerpo lúteo 1 (CL1): cuerpo lúteo blando, no mayor a 1 cm de diámetro.
- Cuerpo lúteo 2 (CL2): cuerpo lúteo blando, de 1 a 2 cm de diámetro.
- Cuerpo lúteo 3 (CL3): cuerpo lúteo de más de 2 cm de diámetro. Al realizar seguimiento de las estructuras ováricas por medio de ultrasonografía a un grupo de 140 animales se obtuvieron los siguientes resultados:

Los cuerpos lúteos de más de dos centímetros de diámetro producen niveles de progesterona circulantes de 2,44 ng/ML, y una tasa de concepción del 58% en hembras a las que se le transfirió un embrión el día siete postcelo. (Duica 2010)

Las hembras que se les encontraron cuerpos lúteos de 1,5 centímetros de diámetro producen niveles de progesterona circulantes de 1,75 ng/ML, y una tasa de concepción del 41%. (Duica 2010)

Las hembras a las que se les encontraron cuerpos lúteos menores de 1,5 centímetros de diámetro presentaron niveles de progesterona circulantes de 1,19 ng/ML, y una tasa de concepción del 31% ( $P < 0.05$ ). (Duica 2010)

Mientras que al encontrar un cuerpo lúteo de 2,36 centímetros de diámetro se detectó una concentración plasmática de progesterona equivalente a 4,2 ng/ml y una tasa de preñez del 70%, en hembras receptoras de embriones a las que se les fue transferido el embrión el día siete poscelo ( $P < 0,05$ ). (Duica 2010)

Así, al existir una mayor producción de progesterona plasmática se esperaría generar unas condiciones uterinas favorables para el desarrollo embrionario temprano. Por eso es importante determinar el tamaño de las estructuras ováricas antes de realizar el trasplante del embrión a la hembra receptora, lo cual permite obtener mejores resultados después de la aplicación de la técnica de TE. (Duica 2010).

**Tabla 11. Efecto de la calidad del CL sobre la tasa de preñez después de la transferencia de embriones.**

CALIDAD DEL CL	N TRANSFERENCIA	N PREÑEZ	% PREÑEZ
1	1193	911	76
2	348	251	72
3	58	46	79

Fuente: (Oyuela A., 2009).

**Tabla 12. Relación entre la calidad del cuerpo lúteo y la preñez de las receptoras después de la transferencia de embriones producidos *in vitro*.**

CALIDAD DEL CL	N ANIMALES	% PREÑEZ	N PREÑEZ
Muy buena	155	76	49
Buena	75	40	51
Regular	98	51	52
Mala			
TOTAL	331	167	152

Fuente: (Palma G., 2001).

La relación entre los niveles sanguíneos de progesterona y la tasa de sobrevivencia embrionaria tampoco pudo ser definida con éxito (Sreenan y Diskin, 1987) por que no pudieron observarse diferencias entre la concentración sérica de progesterona previa a la transferencia de las receptoras que posteriormente permanecían preñadas de las que no lo hacían. (Palma G., 2001).

**Sincronismo donante/receptora y embrión/receptora.** El grado de sincronización que se establece entre la donante y la receptora es otro de los factores importantes que influyen en el resultado final de una TE. Cuando el intervalo entre la ovulación y el lavaje de la donante es igual al comprendido entre la ovulación y la transferencia de la receptora, se habla de una transferencia sincrónica. Este se mide en términos positivos (+) o negativos (-). Si el intervalo entre la ovulación-transferencia en la receptora es un día mayor que el intervalo ovulación-lavaje de la donante, se habla de un asincronismo de + 24 h. Por el contrario -24 h significa que el intervalo de la receptora es un día más corto que el de la donante.

Cuando la donante y las receptoras presentaron celo simultáneamente se obtuvieron las tasas de preñez más elevadas en varios trabajos, sin embargo, generalmente se considera que es más probable obtener mejores resultados transfiriendo a receptoras con asincronismo positivo. Si bien la causa es desconocida, es probable que los embriones de vacas superovuladas estén levemente más avanzados en el desarrollo que aquellos provenientes de un animal no superovulado, de allí que tengan mayor posibilidad de implantarse en una receptora con un ciclo estral más avanzado. (Palma G., 2001)

Los mejores resultados de implantes se alcanzan en casos donde, el día de la transferencia, se dispone de datos exactos sobre el celo de cada una de las receptoras (comienzo, intensidad, duración). (Cordovez Zulema, 2010).

El sincronismo donante-receptora no debe ser analizado como un factor que en forma aislada pueda afectar el porcentaje de preñez. Hasler y col., transfirieron embriones de distintos grados de calidad a receptoras con sincronismo y con asincronismo (+) y (-). Obtuvieron buenos porcentajes de preñez con embriones de calidad buena y receptoras con y sin sincronismo. (Cutini A. Teruel M. Cabodevila J., 2000)

Por el contrario, cuando los embriones transferidos fueron de calidad pobre, los mayores porcentajes de preñez se obtuvieron en receptoras con asincronismo negativo. Esto puede estar relacionado con el hecho que en los embriones de calidad pobre, el desarrollo embrionario retardado es frecuente, resultando un mejor ambiente uterino para este tipo de embrión, el proporcionado por una receptora con asincronismo negativo. (Cutini A. Teruel M. Cabodevila J., 2000)

El sincronismo entre el momento del ciclo de la receptora y el estadio en que se encuentra el embrión parece constituir un índice más válido de las posibilidades de éxito de la transferencia, razón por la cual deberá ser tenido en cuenta al hacer transferencia. (Irouleguy Javier, 2009).

**Tabla 13. Estudio de desarrollo embrionario codificado y edad estimada**

Estadio	Código de desarrollo (estimado en días)
Mórula temprana (Mt)	5
Mórula compacta (Mc)	6
Blastocisto temprano (Bt)	7
Blastocisto (B)	7
Blastocisto expandido (Be)	8
Blastocisto protruido (Bp)	9

Fuente (Lindner y Wrigth, 1983)

**Tabla 14. Efecto de la sincronidad donante/receptora y embrión/receptora sobre la tasa de preñez.**

sincronicidad en días	Sincronicidad Donante/ receptora			Sincronicidad Embrión / receptora		
	n	n	%	n	n	%
+2	27	11	41	76	20	26 c
+1	87	41	47	148	73	49 d
0	158	64	41	204	107	52 d
-1	175	86	49	98	45	46 d
-2	137	56	41	58	13	22 c

a: solo fueron incluidos embriones de excelente y buena calidad.

Fuente c,d: Porcentaje en la misma columna con diferente letra difieren estadísticamente ( $p < 0,001$ ). (Palma G., 2001).

### **Sincronismo embrión- receptora.**

Si se tiene en cuenta que en un animal superovulado los folículos pueden ovular en un periodo largo y que además el desarrollo del embrión se acelera, el sincronismo entre la donante y la receptora puede no ser el mejor indicador a tener en cuenta en el momento de decidir qué embrión transferir en una determinada receptora. Es por ello que, en el momento de efectuar la transferencia, debe ser considerado también el sincronismo embrión-receptora. Por ejemplo, si la recolección se lleva a cabo en el día 7 y se cuenta con receptoras disponibles entre los días 6-8 del ciclo estral, las mórulas deben ser transferidas a las de día 6, las mórulas compactas y blastocistos tempranos a las de día 7 y los blastocistos expandidos a las de día 8. Esta recomendación se basa en trabajos en los que se observó que la transferencias de embriones en estadios más avanzados (blastocistos expandidos y protruidos) a receptoras con asincronismo negativo, resultó en una disminución del porcentaje de preñez. (Cutini A. Teruel M. Cabodevila J., 2000)

La probabilidad de gestación depende también del estadio en que se encuentra el embrión en el momento de la recolección. La transferencia de mórulas tempranas, por ejemplo, alcanzó una tasa de preñez significativamente inferior ( $p < 0,05$ ) frente a otros estadios más desarrollados. Incluso se observó una tendencia creciente en la tasa de gestación a medida que avanza el desarrollo del embrión. Una posible explicación para ello sería que las mórulas tempranas se encontraron retardadas en su desarrollo de acuerdo al momento de la recolección al 6to-8vo días de la recolección. Una segunda explicación posible es que los defectos morfológicos son más fáciles de observar en estadios embrionarios avanzados. (Cutini A. Teruel M. Cabodevila J., 2000).



**Tabla 15. Efecto del estadio del embrión sobre la tasa de preñez.**

Estadios	Embriones Transferibles	N preñez	% preñez
Mt	576	359	61 a
Mc	1178	792	67 b
Bt	600	402	67 b
Be	139	99	71 c

a,b tasas de preñez con diferente letra son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

Fuente: (Palma G., 2001)

### **3.6 Desarrollo post-trasplante del embrión y activación de los mecanismos luteotropicos y luteolíticos.**

Después de ser transplantado o transferido el embrión, este va a encontrar un ambiente uterino que favorece su desarrollo, es entonces cuando el embrión eclosiona de su zona pelúcida, la cual es una barrera externa que protege al embrión del medio en que se encuentra, alcanzando la etapa de blastocisto eclosionado. En esta etapa comienza a tener contacto directo con el medio uterino, el cual es un período crítico ya que del día 8 al 17 ocurre aproximadamente un 30-40% de las pérdidas embrionarias (Thatcher, 1994). El establecimiento satisfactorio del embrión es producto de la interacción entre este con sus membranas asociadas y el endometrio de la hembra receptora, logrado mediante el proceso denominado reconocimiento materno de la preñez.

Este es indispensable para el subsecuente mantenimiento de la gestación, de lo contrario, la madre no reconocería el embrión (50% extraño a ella producto del reconocimiento antigénico paterno, en IA).

En la técnica de TE debe tenerse en cuenta que el embrión es 100% ajeno a la hembra receptora, motivo por el cual es más sensible la activación de los mecanismos Luteolíticos. El reconocimiento materno de la preñez se reconoce como el período crítico en el que el embrión envía señales de su presencia a la madre antes de que se inicie el proceso de regresión del cuerpo lúteo, para así mantener la integridad funcional del mismo, desencadenando una serie de cambios

a nivel uterino que favorecen el establecimiento de la gestación conocido como factor luteotrópico (Rodríguez, 2001).

El ambiente del útero es hostil para el embrión que se encuentra en las primeras etapas de su desarrollo, únicamente se encuentra rodeado por un fluido uterino oviductal que contiene compuestos derivados del suero sanguíneo aportando electrolitos, sustratos energéticos y productos específicos que hacen que aumente la posibilidad de supervivencia del embrión durante esta etapa (Oliphant, 1984). Pero también es importante tener en cuenta que la supervivencia embrionaria temprana depende de la programación genética intrínseca de este (Hernández, 1995).

Al producirse la salida del embrión de la zona pelúcida, proceso conocido como eclosión, el blastocisto presenta un área celular interna llamada embrioblasto y una capa externa denominada trofoblasto el cual es el precursor para la formación de la placenta, durante este período continúa el desarrollo embrionario y el cuerpo lúteo sigue secretando progesterona; al llegar el embrión al día 14 a 18 (Burges, 1990; Hernández, 1995) las células del trofoblasto inician la secreción de una proteína (trofoblástica bovina), también denominada Interferón Tau, la cual se presenta antes de iniciar el mecanismo luteolítico en la hembra. Esta es la señal que envía el embrión para que se bloquee la transcripción del gen que codifica para los receptores de oxitocina y de la misma forma hace que se expresen los mecanismos inhibidores para la síntesis de prostaglandina F<sub>2α</sub>, haciendo que se mantenga el cuerpo lúteo y de la misma manera continúe la secreción de progesterona, la cual es la encargada del establecimiento y mantenimiento de la preñez en mamíferos. Otra función del interferón Tau se da al favorecer la síntesis de proteínas uterinas durante la fase inicial de la gestación, inhibiendo el desencadenamiento del mecanismo luteolítico](Spencer, 2004).

La implantación embrionaria es un proceso complejo, que comprenden una serie de etapas que comienza con la fijación del blastocito al útero y termina con la formación de la placenta definitiva. Para que la implantación tenga éxito, se requiere de una comunicación entre el embrión y el endometrio a través de una serie de señales moleculares y celulares que conllevan finalmente a una sincronía entre el desarrollo del embrión y una compleja serie de eventos inducidos en el útero por los estrógenos y la progesterona. (Duica A.Tovio N. Grajales H, 2007)

Al producirse la salida del embrión de la zona pelúcida, proceso conocido como eclosión, el blastocisto presenta un área celular interna llamada embrioblasto y una capa externa denominada trofoblasto el cual es el precursor para la formación de la placenta, durante este período continua el desarrollo embrionario y el cuerpo lúteo sigue secretando progesterona; al llegar el embrión al día 14 a 18 (Burges, 1990; Hernández, 1995) las células del trofoblásto inician la secreción de una proteína (trofoblástica bovina), también denominada Interferón Tau, la cual se presenta antes de iniciar el mecanismo luteolítico en la hembra. Esta es la señal que envía el embrión para que se bloquee la transcripción del gen que codifica para los receptores de oxitócica y de la misma forma hace que se expresen los mecanismos inhibidores para la síntesis de prostaglandina F2 alfa, haciendo que se mantenga el cuerpo lúteo y de la misma manera continúe la secreción de progesterona, la cual es la encargada del establecimiento y mantenimiento de la preñez en mamíferos. Otra función del interferón Tau se da al favorecer la síntesis de proteínas uterinas durante la fase inicial de la gestación, inhibiendo el desencadenamiento del mecanismo luteolítico. (Duica A.Tovio N. Grajales H, 2007).

En el útero, después de ocurrida la fecundación del oocito, los niveles altos de progesterona producen un aumento en la capilaridad, que estimula la secreción de interleuquina seis y proteínas en las células luminales para proteger el embrión que está presente en la luz

uterina, esto junto con un aumento en la secreción de las glándulas endometriales, van a proveer un ambiente uterino que permita favorecer la supervivencia del embrión. Así mismo, la acción hormonal hace que disminuya el tono de la capa muscular uterina, permitiendo que se adhiera más fácilmente el embrión al endometrio, previniendo pérdidas embrionarias tempranas (Hafez, 2000).

El interferón Tau, esta es una señal antiluteolítica producida por el embrión en las células mononucleares del trofoectodermo (Bazer, 1997). Este ejerce un efecto antiluteolítico paracrino en el endometrio, el cual suprime la transcripción del gen que codifica para los receptores de estrógenos en el epitelio luminal y glandular endometrial, previniendo la expresión de los receptores de oxitocina, así anulando la síntesis y secreción pulsátil del principal agente luteolítico que es la prostaglandina F<sub>2</sub> $\alpha$  durante la preñez temprana. El interferón Tau es una sustancia de tipo proteico, con una cadena compuesta por 172 aminoácidos, que además cumple una función importante antiviral, antiproliferativo e inmunomodulador como lo son los otros interferones pertenecientes al tipo I (Spencer, 2004). Ya que el interferón Tau no es detectado por los mecanismos de drenaje venoso o linfático presente en el útero, su efecto antiluteolítico actúa a nivel local en el epitelio endometrial; la secreción de éste, se relaciona con la presencia de factores de crecimiento insulínico tipo uno y dos, así como el factor activador de plaquetas, en el fluido luminal uterino (Hansen, 1999).

El sitio de liberación del interferón Tau son las células mononucleares del trofoblasto y el momento de mayor liberación de este, ocurre entre los días 16 y 19 de preñez, pero puede ser encontrado entre los días 12 y 38 de preñez, así que su secreción inicia antes de la activación del mecanismo luteolítico, para poder prevenir, de una manera eficaz, la liberación sustancias que desencadenaría la luteolisis y, por ende, la pérdida embrionaria (Rodríguez, 2001).

La interacción entre la progesterona, los estrógenos y la oxitocina y sus respectivos receptores entre otros factores, permiten que el epitelio endometrial produzca y libere a la vena uterina media el principal agente inductor de la lisis del cuerpo lúteo, que es la prostaglandina F2 $\alpha$ , esta pasa a la arteria ovárica por un mecanismo de difusión y por contracorriente llega al cuerpo lúteo, en donde va a cumplir con su acción luteolítica la cual consiste en desencadenar un proceso de muerte celular programada denominado apoptosis de células del cuerpo lúteo (Barnea,2000).

La disminución en las concentraciones de progesterona durante el ciclo estral, es necesaria para que se lleve a cabo la producción uterina de prostaglandina F2 $\alpha$  desencadenando la activación de mecanismos luteolíticos, ya que la acción de la progesterona hace que se aumente los niveles de fosfolípidos, así como la función de la prostaglandina sintetasa, esta enzima interviene en la transformación del ácido araquidónico en prostaglandina F2 $\alpha$ ; así mismo, la oxitocina interviene en la producción de la prostaglandina ya que favorece a la activación de la fosfolipasa A2, haciendo que se produzca la liberación de ácido araquidónico. La concentración pulsátil de la PG2 $\alpha$  aumenta en la vena uterina durante el proceso de luteolisis, encontrándose liberación de esta hormona en forma de pulsos, de 5 a 8 en un espacio de 6 a 8 horas, produciendo la inminente regresión del cuerpo lúteo entre los días 16 a 19 del ciclo estral.

Esta acción luteolítica de la prostaglandina F2 $\alpha$  se da porque ocasiona vasoconstricción del flujo sanguíneo que llega al cuerpo lúteo, además del daño de los capilares desencadenando el no aporte sanguíneo a esta estructura. Así mismo, la PG2 $\alpha$  desencadena la activación del sistema inmunológico, ya que estimula la migración de macrófagos y linfocitos hacia el cuerpo lúteo, degradando las células luteales muertas y produciendo el cuerpo albicans o cicatrizal (Hafez, 2000; Rodríguez, 2001).

### **3.6.1 Porcentaje de preñez.**

La diferencia de preñez del 10-20%, entre esta técnica y la quirúrgica, podría ser explicada por las infecciones provocadas al introducir el catéter de transferencia, vía vagina, en el útero, particularmente susceptible de infecciones entre el día 6-8 del ciclo. (Cutini, 2000)

La tasa de preñez de los embriones producidos in vitro es similar a la de los obtenidos in vivo, aunque la apariencia morfológica de los primeros dista de responder a los criterios establecidos para los segundos. (Lozano R. Aspron M. Vasques G. Gonzales E. Arechiga C, 2007)

La probabilidad de gestación depende también del estadio en que se encuentra el embrión en el momento de la recolección. La transferencia de mórulas tempranas, por ejemplo, alcanzó una tasa de preñez significativamente inferior ( $p < 0,05$ ) frente a otros estadios más desarrollados. Se observó una tendencia creciente en la tasa de gestación a medida que avanza el desarrollo del embrión, Una posible explicación para ello sería que las mórulas tempranas se encontraron retardadas en su desarrollo de acuerdo al momento de la recolección al 6 y 8 días de la recolección. Una segunda explicación posible es que los defectos morfológicos son más fáciles de observar en estadios embrionarios avanzados. (Cutini, 2000).

La tasa de gestación de las vacas receptoras de época templada fue más alta cuando recibieron embriones producidos durante la época templada (45.0 %), que en aquéllas que recibieron embriones producidos en época cálida (21.5 %,  $P < 0.05$ ). Se observó una tendencia de mayor tasa de gestación de las vacas receptoras cuando recibieron embriones de calidad excelente (30.4 %), que en aquéllas que recibieron embriones de calidad buena (16.9 %;  $P < 0.11$ ). (Mariano, 2008).

### **3.6.2 Causas de mortalidad embrionaria.**

Existen una serie de causas de mortalidad embrionaria que deben tenerse en cuenta durante la etapa embrionaria temprana, ya que estos factores, desencadenan pérdidas embrionarias, las cuales generan disminuciones en la eficiencia reproductiva, en animales a los que se trasplanta un embrión. Actualmente se estima que el porcentaje de pérdidas embrionarias son aproximadamente entre el 30 y 40% las cuales ocurren antes del día 17 (Araujo, 2005), estas deben ser plenamente identificadas y diferenciadas de las muertes embrionarias que ocurren después del día 17 de gestación. En el caso de no existir una preñez, o cuando hay mortalidad embrionaria antes del día 17, la  $PGF2\alpha$  actúa sobre el cuerpo lúteo desencadenando su regresión y deteniendo la producción de la progesterona, haciendo que la hembra retorne al ciclo estral de una manera normal, lo cual es indetectable para el ganadero o para el encargado de los animales (Hernández, 1995).

Dentro de las causas de mortalidad embrionaria, pueden tenerse en cuenta los factores de tipo genético.

Las alteraciones genéticas pueden deberse a la presencia de defectos heredados, alteraciones durante la miosis celular, problemas durante el proceso fertilización, por alteraciones cromosómicas, las cuales constituyen una importante causa de pérdida embrionaria, ya que en hembras súper ovuladas se considera que el 10% de estadios de mórula y blastocistos presentan este tipo de anomalías citogenéticas, siendo esta una causa directa de pérdida embrionaria (King, 1990).

Existe una serie de moléculas asociadas al proceso de implantación entre las cuales se encuentran proteínas, péptidos, factores de crecimiento, citoquinas; los cuales participan

activamente en este proceso (Martal, 1997). De esta manera cualquier alteración en los procesos de replicación de la información genética va desencadenar falla en la síntesis de proteínas, causando alteraciones en el desarrollo óptimo del embrión y el éxito de la implantación, generando así una subsecuente pérdida embrionaria en cualquiera de las etapas de su desarrollo (Kawarsky, 1996).

El control endocrino para la síntesis de proteínas uterinas durante el desarrollo embrionario temprano ha sido parcialmente aclarado en los bovinos; en tal sentido, se reporta que la P4 (progesterona), es la responsable de los cambios cualitativos y cuantitativos de proteínas en el medio ambiente uterino controlando la síntesis y secreción de por lo menos 10 proteínas. De acuerdo a esto se deduce que deficiencias en esta hormona podría causar que el endometrio llegue a ser deficiente en la producción de los nutrientes necesarios para la sobrevivencia del embrión. (Hernandes Ceron J. Zarco Quintero, 2008)

El desequilibrio entre estrógenos y P4 puede causar mortalidad embrionaria ya que estas hormonas interactúan para la inducción de proteínas específicas del útero (*CSF- 1, EGF, LIF, IL – 1, Proteinasa, Prostaciclín, Blastoquinina, Calcitonina, Dipetilpeptidasa – IV, Glicoproteína CD 44*), necesarias para el proceso de implantación y mantenimiento embrionario. Igualmente se plantea que un desequilibrio de estas hormonas altera el mecanismo de transporte del embrión, acelerándolo o volviéndolo lento, lo cual causa muerte de este antes de la implantación. (Mariano, 2008)

La transferencia de un solo embrión en el cuerno contralateral provoca una alta mortalidad embrionaria dado que las señales luteotróficas y antiluteolíticas del embrión fallan en alcanzar el CL del lado opuesto a la transferencia. (Tovio L. Duica A. Grajales H., 2008)



Los embriones transferidos de las distintas razas produjeron porcentajes de preñez similares a los 28-33 días. Los porcentajes obtenidos a la palpación transrectal también fueron similares. Sin embargo, se observó una mayor mortalidad embrionaria en los embriones de raza sintética y europea. (Arreseigor A. Vasconcellos T. Pereira A. Sarmiento G. Stahringer., 2007)

**Tabla 16. Preñeces Mortalidad Embrionaria según el origen de las donantes.**

Raza donante	Total TE	Preñez 28- 33 días	Preñez 60- 80 días	Mortalidad Embrionaria
Brahman	280	146 (52%)	135 (48%)	11 (8%)
Sintéticas	542	298 (55%)	249 (46%)	49 (16%)
Europeas	233	136 (58,4%)	109 (47%)	32 (24%)
Total	1055	580 (55%)*	493 (47%)	92 (16%)

\* $p > 0,2$  \*\* $p > 0,8$  \*\*\* $p < 0,06$  (C.J. Arreseigor., Tami Vasconcellos. A Pereira. Fuente: Ibareche A. Sarmiento G. R Stahringer. 2004).

Los resultados obtenidos en este trabajo, demuestran que los embriones y receptoras de origen índico sufren menores pérdidas embrionarias a los 28-33 días de gestación, que los de raza europea o sintética en las condiciones de elevadas temperaturas ambientales en la región subtropical. (Arreseigor A. Vasconcellos T. Pereira A. Sarmiento G. Stahringer., 2007).

### **3.6.3 Otros factores causantes de mortalidad embrionaria.**

**Factores genéticos.** La heredabilidad es muy importante en la aparición de algunos desórdenes reproductivos en vacas lecheras.

Entre ellos se encuentran: la retención placentaria, la presencia de locus anormales, endometritis, anestro y ovarios quísticos (Hernández, 2003), todos estos factores al no ser

controlados, van a causar alteraciones reproductivas que van a afectar directamente el desempeño reproductivo del animal en las gestaciones futuras. Los embriones pueden ser anormales como resultado de defectos heredados, errores en la meiosis o en la fertilización, por variaciones en el número y estructura cromosómica como es el caso de la poliploidia siendo ésta una de las causas de muerte embrionaria. (Duica A.Tovio N. Grajales H, 2007)

**Factores ambientales.** Es importante también tener en cuenta los factores de tipo ambiental, ya que estos van a afectar directamente las condiciones de confort de la hembra bovina afectando así el desempeño de esta. Es así como el control de la temperatura corporal en el animal, es un proceso integrado, regulado por mecanismos fisiológicos a nivel hipotalámico, los efectos más fuertes del estrés calórico se observan en la vaca de leche, ya que es poco eficiente en mantener la temperatura corporal debido a que la pérdida de calor depende de la evaporación por vía respiratoria y, en menor grado, por la sudoración, afectando de manera directa el desempeño productivo y reproductivo del animal (Hernández, 2003). La exposición del animal a temperaturas elevadas induce a que se presente mortalidad embrionaria ya que este genera un aumento de la temperatura al interior del útero, especialmente en zonas tropicales. Los efectos del estrés térmico sobre el embrión joven no son apreciables sino hasta las fases finales de su desarrollo, lo cual se evidencia al someter embriones a temperaturas elevadas in vitro, los cuales se alteran pero continúan con su desarrollo, produciéndose una pérdida embrionaria posterior durante la etapa de implantación. Existen raza que presentan una mayor adaptabilidad a condiciones de calor extremo, como es el caso de los animales *Bos indicus* y sus cruces, en los que se evidencia una marcada resistencia a los efectos producidos por el estrés calórico (Garrett, 1988).

Diskin y Sreenan en 1980 sometieron un grupo de hembras bovinas a temperaturas de 32° C por un espacio de 72 horas inmediatamente después de la inseminación artificial, al hacer la evaluación se obtuvo un índice de fertilidad de 0%, en comparación con un grupo control que fue sometido a un rango de temperatura entre 7 y 21° C, encontrándose una tasa de concepción del 48%. Esto confirma la baja eficiencia reproductiva en épocas de aumento de temperatura ambiental. El estrés inducido al animal por la acción de las altas temperaturas entre los días 8 y 17 de preñez altera el ambiente uterino y reduce en un 70% la secreción de proteína trofoblástica bovina, lo cual induce al desencadenamiento del mecanismo luteolítico, afectando de manera directa la viabilidad del embrión (Ross, 2000). De la misma forma, las vacas con características cárnicas expuestas entre los días 8-16 de la gestación, presentaban una disminución en el peso del conceptus y del diámetro cuerpo lúteo; existen una serie de proteínas encargadas en generar protección contra el choque calórico, las cuales son generadas por el cigoto desde que se da el primer clivaje de sus células, estas proteínas también pueden estar involucradas en mecanismos antioxidantes (Al-Katanani, 2002).

Los efectos causados por estrés térmico sobre el embrión joven no son aparentes sino hasta las fases finales de su desarrollo, evidenciándose esto en embriones *in vitro* sometidos a temperaturas altas, los cuales se afectan pero continúan su desarrollo para posteriormente morir durante la etapa de implantación. En referencia a esto se ha encontrado que los embriones de vacas *Bos indicus* resisten más estos efectos causados por estrés calórico que los embriones provenientes de madres *Bos taurus*. (Duica A. Tovia N. Grajales H, 2007)

En cuanto a la secreción embrionaria, se ha encontrado que el estrés calórico causado entre los días 8 y 17 de preñez altera el ambiente uterino y reduce en un 72% la secreción de

interferon - tau, lo cual repercute negativamente sobre el mantenimiento del cuerpo lúteo y consecuentemente con la viabilidad del embrión (*RMP*). (Duica A.Tovio N. Grajales H, 2007)

**Factores nutricionales.** Un importante factor que debe ser controlado de una manera efectiva está asociado a la nutrición, ya que existe una influencia directa entre la nutrición y el desempeño reproductivo del animal, así como con la producción de progesterona, que va a generar un ambiente adecuado para el establecimiento de la preñez, una nutrición desbalanceada genera un balance energético negativo que trae como consecuencia la disminución del peso del animal, así como la disminución de los niveles de glucosa sanguínea necesarios para brindar una fuente energética necesaria para llevar a cabo el desarrollo y mantenimiento fisiológico normal del embrión, y de las funciones reproductivas en la hembra. Este desbalance energético produce una disminución de la función del eje hipotálamo-hipofisiario- ovárico causando alteraciones como ovarios sin estructuras que demuestren ciclicidad y anestros prolongados (Schroeder, 2005).

De la misma manera van a encontrarse disminuciones en la secreción de GnRH, inhibición del metabolismo de mineralocorticoides, inhibición del metabolismo basal, atresia folicular, escasa liberación de TSH, disminución en la tasa de ovulación, celo silente, muerte embrionaria y anestro (Elrod, 1993).

Al administrar al animal dietas ricas en proteínas degradables en el rúmen se va a inducir la alteración en el pH, afectando de manera directa el medio uterino, al producirse esta alteración en los iones, se puede afectar la ionización de los sustratos energéticos para el embrión poniendo en peligro su sobrevivencia antes del reconocimiento materno de la preñez, generando una pérdida embrionaria temprana (Baxter, 1997), los altos niveles de proteína cruda también se relacionan con aumentos en el nivel de amonio ruminal, con el consecuente incremento de los

niveles de amonio sistémico, para así afectar de una manera directa el medio uterino causando mortalidad embrionaria (Robinson, 1999).

Estudios realizados en la universidad de Cornell han demostrado la reducción en la fertilidad cuando se excede con proteína degradable en el rumen. Esto altera el pH uterino, por lo cual se podría modificar la concentración de los iones, afectando de esta manera la ionización de los sustratos energéticos para el embrión, poniendo en peligro su sobrevivencia antes del reconocimiento materno de la preñez. (Duica A.Tovio N. Grajales H, 2007)

**Factores tóxicos.** La toxicidad es uno de los factores que al ser encontrados en el animal van a causar alteración de las funciones reproductivas así como del desarrollo embrionario, esta toxicidad puede ser desencadenada en el animal por la ingestión de fitoestrógenos, los antiestrógenos y algunas sustancias bociógenas que pueden causar alteraciones reproductivas y muerte embrionaria, esta toxicidad también puede ser producida por varias especies de plantas como es el caso de las del género *Astragalus spp* y *oxytropis spp* (*Conium*, *Nicotiana*, *Lupinus*), al ingerir estas plantas se va a producir malformaciones fetales, modificaciones en el balance de los fluidos fetales, así como muerte fetal y aborto, lo cual se atribuye al contenido de alcaloides pirimidínicos (Hernández, 2003).

Se han establecido una serie de sustancias como los fitoestrógenos entre otras, que podrían llegar a ser consumidas por las vacas, lo cual podría causar alteraciones reproductivas que conlleven a mortalidad del embrión. (Duica A.Tovio N. Grajales H, 2007)

**Factores patológicos.** Los factores del orden infeccioso como las toxinas generadas por microorganismos que afectan a la hembra bovina, van a generar infertilidad de estas, como es el caso de *Leptospira spp* así como el *Campylobacter foetus* y la *Trichomona foetus* que pueden causar muerte embrionaria y presentar problemas de repetición de servicios, así como en el caso

de infecciones causadas por el *Haemophilus somnus* en donde se causan fallas en la fertilización y mortalidad embrionaria (Jiménez, 2005). La acción de microorganismos patógenos como el *Mycoplasmas spp* y *Ureoplasmas spp* también están asociados a desórdenes reproductivos, ya que causan infertilidad en la hembra, incluyendo mortalidad embrionaria (Vanroose, 2000). Otro tipo de parásitos que afectan a la hembra bovina se encuentran dentro del grupo de los hemoparásitos, estos pueden desencadenar abortos y pérdidas embrionarias. Agentes infecciosos de tipo viral afectan significativamente la viabilidad de los embriones, como es el caso del virus de la diarrea viral bovina, que penetra la zona pelúcida y causa la degeneración de los embriones, así como el virus de la rinotraqueitis infecciosa y el virus de la lengua azul en los bovinos, en donde son agentes causantes de alteraciones reproductivas (Jiménez, 2005),

Dentro de los patógenos causantes de mortalidad embrionaria, posiblemente los de mayor ocurrencia en el medio colombiano, son el *Campylobacter* y la (Hernández, 2003). Agentes infecciosos como la *Leptospiraspp*, *Campylobacterfetus* y *Trichomonafetus* pueden causar muerte embrionaria.

De igual manera ocurre con el *Haemophilus somnus*, el cual también presenta un alto tropismo por los tejidos del sistema reproductivo generando fallas en la fertilización. De la misma forma agentes de microorganismos como *Mycoplasmas spp*. Y *Ureoplasmas spp.*, están asociados a desórdenes reproductivos.

El *Ureoplasma diversumes* genera alteraciones en la fertilidad en los bovinos, igualmente se incluye entre los causantes de mortalidad embrionaria. (Duica A.Tovio N. Grajales H, Los virus son quizás los que más problemas acarrear, ya que afectan la viabilidad de los embriones; tal es el caso del virus de la diarrea viral bovina, que penetra la zona pelúcida y causa la degeneración de los embriones. También los virus de la rinotraqueitis infecciosa (IBR) y el virus

de la lengua azul en los bovinos son agentes causantes de desórdenes reproductivos. (Duica A.Tovio N. Grajales H, 2007)

**Factores inmunológicos.** Aunque existen numerosos estudios que analizan los mecanismos por los cuales la madre tolera la presencia del embrión (conceptusalogénico), no se ha profundizado suficientemente en los procesos inherentes al rechazo inmunológico, lo cual causa muerte embrionaria. Sin embargo se sabe que el embrión hereda características del padre ajenos a los de la madre receptora (Aloingerto). (Duica A.Tovio N. Grajales H, 2007)

Número y tamaño del o los Cuerpo/s lúteo/s y concentración sérica de progesterona.

Como ya se ha mencionado, para que el embrión transferido logre una preñez, en el útero de la receptora deben darse ciertas condiciones, las mismas están dadas entre otros factores por la existencia de agentes luteotrópicos y la inhibición de los factores luteolíticos.

Rodríguez, et al. (2007). Citan en su trabajo que para que exista el reconocimiento materno, el embrión debe encontrar un medio uterino apropiado, influido por la P4 lútea, ya que ésta estimula la producción de una variedad de secreciones endometriales tales como el MUC-1 (mucin glycoprotein-1), lactógeno placentario, osteopontinas, necesarias para el adecuado desarrollo de los embriones (Spencer et al., 2004, citado por Rodríguez et al., 2007). Por lo tanto, debe detenerse el proceso luteolítico mediante la expresión de interferon-tau por parte del embrión, evitando la muerte embrionaria temprana (Demmers, 2001 citado por Rodríguez et al., 2007), o favoreciendo la acción de la P4 sobre el endometrio que conlleva a la inactivación de la producción de prostaglandina F<sub>2</sub> $\alpha$  (PGF<sub>2</sub> $\alpha$ ) de forma prematura evitando la formación de cuerpos lúteos de corta duración (Spencer et al., 2004 citado por Rodríguez et al., 2007).

El efecto de la cantidad de cuerpos lúteos o del área total de CL todavía está en discusión y diversos autores indican que es uno de los factores que debería seguir investigándose debido a la variabilidad que existen en los diferentes trabajos.

Según Duica et al. (2007), un folículo preovulatorio de 1,3 cm de diámetro genera luego de la ovulación un cuerpo lúteo que el día siete mide 5 mm y produce niveles de P4 plasmática de 1,22 ng/ml y al día 14, el CL mide 6 mm y genera concentraciones plasmáticas de P4 de 2,48 ng/ml. Asimismo, un folículo preovulatorio de mayor tamaño (1,6 cm) da paso a un CL que al día 7 mide 6 mm y produce niveles de P4 plasmática de 1,61 ng/ml y el día 14 el mismo cuerpo lúteo mide 9 mm, generando concentraciones plasmáticas de 3,05 ng/ml ( $P < 0,05$ ); así, al haber una mayor producción de P4 plasmática se esperaría generar unas condiciones uterinas más favorables para el desarrollo embrionario temprano. Por eso es importante determinar el tamaño de las estructuras ováricas antes de realizar la transferencia del embrión a la receptora.

Baruselli et al. 2001, citado por Duica et al., 2007 relacionaron el tamaño del CL, la concentración de P4 y el porcentaje de preñez (Tabla).

**Tabla 17. Relación tamaño del cuerpo lúteo/producción de P4 y porcentaje de preñez**

Tamaño de CL	Concentración de P4	Preñez (%)
>2 cm	2,44 ng/ml	58
>1,5 cm	1,75 ng/ml	41
<1,5 cm	1,19 ng/ml	31

Fuente: Baruselli et al. 2001, citado por Duica et al., 2007

En concordancia con este trabajo Spell (2001, citado por Duica et al., 2007), al encontrar un CL de 2,36 cm de diámetro en receptoras a las que se les fue transferido el embrión el día 7 postcelo, detectó una concentración plasmática de P4 de 4,2 ng/ml y una tasa de preñez del 70%.



Cutini et al., (2000) mostraron la gran variabilidad que existe en los diferentes trabajos realizados por distintos autores, indicando que no es posible establecer una relación entre la calidad del CL y la preñez.

La Tabla muestra el efecto de la calidad del cuerpo lúteo, estimada en función de su tamaño y consistencia a la palpación, sobre la tasa de preñez después de la transferencia embrionaria.

**Tabla 18. Tasa de preñez según la calidad del cuerpo lúteo**

Autores	Calidad	Receptoras transferidas (n)	Receptoras Preñadas (n)	Receptoras preñadas (%)
Donaldson (1985)	Excelente	-	-	62,5
	Buena	-	-	59,2
	Regular	-	-	61,3
	Dudosa	-	-	47,7
Hasler y col (1987)	1	1193	911	76,4
	2	348	251	72,1
	3	58	46	79,3
Liebrich (1991)*	Muy buena	155	76	49,0
	Buena	78	40	51,3
	Regular y mala	98	51	52,0
Bó y col (1999)**	1	107	55	51,4
	2	220	112	50,9
Lagomarsino (1999)***	1	378	183	48,4
	2	196	110	56,1

Referencia - (no consignado), \* Embriones producidos in vitro, \*\* Embriones frescos, \*\*\* Embriones congelados.

Fuente: Cutini et al,2000.

**Historia reproductiva de la receptora.** En un trabajo realizado por Peres et al., (2006) en el cual se analizaron las diferentes variables que influyen en el resultado de preñez de las TETF, observaron que había un efecto significativo ( $P < 0,05$ ) de la variable historia reproductiva, en donde se consideraba que las receptoras podían tener dos historias reproductivas, una opción era haber quedado vacía en una TE previa y la otra opción era la de ser receptora por primera vez. Los resultados obtenidos (Tabla), concordaban con lo informado por Looney et al., (2006), citado

por Peres, et al., 2006, quienes encontraron una reducción del 10% en la tasa de preñez en las receptoras previamente utilizadas.

**Tabla 19. Porcentaje de preñez obtenido en receptoras con diferente historia reproductiva.**

Antecedente Reproductivo	Preñada/Transferida	Porcentaje (%)
Vacía en una TE anterior	49/109	44,9 <sup>a</sup>
Vacas utilizadas primera vez	322/562	57,3 <sup>b</sup>

<sup>a,b</sup> Valores con superíndices diferentes difieren:  $P < 0,05$ . Looney et al., (2006), citado por Peres, et al., 2006

**Empleo reiterado.** Según se mencionó está claro que hay una diferencia significativa a favor de animales utilizados por primera vez por sobre aquellas receptoras que hayan quedado vacías en una TE previa. Con respecto a este factor surge la duda de cuanto influye el uso reiterado de las mismas. Se ha observado que la tasa de preñez no es afectada hasta la tercera transferencia y que luego tiende a disminuir progresivamente (Cutini et al., 2000). Esto ocurre tanto en novillas como en vacas y con embriones producidos in vivo e in vitro. En base a esta información se ha establecido un criterio donde se señala que cada receptora podrá tener tres oportunidades de quedar preñada, luego de haber sido transferida correctamente con un embrión de buena calidad (Alberio, 1993).

En la (Tabla) se pueden apreciar los porcentajes obtenidos por distintos autores luego de efectuar transferencias sucesivas (Cutini, et al., 2000)

**Tabla 20. Efecto de las transferencias reiteradas en receptoras.**

Autores	Transferencias			
	1°	2°	3°	4°
Donaldson (1985)	58.8 %	52.6 %	56.4 %	50.2 %
Hasler y col (1987)	73 %	72 %	67 %	50 %
Liebrich (1991)*	56 %	46 %	37 %	-

\*Embriones producidos in vitro (Cutini, et al., 2000).

### **3.6.4 Factores relacionados con el momento de la transferencia.**

Dentro de los factores relacionados con la aplicación de la técnica de transferencia de embriones hay que tener en cuenta que hay diferencias numéricas y en algunos casos significativos según el profesional que realice la transferencia. Tal es el caso del trabajo realizado por Bó et al., 2003, citado por Duica et al., 2007 en donde se evidenciaron diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) en los resultados, representados en tasa de preñez, después de realizar TE, cuatro diferentes operarios que aplicaron la técnica, evaluando también la calificación de la transferencia (Buena, regular, mala) en un grupo experimental, conformado por 867 receptoras. De esta manera, la aplicación de la técnica afectó directamente la eficiencia del programa de TE (Duica et al., 2007).

La obtención de los embriones debe ser realizada por un profesional con experiencia en este tipo de actividades ya que se realiza una gran manipulación del útero y cualquier imprecisión en el manejo de este órgano causaría disminuciones en la obtención de buenos resultados debido a la liberación de prostaglandinas a nivel uterino (Bó et al., 2003, citado por Duica et al., 2007).

### **3.6.5 Factores relacionados con el medio ambiente.**

El medioambiente como elemento constante en todo tipo de producción pecuaria ejerce influencias positivas y negativas sobre los organismos.

Esto se ve claramente expresado en los animales de zonas subtropicales, que tienen un ciclo reproductivo activo solo durante una época del año. Los factores ambientales pueden afectar los porcentajes de preñez en las fincas.

El estrés calórico producido en ciertas estaciones del año reduce la fertilidad tanto en vacas productoras de leche (Wolfenson et al., 1988; Sartori et al., 2002 citado por Barati et al.,

2006) como en vacas productoras de carne (Dunlap y Vincent, 1971, citado por Barati et al., 2006).

**Factores relacionados con el estrés calórico.** Al igual que como se ve afecta la fertilidad en las vacas, el estrés calórico tiene un efecto perjudicial sobre los embriones sobre todo en las etapas tempranas del desarrollo (en el día 1 después de la inseminación, Ealy et al., 1993; Edwards y Hansen, 1997 citado por Barati et al., 2006). Se produce un aumento de la concentración de radicales libres (Ealy et al., 1993 citado por Barati et al., 2006) y una disminución en las proteínas de shock térmico (Edwards y Hansen, 1997 citado por Barati et al., 2006)

Además, se ha reportado que los animales Bos Indicus son más resistentes al estrés térmico comparados con los Bos Taurus (Paula-Lopes et al., 2003, citado por Barati et al., 2006).

En cuanto a la secreción embrionaria, se ha encontrado que el estrés calórico causado entre los días 8 y 17 de preñez altera el ambiente uterino y reduce en un 72% la secreción de interferon - tau, lo cual repercute negativamente sobre el mantenimiento del cuerpo lúteo y consecuentemente con la viabilidad del embrión (*RMP*). (Duica A.Tovio N. Grajales H, 2007)

Investigaciones que han tratado de determinar la influencia de la estación del año sobre la reproducción de la hembra bovina demostraron su efecto sobre la edad a la cual llegan a la pubertad y sobre la fertilidad. Estos efectos están asociados con el fotoperiodo, la nutrición y el estrés térmico (Tucker, 1982, citado por Weaver et al. 1986).

Jared McNaughtan, (2004) en su trabajo señala tres causas de cómo el estrés térmico afecta el resultado de preñez en TE en vaquillonas:

a) Es más dificultoso de detectar el estro en animales que están sujetos a estrés térmico, debido a que lo expresan alrededor de 4,5 h menos que aquellos que no están estresados. Además la frecuencia de las montas decrece durante los meses más calurosos del año. Una probable razón

para la baja expresión del celo es el cansancio físico sufrido por el animal en estrés. Otra posible razón puede tener origen hormonal ya que los animales estresados tienen bajos niveles circulantes de  $17\beta$ -estradiol, y en algunos casos tienen niveles altos de adrenocorticotropinas, que pueden inhibir el comportamiento causado por el estradiol.

b) El estrés calórico puede afectar la reproducción, reduciendo los porcentajes de concepción. La disminución en los porcentajes de concepción puede ser el resultado de las variaciones de temperatura y/o una reducción en el flujo sanguíneo al tracto reproductivo. Como resultado del aumento de temperatura y de la variación en el volumen de sangre que llega al útero, la probabilidad de que se produzca muerte embrionaria temprana aumenta.

c) El estrés calórico eleva los niveles de  $PGF2\alpha$ . Animales productores de carne y leche han tenido un incremento de la concentración en plasma de  $PGF2\alpha$  durante el padecimiento de estrés calórico. Niveles elevados de  $PGF2\alpha$  tuvieron un efecto perjudicial en el desarrollo del embrión.

### **3.6.6 Factores relacionados con la nutrición**

El balance nutricional (energía, proteína, vitaminas, minerales y agua) debe ser el adecuado y se mide a través de la condición corporal (CC).

La CC ejerce una influencia marcada sobre las tasas de preñez, pues las mejores tasas se obtienen cuando los valores son intermedios, de 2 a 3 en la escala de 1 a

5 (5 es obeso y 1 es caquéctico) (8). En receptoras de embriones con estas condiciones corporales se reportan tasas de preñez entre 53 y 55%, y son inferiores para las condiciones extremas de 1 y 4 o más (44 y 47% respectivamente).

Estos hallazgos coinciden con los obtenidos por Flores et ál. (10), quienes al evaluar la ciclicidad por medio de radioteleetría en ganado cruzado con Brahman

(1/4 a 3/8 Brahman) de diferentes CC, compararon días abiertos y tasa de presentación de celos postsincronización con implante intravaginal, encontrando unos mejores índices en los animales con CC moderado: 64% de presencia de celos para animales de baja CC contra 82% en animales de CC moderada. Al- Katanani et ál. (11) encontraron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) en las tasas de preñez entre grupos de diferente CC:  $\leq 2,5$  y  $> 2,5$ , para programas de inseminación a tiempo fijo (IATF), y TE, hallando porcentajes de preñez diferentes entre los grupos: 15,6 y 5,5% respectivamente.

Estos resultados fueron obtenidos en ganado lechero y en producción.

Estudios realizados en la universidad de Cornell han demostrado la reducción en la fertilidad cuando se excede con proteína degradable en el rumen. Esto altera el pH uterino, por lo cual se podría modificar la concentración de los iones, afectando de esta manera la ionización de los sustratos energéticos para el embrión, poniendo en peligro su sobrevivencia antes del reconocimiento materno de la preñez. (Duica A.Tovio N. Grajales H, 2007)

El estado nutricional y sanitario de las receptoras ha sido reconocido como factores que afectan significativamente el resultado de preñez en receptoras (Scidel, et al., 1980, citado por Weaver et al. 1986).

### **3.6.7 Factores de manejo y administrativos.**

En las diferentes explotaciones es normal que se presenten diferencias administrativas que alteren los resultados de los programas, como por ejemplo, el tipo y la cantidad de suplementación mineral que se suministra, la disponibilidad de forraje verde en poteros, la

disponibilidad de forraje almacenado tipo silo o heno, el estrés causado por malas prácticas de manejo como golpes en exceso al conducir los animales o en los corrales. Según Thatcher et ál. (7) los factores de manejo que pueden afectar los resultados de un programa de transferencia de embriones son los relacionados con: alimentación, estrés de los animales y condiciones que afecten el bienestar. Stroud y Hasler (8) estudiaron algunos de los factores que en la finca pueden afectar el éxito de un programa de TE; analizaron los programas de inseminación artificial (IA) en vacas, en novillas y programas de TE de cuatro fincas(A, C, D y E), y encontraron diferencias significativas entre ellas ( $p < 0,05$ , Aa, C, C DC y E), aun donde el mismo grupo de técnicos realiza los procedimientos.

Estas diferencias fueron atribuidas a factores de manejo y organización de las explotaciones Se encuentra que existe un efecto del manejo entre las explotaciones, como las relacionadas con la experiencia del equipo de la finca en cuanto a manejo de ganado bovino, además de las dificultades de algunas instalaciones como corrales que causan estrés elevado de manejo.

Los diferentes tipos de administración de las explotaciones pueden o no proporcionar ambientes confortables, por ejemplo, la disponibilidad de sombrero y agua fresca en los potreros. Todos estos factores ejercen una presión decisiva en los resultados que, sumados, son uno solo: el manejo de la finca. Además de los factores ya nombrados, la técnica exige manejo adicional para desarrollar los protocolos de sincronización de celos que idealmente deben tener la menor cantidad posible de entradas al corral para reducir el máximo de estrés causado.

### **3.6.8 Factores genéticos.**

Los embriones pueden ser anormales como resultado de defectos heredados, errores en la meiosis o en la fertilización, por variaciones en el número y estructura cromosómica como es el caso de la poliploidia siendo ésta una de las causas de muerte embrionaria. (Duica A.Tovio N. Grajales H, 2007)

En conclusión, existen numerosos factores que afectan el éxito de la transferencia embrionaria por lo cual es lógico de encontrarse variabilidad en los resultados obtenidos.

**Factores tóxicos.** Se han establecido una serie de sustancias como los fitoestrógenos entre otras, que podrían llegar a ser consumidas por las vacas, lo cual podría causar alteraciones reproductivas que conlleven a mortalidad del embrión. (Duica A.Tovio N. Grajales H, 2007)

**Factores patológicos.** Agentes infecciosos como la *Leptospiraspp*, *Campylobacterfetus* y *Trichomonafetus* pueden causar muerte embrionaria. De igual manera ocurre con el *Haemophilus somnus*, el cual también presenta un alto tropismo por los tejidos del sistema reproductivo generando fallas en la fertilización. De la misma forma agentes de microorganismos como *Mycoplasmas spp.* Y *Ureoplasmas spp.*, están asociados a desórdenes reproductivos. El *Ureoplasma diversumes* genera alteraciones en la fertilidad en los bovinos, igualmente se incluye entre los causantes de mortalidad embrionaria. (Duica A.Tovio N. Grajales H, 2007)

Los virus son quizás los que más problemas acarrear, ya que afectan la viabilidad de los embriones; tal es el caso del virus de la diarrea viral bovina, que penetra la zona pelúcida y causa la degeneración de los embriones. También los virus de la rinotraqueitis infecciosa (*IBR*) y el virus de la lengua azul en los bovinos son agentes causantes de desórdenes reproductivos. (Duica A.T ovio N. Grajales H, 2007)



**Factores inmunológicos.** Aunque existen numerosos estudios que analizan los mecanismos por los cuales la madre tolera la presencia del embrión (*conceptusalogénico*), no se ha profundizado suficientemente en los procesos inherentes al rechazo inmunológico, lo cual causa muerte embrionaria. Sin embargo se sabe que el embrión hereda características del padre ajenos a los de la madre receptora (*Aloingerto*). (Duica A.Tovio N. Grajales H, 2007)

### **3.7 Alternativas utilizadas con el fin de incrementar los porcentajes de preñez.**

Las alternativas utilizadas para incrementar los porcentajes de preñez han sido muy variadas. Una de ellas es el empleo de vesículas trofoblásticas, las cuales se transfieren conjuntamente con el embrión, con la finalidad de contribuir al mantenimiento de la fase lútea en la receptora, y mejorar la intensidad y la calidad de las señales embrionarias. Heyman y col. transfirieron un embrión congelado y dos vesículas trofoblásticas congeladas simultáneamente. A los 45 días de gestación, la tasa de preñez de estas receptoras (73%) fue mayor que la del grupo control (43%). (Cutini A. Teruel M. Cabodevila J., 2000)

Las diferencias entre ambos grupos dejaron de ser significativas al día 90, siendo de 57% y 40%, respectivamente. En el primer grupo, las pérdidas se produjeron principalmente entre los días 45 y 60 de gestación, en cambio en el grupo control ocurrieron entre los días 21 y 45. (Cutini A. Teruel M. Cabodevila J., 2000)

Por otra parte se ha intentado modificar el estado fisiológico del útero por medio de una terapia suplementaria con progesterona. Crhistie y col, emplearon 100 mg de progesterona entre los días 13 y 35 del ciclo de receptoras que habían recibido un embrión en el día 7, sin encontrar efecto alguno sobre el porcentaje de preñez. (Cutini A. Teruel M. Cabodevila J., 2000)

También se ha empleado en receptoras luego de ser transferidas, gonadotrofina coriónica humana (HCG) por su efecto luteotrófico. Se llevaron a cabo distintos estudios donde las dosis empleadas variaron entre 1000 y 5000 UI, administradas en un solo momento o en un período comprendido entre el día 7 (momento de la transferencia) y el día 35. En estos estudios no se lograron mejorar los porcentajes de preñez. (Cutini A. Teruel M. Cabodevila J., 2000)

Con la misma finalidad se ha empleado la hormona liberadora de gonadotrofinas (GnRH) o alguno de sus análogos. Ellington y col, administraron 8 mg de buserelina al momento de la transferencia o entre los días 4 y 7 pos transferencia. Los porcentajes de preñez logrados 72% y 66%, respectivamente no difirieron del grupo control, 68%. (Cutini A. Teruel M. Cabodevila J., 2000)

Ellington y col. (1992) evaluaron el efecto de la Buserelina, un análogo sintético de la hormona liberadora de gonadotrofinas (GnRH). Los autores no encontraron un efecto luteotrófico de la hormona que mejorara la tasa de preñez del grupo tratado frente al control. (Cabodevila J, 2008).

#### **4. Discusión**

La realidad de la transferencia de embriones en el país demuestra que aún son demasiados los esfuerzos que deben realizarse para que alcance una cobertura que haga significativo su aporte al progreso productivo de la ganadería nacional. Los esfuerzos, exceptuando algunas instituciones, son aislados, carecen de proyecciones de impacto y generalmente son poco constantes.

La planeación es necesaria para salvaguardar los recursos económicos que se invierten en este tipo de biotecnología, en la búsqueda de lograr resultados viables respecto a su rentabilidad. Por tal motivo se hace énfasis en que es necesario, antes de comenzar a implementar un programa de transferencia de embriones, que las condiciones logísticas estén dadas, donde la preexistencia de un programa de inseminación artificial es demasiado beneficiosa porque abona el camino para establecer la TE. Además es prerequisite el buen funcionamiento de los esquemas de sanidad, nutrición, alimentación y manejo, pues de lo contrario introducir este tipo de tecnologías puede complicar el panorama, antes de favorecer la eficiencia productiva y reproductiva.

Los objetivos de avance genético son una condición intrínseca a la transferencia de un embrión, de manera que, tal como el semen debe estar acompañado de información que demuestre y garantice hasta cierta medida su aporte al progreso genético, los embriones deben cumplir la misma condición. Esto debe permitir a un profesional hacer proyecciones de la conveniencia de utilizar determinados embriones en una ganadería donde se constituirán en parte de una base genética, pues no es conveniente fijar solo la atención en la técnica, olvidando el impacto de la genética introducida. Es importante esta consideración ya que cuando se introducen embriones hacia una ganadería, ya sean de origen nacional o internacional, o producidos en el mismo hato, es fundamental ser conscientes que la genética introducida debe ser acorde con los

parámetros y programas de mejoramiento, con el establecimiento o formación de razas, y con los objetivos de heterosis, consanguinidad y selección que se posean.

Las vacas donantes deben tener un mínimo de 50 días posparto, estar ciclando normalmente, y estar en un plano de nutrición adecuado, sin tener deficiencias nutricionales específicas. Algunos recomiendan el uso de minerales traza como suplementos antes de la superovulación, y aunque aparentemente no hay datos científicos, el uso de minerales quelados es recomendable para mejorar la respuesta superovulatoria y la producción de embriones. Las donantes no deberían tener historia o evidencia física de infertilidad. Además, es importante resaltar que vacas (o hijas de vacas) con historia de superovulaciones exitosas o partos gemelares, tienen mayor posibilidad de responder bien al tratamiento.

Las novillas requieren de dosis menores de FSH mientras que las vacas lactando o más viejas requieren normalmente dosis mayores de FSH. Si la respuesta superovulatoria es pobre, entonces puede ser necesario aumentar la dosis de FSH en el siguiente programa.

Si la calidad embrionaria es mala en presencia de una respuesta superovulatoria alta, la dosis de FSH debería ser reducida en el próximo programa. La administración de FSH tiene que ser intramuscular profunda, se deben evitar las inyecciones subcutáneas, a menos que se pretenda administrar una sola inyección para disminuir las situaciones de estrés.

En cuanto a las receptoras, la nutrición y el intervalo posparto son los dos factores de manejo que determinaran el éxito de un programa de transferencia de embriones. La condición corporal al momento de la transferencia es también sumamente importante.

La transferencia de embriones en receptoras muy flacas u obesas resultará en bajos porcentajes de preñez.

La preñez de las receptoras no depende de ninguna de las variables en forma independiente. Sin embargo, la calidad del embrión y el diámetro del cuerpo lúteo se destacan sobre las otras variables.

El balance energético tiene gran importancia sobre la reanudación del ciclo ovárico postparto en vacas lecheras de alta producción y en vacas de carne. El balance energético se define como la diferencia entre el consumo de energía de un animal y la energía requerida para el mantenimiento y la secreción de leche. Las vacas lecheras desarrollan un balance energético negativo (BEN) durante la lactancia temprana debido a que la máxima producción se alcanza antes del desarrollo de la máxima capacidad de consumo. El pico de producción se alcanza varias semanas antes que el pico de consumo y como resultado se produce un BEN que persiste durante 4 a 12 semanas. Esta situación induce una respuesta compensatoria reconocida como homeorresis, la cual induce un incremento de la lipólisis, glucogénesis, gluconeogénesis y movilización ósea de minerales. Cerca de 50 días postparto las vacas adquieren la máxima capacidad de consumo de alimento, tienden a incrementar el consumo de energía y entran en un balance energético positivo el cual es muy necesario para un programa de TE.

Dentro de los factores embrionarios se debe tomar en cuenta la calidad embrionaria ya se de embriones frescos o criopreservados ya que estos influye directamente en los resultados. La criopreservación y micromanipulación afecta la viabilidad de los embriones.

En la selección de las hembras donadoras se debe tomar en cuenta el estado del ovario en el momento del tratamiento, la edad, estado nutricional, la historia reproductiva, raza y la dosis de gonadotropina empleada, ya que estos son los factores que pueden influir en la superovulación en hembras bovinas.

Para los autores es de suma importancia la realización de estudios de TE dirigidos a razas cebuinas, donde se busque estudiar cada uno de estos factores limitantes para determinar en la práctica el impacto real sobre las tasas de preñez y, de esta manera, concentrar los esfuerzos de control de calidad sobre algunas variables, de acuerdo con la prioridad determinada por los futuros estudios.

Otros propósitos de la TE son: facilitar la importación y exportación de material genético, permitir el probar toros genéticamente para características deseables o indeseables, producir nacimientos gemelares, permitir el almacenamiento a largo plazo de material genético por congelación de embriones, facilitar el control de enfermedades no transmisibles por TE, y favorecer el rápido cambio genético con una población pequeña.

La investigación en TE en Colombia es escasa según lo revisado, se realizan muchos trabajos que hacen reportes someros de resultados, y es difícil establecer la validez estadística de algunos reportes.

Cabe destacar el esfuerzo de algunas instituciones por realizar investigaciones en este sentido, principalmente al nivel de universidades públicas, sin embargo es necesaria la extrapolación y aplicación de los hallazgos logrados, a la práctica de campo de la TE.

Los costos del servicio de TE, dificultan el acceso para la mayoría de ganaderías, de manera que en lo posible sería beneficioso para el mercado el establecimiento de nuevas empresas y de mayor cobertura, para que con una mayor competencia y una masificación del proceso puedan ofrecerse alternativas más económicas. Las capacitaciones en TE son casi exclusivas de las empresas privadas que comercializan la técnica, y los costos de las mismas dificultan el acceso a muchos profesionales, por lo cual sería pertinente una mayor participación

de entidades públicas para la búsqueda de lograr dimensiones suficientes de diseminación de la TE por las ganaderías del país.

Se requiere evaluar como el crecimiento de la aplicación de la TE en los procesos reproductivos, está cobrando impacto, inicialmente al nivel de las granjas y posteriormente a mayor escala, pues solo estimando el progreso genético y la rentabilidad como verdaderos aportes, será factible pensar en el direccionamiento correcto de este procedimiento. Además esto es necesario para estimar, evaluar y dirigir las proporciones de la TE colombiana en un ámbito internacional.

La transferencia de embriones bovinos en Colombia, aún se encuentra en sus estadios iniciales de difusión a las zonas dedicadas a la ganadería. Por consiguiente, son necesarios esfuerzos gubernamentales y privados de asistencia técnica e inversión económica en las regiones, que impulsen la difusión de esta biotecnología que puede representar una fuente fundamental de desarrollo productivo para el sector agropecuario colombiano.

## **5. Conclusiones.**

El principal uso de la TE en bovinos ha sido el ampliar las tasas reproductivas de hembras valiosas. Un bovino puede ser valioso por muchas razones, incluyendo escasez, valor genético productivo probado o por poseer características únicas como la resistencia a enfermedades. La TE es usada entonces para satisfacer simultáneamente tanto objetivos genéticos como financieros, es posible incrementar hasta 10 veces o más las tasas reproductivas de las vacas en un año, y hasta en cinco veces durante su tiempo de vida, con las técnicas actuales de TE.

Al evaluar entre vacas y novillas, no se encontró diferencia en el promedio de los embriones recuperados por donadora, sin embargo se observó cierta superioridad de las novillas en el promedio de embriones transferibles, sin que esta diferencia sea significativa.

La TE ayuda a reproducir una mayor cantidad de animales de buena genética en un menor tiempo.

Se concluye que el porcentaje de preñez en las hembras receptoras en un programa de transferencia de embriones se han incrementado de manera significativa en los últimos años, sin embargo se debe tomar en cuenta varios factores relacionados al embrión, selección de las hembras donadoras-receptoras y la aplicación de la técnica.

En esta revisión se encontró que son muy variados los factores que pueden afectar las tasas de preñez en programas de TE, también se encontró que existe poca documentación sobre trabajos realizados en ganado cebuino al respecto, y casi nula la información recopilada en zonas tropicales.

La transferencia de embriones es ahora usada comúnmente para producir toros para inseminación artificial a partir de vacas y toros altamente probados genéticamente.



Por medio de la superovulación y la transferencia de embriones, es posible obtener progenie desde vacas valiosas genéticamente que sean infértiles por trauma, enfermedad, o por edad, aunque las tasas de éxito son solo cercanas a un tercio de las adquiridas con vacas saludables y fértiles. Las vacas y novillas con causas genéticas de subfertilidad no deben ser propagadas por estos medios.

Los problemas de eficiencia reproductiva en la ganadería colombiana, tal vez difícilmente puedan ser superados mediante la TE, más aun considerando la alta variabilidad de la técnica, dada por el alto costo de la producción de embriones y los problemas asociados con la misma.

La tasa de preñez sigue siendo un evento regulado de manera multifactorial y ninguno de los parámetros evaluados individualmente son responsables del éxito reproductivo.

## **6. Recomendaciones.**

En la selección de las hembras receptoras se debe evitar uso de animales que presenten problemas para lo cual se debe realizar una vista previa al comenzar el proceso de transferencia de embriones además se debe tomar en cuenta el manejo sanitario, estado nutricional, edad, raza. Al momento de realizar la transferencia se debe tomar en cuenta el sincronismo o el asincronismo  $\pm 24$  hs.

La transferencia de embriones debe ser realizado en lo posible por un operario con experiencia ya que la manipulación del tracto genital y la facilidad con que se realice la transferencia condiciona el éxito del programa.

Los protocolos de superovulación deben desarrollarse estrictamente según se establezcan y no deben ser modificados en ninguna de las actividades que pertenezcan al proceso dado que cualquier alteración podría ocasionar bajos resultados que pueden conllevar al fracaso en la práctica de la biotecnología de transferencia embrionaria.

Se deben evitar al máximo las fuentes generadoras de estrés durante procesos de superovulación ya que estimulan la producción de hormonas y sustancias inhibitoras de la acción ejercida por los medicamentos utilizados en los tratamientos.

Es importante hacer énfasis en nuevas técnicas para mejorar los índices de preñez de las hembras receptoras, por lo cual se hace importante realizar investigaciones donde se compare la aplicación o no de dichos macrominerales pero realizando el proceso en ambos grupos al mismo tiempo teniendo un grupo control y un grupo tratamiento.

Realizar la aplicación de los macrominerales vía parenteral y dar un tiempo de espera para empezar el protocolo de sincronización que no sea mayor a 15 días.

Es decir que entre la primera aplicación de los macrominerales y el día de la implantación del embrión, no se presente una diferencia mayor a los 30 días, con el objetivo de mejorar el índice de preñez de las hembras receptoras.

La disminución del riesgo de comprometer la sanidad de los hatos nacionales, hace de la TE el método de selección para la importación de pie de cría, ya que pocos organismos infecciosos son diseminados por los procedimientos de TE, además tales procedimientos no resultan en un aumento de las tasas de incidencia de abortos o anomalías.

Respecto al control de enfermedades de transmisión sexual en el ganado, no está de más aclarar que con la transferencia de embriones se obvia el contacto directo entre reproductores y por lo tanto se evita el contagio por esta vía, más sin embargo los mismos embriones pueden ser fuente de algunas enfermedades infectocontagiosas o según su componente genético, favorecer el desarrollo de desórdenes congénitos en las crías resultantes. Por tal motivo es importante el control por entidades gubernamentales de los factores sanitarios asociados a los embriones u otro material genético en importación. También es posible lavar, tratar y examinar físicamente los embriones individuales, para lograr protección adicional.

La inversión de recursos económicos y técnicos, y la superación de las dificultades propias del proceso, solo pueden ser alcanzados si los embriones producidos garantizan de algún modo el progreso genético de las ganaderías, para el desarrollo conjunto de la base genética nacional. Una combinación de la TE, usando vacas altamente probadas, inseminadas con semen de toros altamente probados, y una industria amplia de inseminación artificial, pueden aparecer como el uso más factible de la TE en un futuro cercano.

### Referencias bibliográficas

- Aguilar, M., Gallina, C. (2002). Comparison of stereoscopy, light microscopy and ultrastructural methods for evaluation of bovine embryos. *Reprod. Dom. Animal.*, 237, 1-6.
- Al- Katanani , Y .; López , F .; Hansen , P. (2002) "Efecto de temporada y la exposición al estrés térmico en los ovocitos competencia en vacas Holstein " .*Dairy Journal Ciencia* 85..
- Anomalías King, W. (1990). "Cromosomas sexuales con el embarazo el fracaso en los animales domésticos". *Avance Veterinaria Ciencia Compendio* 34.
- Araujo , M .; Vale , V .; Ferreira , A .; Sá , W .; Barreto , J., Filho , L. " 2005 Secreção De embriões em interferón – tau Bovinos produzidos in vitro frescos e Congelados .
- Arresejor A Barati, F., Niasari-Naslaji, A., Bolourchi, M., Razavi, K., Naghzali, E. y Sarhaddi, F. (2006). Pregnancy rates of frozen embryos recovered during winter and summer in Sistani cows. *Iranian Journal of Veterinary Research, University of Shiraz, Vol. 8, N° 2, Ser. N° 19.*
- Barnea, E. (2000) "Señalización materna embriones antes de la implantación " .Libro de texto de obstetricia ginecología Munteanu . Argentina: SIEP.
- Barreto, A. (2002). "El efecto del dispositivo CIDR progestágeno en las tasas de embarazo en la transferencia de embriones bovinos receptores " .*Theriogenology*57.
- Baruselli , P .; De Oliveira , M. (2003). " Ultimos Avances en superovulación de Donantes de Razas cebuinas " .IV Seminario de Reproducción de Grandes animales . CGR. Bogotá. Colombia. Septiembre de 2003.
- Baruselli , P .; Martins , C .; Reis , E .; Nasser , L .; Bo , G. (2005). "Nuevos Avances en los Tratamiento de superovulación en Donantes de embriones " . Congreso en internacional de Reproducción Bovina. INTERVET .Bogotá. Colombia. Septiembre de 2005.
- Baruselli , P. (2001). " El aumento de las tasas de embarazo en embriones receptores tratados un poco con dispositivos CIDR - B " .*Therio genology* 55.
- Baxter , S .; Ward, W. ( 1997 ) " La incidencia de pérdida fetal en los productos lácteos ganado después del diagnóstico de embarazo utilizando un ultra escáner de sonido " .*Veterinary Record* 140: 287-288 .
- Bazer , F .; Spencer , T .; Ott , T. (1997). " interferón Tau : Un novela señal de reconocimiento del embarazo " .*Americana Diario Reproducción Inmunología* 37.
- Bergfelt , D .; Bo , G .; Mapletoft , R .; Adams , G. (1994).  
" Superovulatory siguiente respuesta inducida por ablación folicular emergencia de la onda en el ganado " .*Theriogenología* 36.
- Bó , G .; Baruselli , P .; Moreno , D .; Cuaita , L .; Caccia , M .; Tribulo , R .; Mapletoft , R. (2002): " El control de desarrollo onda folicular para auto- nombrado Los programas de transferencia de embriones en el ganado " . *Theriogenología* 57. 53-72.
- Bó , G .; Berfegfet , D .; Brogliatti , G .; Pierson , R .; Mapletoft , R. ( 1996 ) " Vs. Sistémico efecto local de exógena estradiol en el desarrollo folicular en novillas " .*Theriogenology* 45: 333 .
- Bó , G .; Hockley , D .; Nasser , L .; Mapletoft , (1994.) R. Superovulatory respuesta a una única inyección subcutánea inyección de un extracto de pituitaria porcina en la carne de vacuno ganado. *Theriogenology* 42. 963-975.

- Bó, G. ; Moreno, D. ; Cuaita, L. ; Caccia, M. (2003). "factores Que afectan los Porcentajes de preñez en los programas de Transferencia de embriones ". IV Seminario internacional de Reproducción de Grandes animals. CGR. Bogotá Colombia. Septiembre de 2003.
- Bó, G. " (2000). Manipulación de la Dinámica folicular en Ganado bovino: Su Aplicación en Programas de Transferencia de embriones". II Simposio internacional de Reproducción animal. Argentina.
- Bó, G.A., (2008). Curso de Post grado en Reproducción Animal. Instituto de Reproducción Animal (IRAC). Córdoba.
- Bó, G.A., Moreno, D., Cutaia, L., Caccia, M., Tríbulo, R.J., Tríbulo, H.E. (2006). Transferencia de embriones a tiempo fijo: tratamientos y factores que afectan los índices de preñez. Educación Continua. UNCPBA
- BÓ1, Gabriel A. Carballo Guerrero, Daniel y Mapletoft Reuben J. (2008). Nuevas alternativas para la superovulación de donantes de embriones; Instituto de Reproducción Animal Córdoba (TRAC), J.L. de Cabrera 106, X5000GVD).
- Bungarts, L. ; Niemann, H. (1994). "Evaluación de precence de un folículo dominante y la selección de una lechería vacas adecuados para superovulación por un solo ecografía examen ". Diario Reproducción Fertilidad 47.
- Burges, K. ; Kalph, M. ; Jenkin, G. ; Thorburn, G. (1990). "Efecto de la oxitocina y estradiol sobre uterina la liberación de prostaglandinas en mujeres no embarazadas y temprana ovejas preñadas ". Biología de la Reproducción 42.) .
- Cutini, A., Teruel, M., Cabodevila, J. (2000). Factores que determinan el resultado de la transferencia no quirúrgica de embriones bovinos. Revista Taurus N°7, 28-39 y N°8, 35-47.
- Diskin, M. ; Sreenan, J. (1980). " La fecundación y el embrión papeles de mortalidad nic en el ganado vacuno Después artificial inseminación ". Diario Reproducción Fertilidad 59. 463-468
- Duica, A., Tovio, N., Grajales H. (2007). Factores que afectan la eficiencia reproductiva de la hembra receptora en un programa de transplante de embriones bovinos. Revista de Medicina Veterinaria, julio-diciembre, numero 014. Universidad de La Salle, Bogota, Colombia. Pp 107-124
- Elrod, C. ; Butler, W. (1993 ) " La reducción de la fecundidad y la alteración de pH uterino en animales que recibían el exceso ruminally proteína degradable ".Diario Ciencia Animal 71..
- Garrett, J. ; Geisert, R. ; Savy, M. ; Morgan, G. (1988). " Evidencia para la regulación de la madre de embrión tempran el crecimiento y el desarrollo en el ganado vacuno ".Diario Fertilidad reproductiva 84.
- Gasque Gómez, Ramón (2008) Factores que afectan la superovulación en bovino Facundo Becaluba mv. Esp. 2007 Enciclopedia Bovina
- Gómez, C. " (2005).Transferencia de embriones experiencias en Colombia". Memorias, entre congreso Nacional de Reproducción Bovina. INTERVET Bogotá. Colombia. Septiembre de 2005.
- Gonzales - Stagnaro, (1999). Reproducción bovina. Venezuela: Fundación Girarz, 2001. Gordon, I.
- Gorlach, A. Transferencia de embriones en el ganado vacuno. España: Acribia,

- Grasso , F .; Guilbault , L .; Roy , G .; Lusier , J . (1989). "Ultra determinación ecográfica de los folículos ováricos desarrollo en novillas superovuladas pretratado con la FSH -P al inicio del ciclo estral ". *Theriogenology* 31. 1209-1220.
- Hafez E. (2000) Reproducción e inseminación de los animales domesticos. 7ª edi. Reproductive Health Center FIV / Andrología Internacional. Isla Kiawah, Carolina del Sur, EE.UU.: McGraw - Colina Interamericana.: 33-144.
- Hamilton , W .; Kaing , J. (1986) "El desarrollo de huevo de la vaca hasta la etapa de formación de blastocisto " .*jour Anatomía* nal 80..
- Hansen , T .; Austin , K .; Perry , D .; Pru , J .; Teixeira , M. Johnson , G. (1999) " Mecanismo de acción del interferón tau en el útero durante el embarazo temprano " . *journal Reproducción Fertilidad* 54..
- Hasler , J .; McCualey , A .; Schermerhorn , E .; Foote , H. (1993) "Respuestas superovulación en vacas Holstein " . *Theriogenology* 19.): 83-99 .
- Hasler , J . , (2001) "Factores que afectan embrión congelado y fresco transferir las tasas de embarazo en el ganado " . *Theriogenología* 56.: 1401-1415 .
- Hechizo, A. Beal , W ; Coré , L ; Cordero , G (2001) "Evaluación de factores re incipiente embrión y que afectan el embarazo tasas de transferencia de embriones en bovinos de carne " . *Theriogenología* 56.: 287-297 .
- Hernández , A .; Escobar , F. Vásquez . (2003) Mortalidad Membrionaria en Bovinos. Documento conceptual.
- Huertas , que .; Huertas , (1991). V. Práctico y Manual Moderno de inseminación artificial. Transferencia de embriones. Reproducir LTDA. Jiménez, C. " Congreso Internacional de reproducción bovina. Enfermedades transmisibles Por La Técnica de Transferencia de embriones". INTERVET. Bogotá. Colombia. Septiembre de 2005.
- Jared McNaughtan (2004). The effect of prostaglandin inhibitor on pregnancy rates of heifer embryo transfer recipients. Tesis de Master en Ciencias del Departamento de ciencias en plantas y animals. Brigham Young University 30
- Kawarsky , S .; Basrur , P .; Stubbings , R .; Hensen , P .; King , W. (1996) " Anomalías cromosómicas en bovinos embriones y su influencia en el desarrollo " . *Biolgy Reproducción* 54.
- Lequarré , A .; Vigneron , C .; Ribaucour , F .; Holm , P .; Donay , me .; Dalbies , R .; Callesen , H .; Mermillod , P. . (2005 ) " Influencia del tamaño de folículos antrales en carac ovocito características y el desarrollo del embrión en el bovino " . *Theriogenology* 63: 841-859 .
- Lozano R. Aspron Mapletoft, R. (2006). "Transferencia de embriones bovinos" *IVIS Reviews in Veterinary Medicine*, I.V.I.S. (Ed). International Veterinary Information Service, Ithaca NY. Disponible en URL [www.ivis.org](http://www.ivis.org), Última actualización 17-noviembre-2006.
- Martal , J .; Chêne , N .; Camous , S .; Huynh , L .; Lantier , F .; Hermier , P .; Haridon , P .; Charpigny , G .; Charlier , M .; Chaouat , G. (1997) " La evolución reciente y potencialidades para la reducción de la mortalidad embrionaria en rumiantes : el papel de IFN- y otra citokines en el embarazo temprano " *Reproducción Fertilidad* 247..
- Merton, JS. A.P.W. de Roos, E. Mullaart, Ruigh L., Kaal L., P.L.A.M. Vos and S.J. Dieleman, (2003). Factors affecting oocyte quality and quantity in comercial applications of embryo technologies in the cattle breeding industry. *Theriogenology*, 59, 651-674.
- Mollo, A., Lora, M., Faustini, M., Romagnoli, S., Cairolì, F. (2007). Some factors affecting embryo transfer success in dairy cows. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 6, 496-499.

- Nigro, M.; Burri, E.; Bo, G. (1996). "Respuestas superovulatorias utilizando el Tratamiento de CIDR - B y estradiol -17  $\beta$  en Programas Comerciales de transferencia de embriones". II Simposio internacional de Reproducción animal, Argentina
- Nigro, M.; Burri, E.; Villata, M.; Bó, G. (2002) "Efecto de los diferentes tratamientos de estrógeno y progestágeno en respuesta a la superovulación en carne y leche ganado". *Theriogenology* 57.
- Oliphant, G.; Reynolds, S.; Smith, P.; Marta, J. (1984) "Localización inmunocitoquímica y detección de la hormona, inducida Síntesis del sulfato glicoproteínas oviductal". *Biología de la Reproducción* 31.
- Palma, G. (2001) *Biotecnología de la Reproducción*. Balcaré. Argentina: INTA.
- Palma, Gustavo A. (2001) *Biotecnología De La Reproducción Burns-Biotec*, Oakland, CA 2 Folltropin®, Vetrepharm, Ontario NR: no registrado.
- Peres, L.C., Pincinato, D., Cutaia, L., Bó, G.A. (2006). Simplificación de los programas de Transferencia de Embriones a Tiempo Fijo en Rodeos Comerciales. Jornadas de Actualización en Biotecnologías de la Reproducción en Bovinos-IRAC.
- Robinson, J.; Sinclair, K.; McEvoy, T. (1999) "Nutricionales efectos sobre el crecimiento fetal". *Animal Science Journal* 68.
- Rodríguez, J. (2001) *Mecanismos Para El Reconocimiento materno de la preñez en la vaca*. Venezuela: Diversión dación Girarz.
- Rodríguez, J.M., Giraldo, C., Castañeda, S., Ruiz, T., Olivera, M. (2007). Análisis multifactorial de las tasas de preñez en programas de transferencia de embriones en Colombia. *Rev. MVZ Córdoba* 12 (2), 978-984.
- Ross, S.; McCaffery, P.; Drager, U.; De Luca, L. (2000) "Desarrollo Embryonal". *Physiological Reviews* 80 (3): 1021-1054.
- Schallenberger, E.; Ulrich, P.; Mostl, E.; Fuchs, S.; Tanhumberg, H. (1994) "La inducción de la superovulación en el ganado que comparan única inyección subcutánea y epidural repetido con intramuscular estándar administración de FSH". *Theriogenology* 41 (3): 290.
- Spencer, T.; Burghardt, R.; Johnson, G.; Bazer, F. (2004) "Señales de Conceptus para el establecimiento y principal mantenimiento del embarazo". *Reproducción Animal Ciencia* 82: 537-550.
- Stingfellow, D. (2000). *Manual de la Sociedad Internacional de Transferencia de Embriones (I.E.T.S.)*. Illinois U.S.A:
- Thatcher, W.; Staples, C.; Danet, G.; Oldick, B.; Schmitón, P. (1994) "La salud y la mortalidad de embriones en ovejas y el ganado". *Diario Ciencia Animal* 72.
- Tribulo, H. (2002) *Curso de post- Grado en Reproducción bovina. Módulo IV. Transferencia de embriones*. CGR. Biotecnología Reproductiva. Bogotá. Colombia. Febrero de 2002.
- Vanroose, G.; Kruif, A.; Van Soom, A.; (2000) "Embrionaria mortalidad y las interacciones patógeno - embrión". *Reproducción Animal Ciencia* 60: 131-143.
- Vasconcelos, J.; Sartori, R.; Oliveira, H.; Guenther, J.; Wilbank, M. (2001) La reducción es el tamaño de la ovulación reduce el tamaño del folículo lútea posterior y preñez de 11 lancy. *Theriogenology* 56: 307-314.
- Villarreal, J., García Guerra, A., Brogliatti, G.M. (2009). Relación entre diferentes categorías de receptoras de embriones bovinos y la tasa de preñez: una experiencia en la provincia de Chubut. VIII Simposio Internacional de Reproducción Animal-IRAC
- Weaver, L.D., Galland, J., Sosnik, U., Cowen, P. (1986). Factors affecting embryo transfer success in recipient heifers under field conditions. *Dairy Sci* 69, 2711-2717

Zanenga , C .; Márquez , M .; Santos , que .; Valentin , R .; Baruselli , P. (2003). Comparacao Entre dois Protocolos de superovulacao com inseminacao artificial em tempo fixo em Vacas Nelore . XVII Reunión Anual de la Sociedad Brasileira de Tecnología de Embriones. S. Paulo. Brasil.



**Anexos.**

Figura 1. Tasa de preñez de acuerdo al desarrollo del embrión transferido.

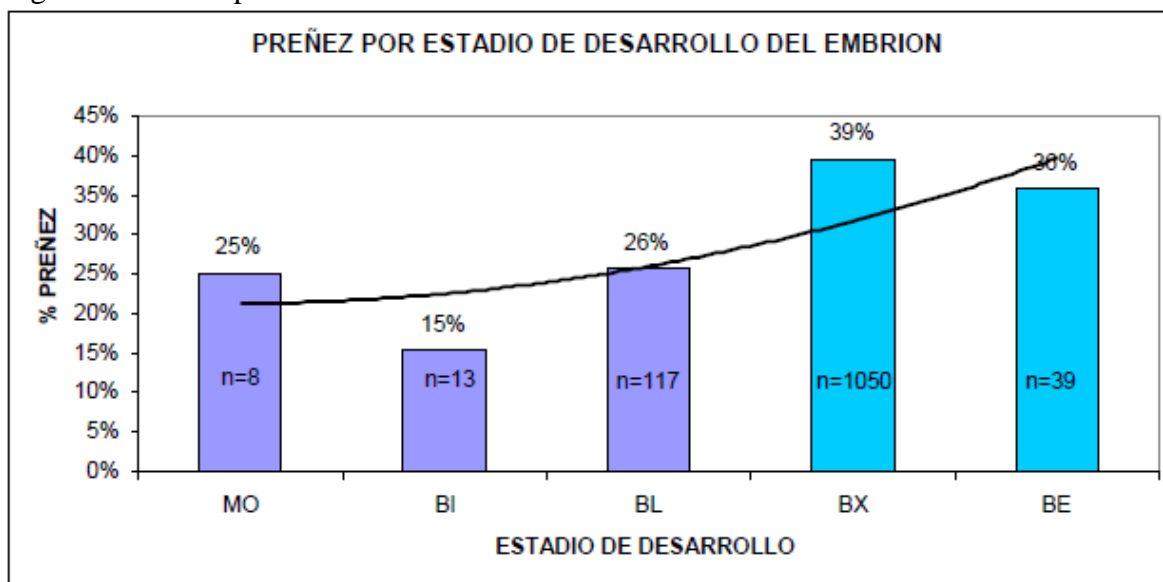


Figura 2. Porcentaje de preñez de acuerdo a la cantidad de transferencias consecutivas a una misma receptora antes que quedar preñada.

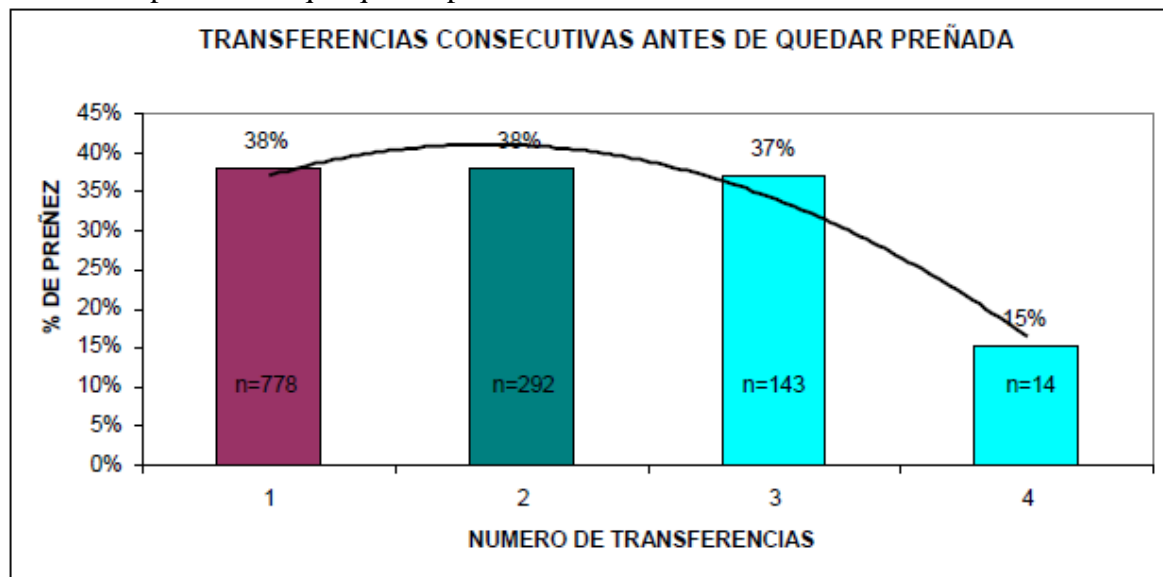


Figura 3. Tasa de preñez, por grupos de 10 embriones transferidos consecutivamente por el mismo técnico.

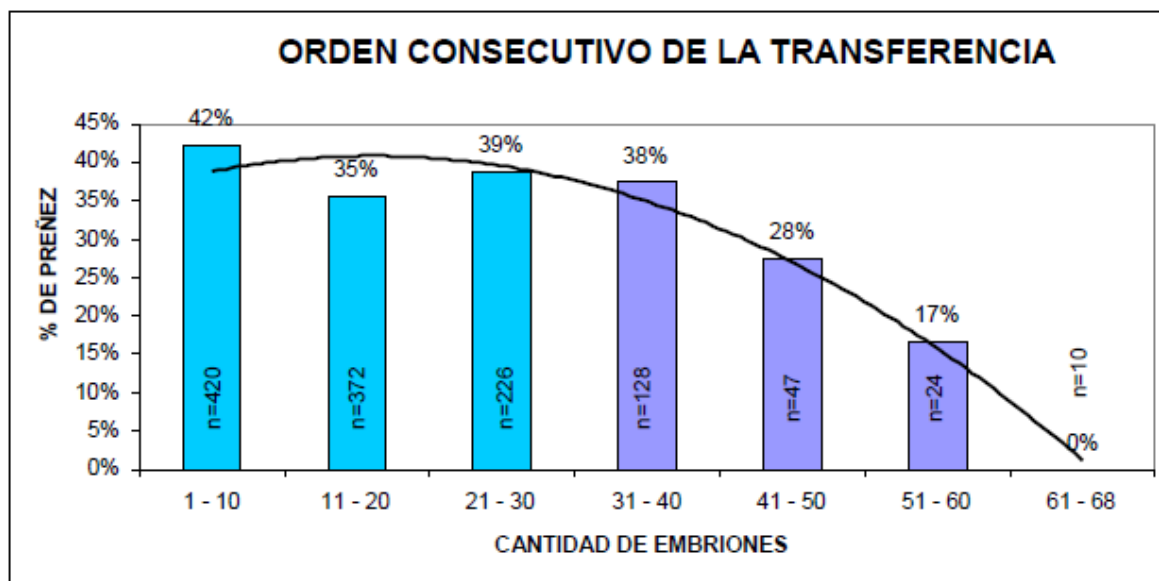
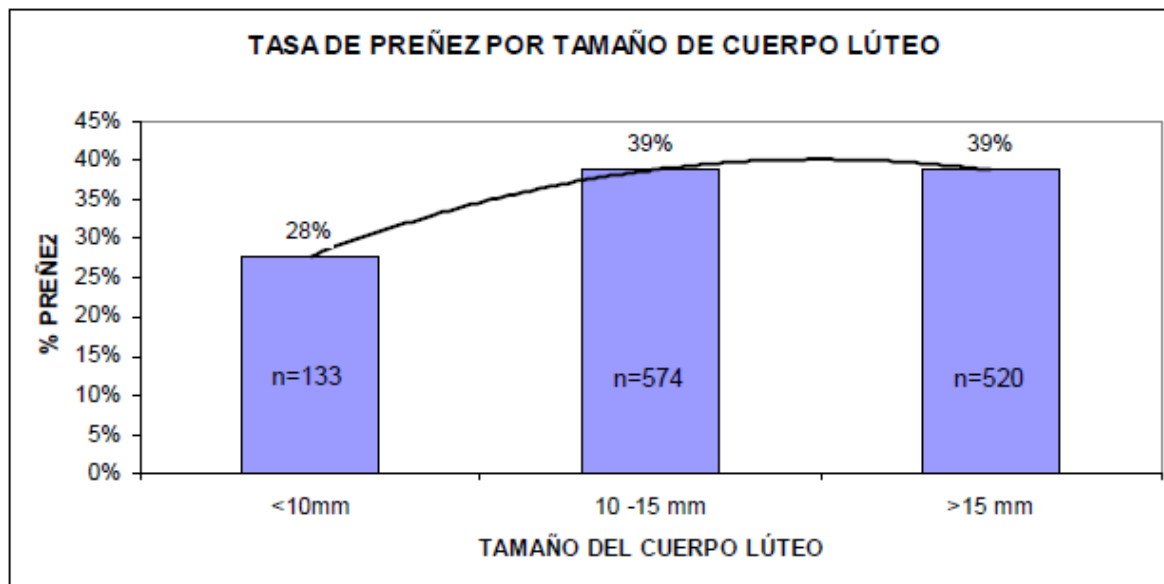


Figura 4. Porcentaje de preñez por tamaño de cuerpo lúteo, al momento de la transferencia del embrión.



El modelo no detectó asociación ( $p > 0,05$  IC 95%). entre la tasa de preñez y la variable.