

**EFFECTO DEL ESTADO DE DESARROLLO EN LA TASA DE PREÑEZ DESPUES DE
TRANSFERIR EMBRIONES BOVINOS PRODUCIDOS IN VIVO**

Effects of developmental stage on pregnancy rate after transfer of in vivo
produced bovine embryos

Nilton L. Murga^{1,2}, Jenin V. Cortez^{1,2}, Héctor Vásquez², Hugo Frias², Karina M. Urupeque³

<http://dx.doi.org/10.18548/aspe/0002.12>

¹ *Laboratorio de Biotecnología
Animal, Reproducción y
Mejoramiento Genético,
Facultad de Ingeniería
Zootecnista, Agronegocios y
Biotecnología,*

² *Instituto de Investigación en
Ganadería y Biotecnología*

³ *Universidad Nacional Toribio
Rodríguez de Mendoza,
Chachapoyas-Amazonas, Perú*

E-mail:
nmurga.fizab@untrm.edu.pe

RESUMEN

Los porcentajes de preñez que se obtienen luego de la transferencia no quirúrgica de embriones se han incrementado de manera significativa en las últimas décadas. El objetivo de la investigación es determinar el efecto del estadio embrionario bovino en la tasa de gestación en receptoras cruzadas. Para ello se realizaron 121 transferencias de las cuales se clasificaron en blastocitos (n = 35) y mórulas (n = 86). Nuestros resultados indican que si existe diferencia estadística al transferir blastocitos (68%) y mórulas (48%), se encontró que al transferir embriones en estadio de blastocisto en receptoras cruzadas se obtiene mayores tasas de gestación.

Palabras clave: Mórula, blastocisto, transferencia de embriones, tasa de preñez

ABSTRACT

Pregnancy rates that are obtained after non-surgical embryo transfer have increased significantly in recent decades. The objective of the research is to determine the effect of bovine embryonic stage in the pregnancy rate in cross-receptor. To this 121 transfers which were classified into blastocysts (n = 35) and morulae (n = 86) were performed. Our results indicate that if there is statistical when transferring blastocysts (68%) and morulae (48%) difference was found that by transferring blastocyst stage embryos in cross-receptor higher pregnancy rates obtained.

Keywords: *Morula, blastocyst, embryo transfer, pregnancy rate*

INTRODUCCION.

Transferencia de embriones en bovino se ha aplicado ampliamente en todo el mundo. Las receptoras juegan un papel importante en el éxito de los programas de transferencia de embriones. Sin embargo, el alto costo del mantenimiento de las receptoras y la baja eficiencia de los programas tradicionales, basados en PGF para sincronizar el estro en los receptores, limitan la aplicación generalizada y el éxito de esta tecnología (Bó *et al.*, 2002). Estudios recientes han demostrado que es posible manipular con precisión la dinámica folicular y lútea, elimina la necesidad de la detección de celo para la IA (Bó *et al.*, 2002, Martínez *et al.*, 2002) y para la transferencia de embriones (Tribulo *et al.*, 2000; Bó *et al.*, 2001). 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 (Hasler *et al.*, 1987).

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 cruzadas antes que a las puras, posiblemente porque las primeras sean más fértiles. Según la opinión del autor, 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.

Por otra parte, prefieren animales de origen lechero, particularmente si se trata de vaquillonas o vacas jóvenes, antes que animales para carne con cría al pie. Argumentan su elección en que dichos animales son más dóciles y probablemente más fértiles. Además, generalmente ofrecen menos dificultades para llevar a cabo la transferencia (Broadbent *et al.*, 1991).

MATERIALES Y MÉTODOS

Evaluación y selección de receptoras

Se evaluó visualmente y con entrevista al ganadero las condiciones sanitarias óptimas, edad (2-10 años), número de partos (0-8 partos) y condición corporal (2.5 a 4), y luego contrastar con ecografía para descartar preñez y anomalías; al mismo tiempo, se clasificaron según los cruces.

Sincronización de celo de receptoras

Las receptoras son sometidas a un protocolo de sincronización de estro, donde el día cero se aplica progesterona 1.38 gr (CIDR®, Pfizer) más benzoato de estradiol 2 mg (Estovet®, Montana); día cinco se aplica prostaglandina F2a como luteolítico 25 mg (Lutalyse®, Pfizer) más 400 UI de EcG (Folligon®, Intervet); día ocho se retira la progesterona, el día nueve se aplica 1 mg de benzoato de estradiol con la finalidad de sincronizar la ovulación, día diez las receptoras presentan estro, día 17 se realiza la transferencia de embriones.

Colecta de embriones y su clasificación

La colecta se realiza a los siete días de la primera inseminación artificial, primero se dilata la cérvix para luego fijar el catéter folley en el cuerno derecho y posterior en el izquierdo se realiza el lavado de cada cuerno utilizando medio de colecta (BioLife™,

Agtech), el medio evacuado va al filtro (Zona TM Filter, Agtech) donde son retenidas las estructuras; acabado el proceso de colecta el filtro es llevado al laboratorio donde es depositado en placas Petri de 100mm, para posterior realizar la búsqueda.

Búsqueda y clasificación de embriones

Se realizó mediante un estereoscopio (Nikon MZ 745 - Aleman), a un aumento de 20X, todas las estructuras halladas son trasladadas a una placa de 35 mm la cual contiene medio de mantenimiento (SYNGRO®, Bioniche, Canada) para posteriormente acabada la búsqueda realizar la clasificación según la Asociación Internacional de Transferencia de Embriones IETS (Tabla 1).

Tabla 1. Clasificación de los embriones, según estado de desarrollo y calidad embrionaria (IETS, 2010)

Estado de desarrollo	Código
Ovocito no fertilizado-UFO	1
Mórula compacta	4
Bastocisto temprano	5
Blastocisto	6
Blastocisto expandido	7
Blastocisto eclosionado	8

Calidad embrionaria	Código
Excelente	1
Bueno	2
Regular	3
Degenerado	4

Transferencia de embriones

Para la transferencia de los embriones se ubica cuerpo lúteo por palpación (CL > 16mm), lo que indicaba ser apta como receptora de embrión; Teniendo los embriones ya identificados según registro y calidad se realizó las transferencias utilizando una pistola de transferencia de embriones (21") con fundas punta de acero (Agtech, USA) cubierta con camiseta sanitaria, donde la pistola es dirigida al cuerno ipso lateral del CL funcional, para que el embrión sea depositado en el tercio craneal del cuerno uterino.

Diagnóstico de preñez

Se realizaron después de 28 a 35 días de transferido el embrión, el diagnóstico es endorectal por ultrasonografía (Easote, Italia), con frecuencia de 7.5 Gz.

Análisis estadístico

Para el análisis del efecto del estadio embrionario sobre la tasa de gestación en receptoras cruzadas se utilizó la prueba t de Student (p=0.05).

RESULTADOS

Se realizaron 121 transferencias de embriones frescos en receptoras cruzadas resultando preñadas el 53%: en el caso de transferencia de mórula se transfirieron 86 embriones logrando preñar 41 (48%); en blastocitos 35 transferidos logrando preñar 23 (66%); los resultados indican diferencia estadística significativa $p < 0.05$ (Tabla 2).

Tabla 2. Diferencia del porcentaje de gestación entre los estadios embrionarios de mórula y blastocisto de ganado bovino.

Grupo	n	Tasa de preñez, n (%)
Mórulas	86	41 (48.0%) a
Blastocistos	35	23 (66.0%) b

a-b/Letras diferentes en sentido vertical, indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$)



Figura 1. Terneros raza Simmental, producidos por transferencia embrionaria

DISCUSIÓN

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).

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 algunos casos en transferencia de embriones en fresco se obtuvo resultados con mayor porcentaje de preñez en blastocistos tempranos y blastocistos, que en transferencia de mórulas, blastocistos expandidos y blastocistos protruidos (Hasler *et al.*, 1987). Otros autores, obtuvieron mejores resultados con transferencia en blastocistos que con mórulas (Dochi *et al.*, 1998), observaron que mórulas y blastocistos

tempranos resultaron mayor porcentaje de preñez que blastocistos o blastocistos expandidos. Contrariamente, otros autores no han hallado efecto del estadio de desarrollo en el porcentaje de preñez (Ellington *et al.*, 1991).

Los porcentajes de preñez para embriones frescos producidos in vivo y transferidos en estadio de mórula han sido muy variados oscilando entre 48 y 70%. Cuando los que se transfirieron fueron blastocistos, los porcentajes de preñez fueron del 65-70% (Ellington *et al.*, 1991). En nuestro estudio se obtuvo preñeces con embriones frescos, para mórulas 48% y para blastocistos 66% en receptoras cruzadas lo que nos indica que se encuentra dentro del rango de los estudios realizados por Ellington *et al.* (1991).

CONCLUSIÓN

En conclusión, usando embriones bovinos en estadio de blastocisto se obtiene mayores tasas de gestación con respecto al estadio de mórula en receptoras cruzadas.

REFERENCIAS

- Bó GA, Baruselli PS, Moreno D, Cutaia L, Caccia M, Tribulo R. The control of follicular wave development for self-appointed embryo transfer programs in cattle. *Theriogenology* 2002; 57:53-72
- Bó GA, Tribulo H, Caccia M, Tribulo R. Pregnancy rates in embryo recipients treated with progesterone vaginal devices and transferred without estrus detection. *Theriogenology* 2001; 55:357.
- Broadbent PJ, Stewart M, Dolman DF. Recipient management and embryo transfer. *Theriogenology* 1991; 35:125-139
- Dochi O, Yamamoto Y, Saga H, Yoshida N, Kano N, Maeda J, Miyata K, Yamauchi A, Tominaga K, Oda Y, Nakashima T, Inohane S. Direct transfer of bovine embryos frozen-thawed in the presence of propylene glycol or ethylene glycol under on-farm conditions in an integrated embryo transfer program. *Theriogenology* 1998; 49:1051-1058.
- Duica A, Tovio N, Grajales H. Factores que afectan la eficiencia reproductiva de la hembra receptora en un programa de transplante de embriones bovinos. *Revista de Medicina Veterinaria*, julio-diciembre, número 014. Universidad de La Salle, Bogotá, Colombia 2007. Pp 107-124
- Ellington J, Foote R, Farrell P, Hasler J, Webb J, Henderson W, McGrath A. Pregnancy rates after the use of a gonadotropin releasing hormone agonist in bovine embryo transfer recipients. *Theriogenology* 1991; 36:1035-1042.
- Hasler JF, McCauley AD, Lathrop WF, Foote RH. Effect of donor-embryo-recipient interactions on

pregnancy rate in a large-scale bovine embryo transfer program. *Theriogenology* 1987; 27:139-168

- International Embryo Transfer Society, Manual, IETS 2010. Pg. 67-70.
- Martinez MF, Kastelic JP, Adams GP, Cook RB, Olson WO, Mapletoft RJ. The use of progestins in regimens for fixed-time artificial insemination in beef cattle. *Theriogenology* 2002; 57:1049–59.
- Peres L, Pincinato D, Cutaita L, Bó G. 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 2006.
- Tribulo H, Bó GA, Gatti G, Tegli JC, Cutaita L, Moreno D, et al. Pregnancy rates in embryo recipients treated with estradiol benzoate and CIDR-B vaginal device to eliminate the need for estrus detection, In: Proceedings of the 14th International Congress on Animal Reproduction, vol. 2. Stockholm, Sweden; 2000. p. 115.