



**Universidad Nacional del Nordeste**

**Facultad de Ciencias Veterinarias**

**Corrientes - Argentina**

**TRABAJO FINAL DE GRADUACIÓN**

**-MÓDULO DE INTENSIFICACIÓN PRÁCTICA-**

**OPCIÓN: Producción Animal.**

**TEMA: EVALUACIÓN DEL PORCENTAJE DE PREÑEZ  
EN VACAS MEDIANTE TRANSFERENCIA DE  
EMBRIONES PRODUCIDOS POR FERTILIZACION *IN  
VITRO***

**Residente: VARELA, Juan Cruz**

**Tutor interno: CAPPELLO VILLADA, Juan Sebastián**

**Tutor externo: FRESCHY DANSEY, Maximiliano**

Correo electrónico: jcv.8@hotmail.com

**CORRIENTES, 2022**

## ÍNDICE

RESUMEN .....	2
Fertilización <i>in vitro</i> .....	3
Laboratorio .....	4
Ecografía diagnóstica .....	6
Vientre receptor .....	7
OBJETIVOS .....	8
General .....	8
Particulares .....	8
MATERIALES Y METODOS .....	8
Animales sujetos de estudio y metodología empleada .....	9
Variables a evaluar .....	11
Análisis estadísticos .....	12
RESULTADOS y DISCUSIÓN .....	12
Categoría y condición corporal de la receptora transferida .....	13
Calidad del Cuerpo Lúteo .....	13
Método de conservación del embrión .....	14
Técnica de transferencia, contacto con la pared uterina .....	14
CONCLUSIONES .....	15
AGRADECIMIENTOS .....	15
BIBLIOGRAFÍA .....	16

## RESUMEN

El objetivo del presente consistió en evaluar algunos factores que afectan la tasa de preñez (diagnóstico a los 30-60 días), en vientres bovinos sometidos a transferencia de embriones. Para el presente se recolectaron datos de preservicio, transferencia y diagnósticos de vientres Braford, Brangus y Brahman. Fueron sometidos a transferencia embrionaria de OPU y FIV (aspiración con agujas especiales y bomba de vacío, guiada por ultrasonografía y fertilización *in vitro*). Provenientes de distintos establecimientos de Corrientes, Chaco Tucumán y Entre Ríos. Considerando como variable dependiente la tasa de preñez, las variables estudiadas fueron: Categoría animal/estado fisiológico de la receptora ( $N=145$ ) (con cría al pie, destetada hace más de 14 días y seca), condición corporal ( $N=2116$ ) (escala del 1 al 5), calidad del cuerpo lúteo (CL) ( $N=2115$ ) (CL1:  $>18$  mm; CL2: entre 15 y 18 mm; CL3:  $<5$  mm), tipo de embrión a transferir ( $N=2212$ ) (frescos, vitrificados y transferencia directa) y evidencia de contacto con pared uterina ( $N=893$ ) (según salga la vaina: limpia, mucosa o con sangre). Se analizaron los datos mediante el test de independencia de Chi-cuadrado de Pearson ( $\alpha=0,05$ ). No se encontraron diferencias significativas para la categoría animal/estado fisiológico y la condición corporal de la receptora. Sin embargo, sí se observaron diferencias para calidad del CL ( $p=0,004$ ) a favor de CL1; conservación del embrión ( $p=0,013$ ) a favor de los pertenecientes a transferencia directa y, por último, según la evidencia de contacto con pared uterina ( $p=0,041$ ), siendo mejor la tasa de preñez cuando la vaina salía limpia o con mucosa. Se concluye que, al diagnóstico realizado a los 30-60 días de gestación, los principales efectos, dentro de los estudiados, que influyen en la preñez de vientre bovinos fueron del tamaño del CL, el tipo de embrión y la técnica de transferencia, no obstante, se sugiere realizar trabajos futuros para ver la influencia de la categoría y CC de la receptora en edades gestacionales más avanzadas.

## INTRODUCCIÓN

### Fertilización *in vitro*

El término fertilización *in vitro* (FIV), implica que esta se realiza en un laboratorio, ella involucra el control de los mecanismos de maduración e interacción de los gametos femeninos y masculinos en un ambiente artificial con el fin de producir embriones (Majerus *et al.*, 1999).

La FIV en el bovino, se efectúa en varias etapas, ellas comprenden:

1. Recuperación y clasificación de los complejos *cumulus oophorus* (COC's).
2. Maduración de los COC's
3. FIV
4. Cultivo de desarrollo de los cigotos

Según Filipiak y Larocca (2010), existen diferentes técnicas de recuperación de los COC's según se trate de material de matadero o de hembras vivas.

- De hembras vivas: aspiración con agujas especiales y bomba de vacío, guiada por ultrasonografía (OPU - *Ovum Pick-Up*).
- De material de matadero: Los ovarios, colectados de hembras dentro de 4 a 6 horas después de faena

El empleo de OPU de forma rutinaria en reproducción asistida veterinaria se inicia en 1994. Puede ser usada en vacas cíclicas, no cíclicas, durante el primer tercio de la gestación y en las que no responden a estímulos hormonales; también, en animales con desórdenes reproductivos de origen no genético (Galli *et al.*, 2003), y en terneras y vaquillas prepúberes a partir del 6º-8º mes de edad (Baruselli *et al.*, 2016).

Mediante OPU podemos trabajar con ovocitos obtenidos de vacas vivas elegidas, con alto valor genético conocido. Mediante la punción repetida, puede conseguirse un mayor número de embriones (hasta 100 embriones al año por vaca) respecto del obtenido mediante protocolos estándar de transferencia embrionaria *in vivo*. La recuperación repetida de ovocitos mediante OPU permitiría obtener la mayor descendencia posible de los animales más valiosos, acelerando los procesos de selección y mejora genética (vía paterna y materna) (IETS, 2013).

Los COC's obtenidos se categorizan de acuerdo a la morfología de las células del *cumulus oophorus* y a las características del ovoplasma según la Tabla 1.

**Tabla 1.** Clasificación de COC's

Clasificación de COC's			
	Clasificación	Calidad	Características a evaluar
A	Bueno		Completamente rodeado por más de 3 capas de células del cúmulo y citoplasma homogéneo
B	Regular		Rodeado parcialmente por células del cúmulo o con citoplasma irregular
C	Malo		Desnudo
D	Degenerado		Rodeado por fibrina (con aspecto de tela de araña)

(Filipiak y Larocca 2010)

## Laboratorio

Una vez recibidos los COC's en el laboratorio se suceden varias etapas.

### Maduración

En el proceso de maduración *in vivo* de los ovocitos, intervienen la hormona folículo estimulante (FSH) en el crecimiento folicular, la hormona luteinizante (LH), que induce la maduración final y la ovulación del ovocito seleccionado. En un sistema *in vitro*, este balance natural es imitado agregando las hormonas FSH, LH y estradiol 17β al medio de maduración (Filipiak y Larocca 2010).

### Fertilización *in vitro* (FIV): Día 1 (OPU día 0)

Para que tenga lugar la fertilización del ovocito, los espermatozoides deben ser previamente capacitados, lo que hace que los espermatozoides adquieran hipermotilidad progresiva, la capacidad de penetrar el cúmulo y se preparan para que tenga lugar la reacción acrosómica.

Una vez madurados los COCs, se lavan y se colocan en gotas de inseminación que contengan la concentración de espermatozoides por ml. deseada. La relación es de 10 COC's/100 µl de medio de fecundación. El medio que utilizamos para inseminar se conoce como medio *Brackett-Oliphant* (Brackett y Oliphant, 1975), el cual contiene heparina y cafeína, que son necesarias para la capacitación espermática (Filipiak y Larocca, 2010).

Se prepara una caja de Petri, y con el semen capacitado y diluido a la concentración deseada, se preparan gotas para la inseminación, cubiertas con aceite mineral. Se sacan los ovocitos, que estaban en la estufa y se colocan por grupos en las gotas de semen, en una proporción de 10 ovocitos en 100 µl aproximadamente.

### Cultivo: día 2

Después de la inseminación, preparamos el medio de desarrollo, que consiste en adicionado, como se explica: Se coloca en estufa el aceite mineral, con 5% de CO<sub>2</sub>, para se equilibre la temperatura y el pH.

Al retirar los ovocitos de las gotas de inseminación, una vez equilibradas las soluciones, se forman gotas de cultivo y se colocan los ovocitos de acuerdo a los grupos en las gotas correspondientes y células de los cúmulos de manera alternada con los ovocitos.

### Previsión: día 6

Se evalúa la cantidad, calidad y desarrollo de los cigotos cultivados, para tener un estimativo de la cantidad de embriones a transferir o congelar.

### Empaque: día 7 transferencia en fresco, congelado o vitrificado

Durante muchos años fue imposible congelar con éxito los embriones de mamíferos, ya que su gran tamaño impedía que los diferentes procedimientos de congelamiento pudieran evitar la formación de cristales de hielo intracelular, que resultan letales (Lagunes Espinoza, 2009)

La función de los crioprotectores, es proteger a las células de lesiones producidas por la congelación, para minimizar el daño criogénico se añaden sustancias que reemplacen el agua dentro de la célula. El tipo de crioprotector usado, sus posibles combinaciones y su concentración son variables del proceso de vitrificación influyen en la tasa de supervivencia de los embriones.

El uso de etilenglicol como crioprotector permitió desarrollar la técnica de transferencia directa de embriones congelados/descongelados (procedimiento similar a la inseminación artificial), posibilitando la aplicación de esta técnica a campo. Sin embargo, su habilidad para prevenir la formación de hielo es limitada, y sus resultados han sido variables, y menores en comparación con los embriones en fresco y vitrificados (Lagunes Espinoza, 2009).

Durante la vitrificación, el embrión al ser enfriado no se cristaliza, sino que se produce una solidificación, pasando del estado líquido a un estado sólido no estructurado, similar al vidrio. Para el proceso, la velocidad de enfriamiento es rápida (107°C/seg) y la concentración utilizada de crioprotectores es alta, pero en bajo volumen. Estas características hacen que los efectos tóxicos y las lesiones osmóticas, causadas por el crioprotector, disminuyan. Igualmente, al minimizar el volumen de la

muestra, combinada con un enfriamiento acelerado, permite reducir la concentración de crioprotectores y la probabilidad de formación de cristales de hielo intracelular (Ramírez y Bernal, 2012).

Para el proceso de desvitrificación, los embriones vitrificados son sumergidos en una serie de soluciones hipertónicas y rehidratantes. El tiempo de exposición del embrión con las soluciones hiperosmóticas decrecientes varía entre 3 y 5 min por paso. Durante el calentamiento, la sucrosa actúa como una solución buffer para evitar la excesiva hinchazón de los embriones durante la remoción del crioprotector de las células (Ramírez y Bernal, 2012).

La principal diferencia práctica entre el embrión vitrificado y de transferencia directa, en el cual la pajilla con el embrión es descongelada en agua como el semen, de manera muy similar a una inseminación artificial. No es necesario el uso de un microscopio o la realización de procesos de dilución. Además, el embrión de trasferencia directa, puede ser almacenado y transportado en un termo de nitrógeno normal, si por algún problema no se puede realizar la transferencia en el mismo día, el embrión sigue congelado en el termo (Cuttini *et al.*, 2000).

Luego de tener el embrión descongelado y preparado para el empaque, es entonces colocado dentro de una pajuela esterilizada, de tal forma que el medio que posee el embrión queda entre 2 gotas de medio; separadas por aire. Luego se procede a colocar un ladrador numerado para identificar el embrión procesado. Todos los embriones a trabajar se almacenan en un equipo de transporte que mantiene la temperatura regulada entre 36,8° y 37,4° hasta el momento de la transferencia a la vaca receptora.

## **Ecografía diagnóstica**

En la práctica ecográfica, a partir del día 25 se puede observar el cuerpo embrionario, mientras los latidos del corazón nos indican que vive. Este equipo permite identificar el estado de la gestación, determinar el sexo del feto, identificar la función ovárica, así como la morfología uterina. Es posible detectar latidos cardíacos fetales con ultrasonido aproximadamente el día 21 de gestación, pero se detecta fácilmente después del día 25 (Quintero Arciniegas *et al.*, 2019).

La incorporación de nuevas tecnologías como el ultrasonido Doppler permite una evaluación más detallada del útero, los folículos ováricos y el cuerpo lúteo. El modo de

Doppler permite la visualización del flujo sanguíneo dentro de los tejidos y las estructuras e indirectamente permite la especulación sobre el estado funcional del tejido.

El modo Doppler puede permitir un diagnóstico temprano más preciso del embarazo en el ganado, particularmente si se realiza entre los 19 y 21 días de gestación. Las metas de cualquier método usado son determinar con un 100% de efectividad que no haya falsos positivos ni falsos negativos, diagnosticar preñez tan pronto como sea posible, poder determinar la edad, viabilidad y, posiblemente, el sexo del feto (INTAGRI, 2020).

### **Vientre receptor**

Dependiendo de la categoría y estado reproductivo de los vientres disponibles para usar en un programa de transferencias embrionarias, hay varios factores que pueden influir en los resultados. La condición corporal (CC) o estado corporal (EC) es un esquema valorativo del estado fisiológico y reservas de grasa del animal. Entre otras ventajas, representa una herramienta importante a la hora de seleccionar las hembras para un programa de monta natural controlada o no controlada, inseminación artificial o de cualquier otra técnica que se implemente en la ganadería, sin importar el número de animales (Suarez Guevara, 2015).

La CC puede estar ligada al momento en que se encuentra el vientre, sea este en lactación, destetada o seca. En vacas de baja condición corporal, el destete precoz realizado 10 días antes o el día de inicio de un tratamiento con progesterona intravaginal, produce un aumento del tamaño del folículo dominante (preovulatorio) y una mayor tasa de ovulación que el destete realizado al finalizar el tratamiento o el control (sin destete) (Vittone *et al.*, 2011).

La supervivencia embrionaria depende de una correcta sincronía entre el embrión y la madre receptora, en la cual participan factores autocrinos, paracrinos y endocrinos. El tamaño del folículo preovulatorio es determinante en la formación del CL y en los niveles de P4 que éste generará; y que, a su vez determinarán el ambiente uterino favorable para el desarrollo del embrión.

Este requerimiento se acentúa aún más cuando se aplican biotecnologías reproductivas como la transferencia de embriones, habiéndose demostrado que el tamaño del CL y la secreción de P4, son factores relacionados al establecimiento y mantenimiento de la preñez por lo que afectan directamente en la eficiencia del procedimiento de transferencia de embriones en concreto al porcentaje de preñez. Por lo

tanto, es importante conseguir que las receptoras de embriones y en general las vacas transferidas tengan un CL que favorezca la formación de un adecuado ambiente uterino que mantenga un óptimo desarrollo embrionario temprano (Ayala Guanga *et al.*, 2017).

Es de suma importancia este apartado analizar la calidad del cuerpo lúteo, ya que el cliente o propietario pone a disposición vientres que se privan de participar en otro servicio durante cierto periodo de tiempo, lo cual puede impactar económicamente de manera negativa. No solo por el tiempo en que dicha vaca permanece vacía, sino por la posibilidad de que se desechen embriones sin transferir debido a falta de vacas receptoras (Bó *et al.*, 2004).

## OBJETIVOS

### General

Evaluar factores que afectan la tasa de preñez con diagnóstico a los 30-60 días, en vientres bovinos sometidos a transferencia de embriones producidos *in vitro*

### Particulares

Evaluar el porcentaje de preñez en receptoras de embriones de transferencia de embriones producidos *in vitro* según la categoría animal/estado fisiológico del vientre, condición corporal, calidad del cuerpo lúteo, tipo de embrión y la evidencia de contacto con la mucosa con la vaina por parte del técnico, al momento de la transferencia.

## MATERIALES Y METODOS

El presente estudio es un trabajo de recolección de datos de preservicio, transferencia y diagnósticos de vientres sometidos a transferencia embrionaria de producción *in vitro*. Esto se llevó a cabo en marco de los trabajos realizados en la firma El Estribo S.A y Rincón del Oratorio S.A., donde se recolectaron datos en distintos establecimientos, en las provincias de Corrientes, Chaco Tucumán y Entre Ríos, con las razas bovinas Braford, Brangus y Brahman. Se trabajó con los protocolos de transferencia de embriones regulados por la empresa *IN VITRO ARGENTINA S.RL.*

## **Animales sujetos de estudio y metodología empleada**

Se incluyeron todos los vientres que resultaron aptos para ser receptoras de embriones, y efectivamente transferidos. Se recolectaron registros de 2521 diagnósticos de preñez.

Se consideró la información de transferencia y diagnóstico de gestación entre 30 y 60 días posteriores al trabajo, para observar los resultados de preñez.

### *Preservicio: criterios considerados*

- Obligatorios:

- Vientres adultos que ya hayan presentado al menos una cría, y en edad reproductiva.
- Sanidad conocida.

- No considerados excluyentes:

- Condición corporal: falta o exceso
- Calidad de ubres: tamaño normal de los cuartos o patologías
- Conocimiento de la aptitud materna
- Pelvimetria adecuada

Cumpliendo estos requisitos, cada vientre fue evaluado mediante palpación rectal y ultrasonografía para descartar aquellos vientres que presentaron preñeces, anestros y patologías. En cuanto al criterio de ciclicidad, se tomaron como aptos los vientres que presentan un cuerpo lúteo (CL), o folículos mayores a 8 mm junto con tono de cuernos uterinos de regular a bueno.

Además, dependiendo la época del trabajo, se registraron los servicios previos que recibieron las vacas candidatas a receptoras en los últimos meses.

### *Sincronización a tiempo fijo de receptoras*

Se utilizó un protocolo de progestágenos intravaginales y estrógenos con hormona gonadotrofina coriónica equina (eCG). Se elaboró una planilla de sincronización de receptoras tomando los datos de identificación, raza, condición corporal y examen ginecológico, donde se indicó qué estructura ovárica presentó al momento de la evaluación.

- Dia 0: Inicio de protocolo

- Colocación del dispositivo intravaginal bovino de P4 (DIB)

- 2 cc de benzoato de estradiol
- Dia 7 u 8
  - Retiro de DIB
  - 2 cc de prostaglandina F2-alfa
  - 1 cc de cipionato de estradiol
  - 2 cc de eCG
- Dia 8 o 9 (para programa de embriones en fresco)
  - OPU de donantes
- Dia 16 o 17
  - Transferencia de embriones

#### *Transferencia de embriones (TE)*

El laboratorio prepara un equipo de transporte, para embriones que viene de producción en fresco o han sido desvitrificados, donde los embriones son mantenidos a 37,4°C hasta que son transferidos a las receptoras. Para el caso de embriones de Direct Transfer son mantenidos congelados en un termo de nitrógeno, y al momento de la transferencia se descongelan en agua similar a una dosis de semen. Cada embrión se encuentra identificado en una pajuela de 0,25 ml con un ladrador numerado. Junto a la transportadora se entrega una planilla elaborada por el laboratorio donde se detallan los datos del establecimiento donde se hará el trabajo, fecha y los embriones a transferir. El número de orden coincide con el número de ladrador de cada pajuela, identificando el número y raza de la donante, así como el número y raza del toro correspondiente a la combinación del futuro ternero.

Antes de transferir el embrión, se evalúa por palpación y ultrasonografía si la receptora presenta un CL que pueda mantener la preñez, una vez confirmado esto se procede a anestesiar por epidural con lidocaína al 2% a la receptora y depositar el embrión, anotando en el orden que corresponda en la planilla junto con la calidad del CL y en qué ovario se hallaba, que corresponderá al cuerno donde se lo ubicó.

#### Ecografía diagnóstica

Se realizó ultrasonografía con un equipo SIUI CTS 800. La fecha para realizar la ecografía depende de la necesidad del cliente realizándose entre los 30 y 60 días. Las razones por las cuales se requiere diagnóstico temprano son:

- Luego de la TE las receptoras recibieron otro servicio, el diagnóstico temprano permite diferenciar las preñeces de otro servicio.
- Necesidad de reciclar los vientres vacíos para venta u otro servicio.

### **Variables a evaluar**

Como variable dependiente se tomaron mediante el diagnóstico con ultrasonografía de vacía o preñada entre los 30 y 60 días.

Las variables independientes que se evaluaron son:

- Categoría animal/estado fisiológico de la receptora al momento de la transferencia
  - Con cría al pie
  - Seca
- Condición corporal: se usó la escala del 1 al 5 según Perry (2013)
  - CC 1: Emaciación, estos animales no son aptos para receptoras
  - CC 2: Limite, se encuentran en algunas vacas con cría al pie
  - CC 3: Moderado a bueno
  - CC 4: Bueno a obeso
  - CC 5: Obeso
- Tamaño del cuerpo lúteo: medido con ultrasonografía el día de la transferencia
  - CL 1: mayor a 18 mm
  - CL 2: entre 15 mm y 18 mm
  - CL 3: menor a 15 mm
- Según el tipo de embrión a transferir
  - Frescos: embriones producidos de una OPU en sincronización con el protocolo de la receptora
  - Vitrificados: embriones preservados por método de vitrificación
  - Direct Transfer: embriones preservados por método de *direct transfer*
- Evidencia de contacto con pared uterina observada en la vaina
  - 1: Limpio
  - 2: Mucosa
  - 3: Sangre

## Análisis estadísticos

Se efectuaron análisis comparativos de la variable preñez según: categoría animal de la receptora al momento de la transferencia; condición corporal; calidad del cuerpo lúteo; tipo de embrión a transferir; y dificultad de la transferencia embrionaria. Para llevar a cabo el cometido, se analizaron los datos mediante la prueba de independencia de Chi-cuadrado de Pearson, utilizando un  $\alpha=0,05$ . Para el manejo y análisis de los datos recolectados se empleó el software Microsoft Excel®, versión 2019.

## RESULTADOS y DISCUSIÓN

En la tabla 2, se presentan los resultados obtenidos en el diagnóstico de preñez expresado en valores absolutos y relativos porcentuales, así como los valores de significancia del test de Chi-cuadrado de Pearson de cada variable de estudio.

Tabla 2. Porcentajes de preñez de las variables estudiadas en vientres bovinos con el respectivo valor de p obtenido por el test de Chi-cuadrado de Pearson ( $p<0,05$ ).

Variable	Clasificación	n	Tasa de preñez	valor de p
Categoría animal/estado fisiológico de la receptora	Con cría	49	49,0%	No significativo
	Secas	96	41,4%	
	Total	145	44,8%	
Condición corporal (1-5) de la receptora	2 a 2,5	177	41,2%	No significativo
	3 a 3,5	1647	41,4%	
	4 a 5	292	41,4%	
	Total	2116	41,4%	
Calidad del cuerpo lúteo	Calidad 1	983	45,6%	0,004
	Calidad 2	811	38,5%	
	Calidad 3	310	36,1%	
	Total	2104	41,4%	
Conservación del embrión	Fresco	1407	42,7%	0,013
	Vitrificado	560	37,3%	
	Direct transfer	245	47,8%	
	Total	2212	41,9%	
Evidencia de contacto con pared uterina	Limpio	425	41,9%	0,041
	Mucosa	126	38,9%	
	Sangre	72	27,8%	
	Total	623	39,6%	

### **Categoría y condición corporal de la receptora transferida**

En cuanto a la calidad de la receptora, se analizaron las variables categoría y condición corporal al momento del trabajo, y dichos análisis arrojaron valores no significativos, lo cual concuerda con lo presentado por Irouleguy (2009) y con lo reportado por Mapletoft *et al.* (1986, en Cuttini *et al.*, 2000), quienes no encontraron diferencias en vientres con CC mayores a 1.

Según Bó *et al.* (2004), la categoría de vaca y época en que se realiza el trabajo, pueden analizarse de manera conjunta, ya que la condición del vientre dependerá de la estación del año en sistemas extensivos y semiextensivos, donde el servicio y la oferta forrajera definen la posición de la hembra para el servicio. Según dicho trabajo, las diferentes categorías de vientre y condición corporal no arrojaron diferencias significativas, coincidente con lo aquí reportado.

### **Calidad del Cuerpo Lúteo**

Según los resultados obtenidos en el presente trabajo, en la tasa de preñez existe una diferencia significativa según la calidad del cuerpo, presente al día 9 post remisión del DIB de P4, evaluado previo a la transferencia, siendo superiores las tasas (CL 1 45,8%; CL 2 38,5%; CL 3 36,1%) en los CL mayores a 18 mm.

El Tamaño del CL el día de la transferencia embrionaria guarda estrecha relación con la concentración de progesterona en sangre como afirma en su trabajo Baruselli (2007), este perfil hormonal favorece a la supervivencia del cigoto. Esto guarda relación con lo expuesto por Cano *et al.* (2020), asimismo, este resultado coincide con los trabajos de Irouleguy (2009) y Lagunes Espinoza (2009).

No obstante, el trabajo presentado por Gómez Ávila (2017), arroja que el tamaño y calidad del CL de la receptora evaluado previo a la transferencia embrionaria, no guarda relación con el porcentaje de preñez.

Revisando estos resultados, se debe considerar importante que, durante un trabajo de transferencia de embriones, los responsables evalúen qué hacer con un grupo de receptoras que está presentando una mala respuesta al protocolo, basado en la presencia de un CL de calidad, dependiendo si tienen embriones frescos, desvitrificados o de transferencia directa, considerando que en los 2 primeros casos el embrión se desecha.

## **Método de conservación del embrión**

Al realizar los análisis estadísticos, se encontraron diferencias significativas para esta variable, donde los mayores porcentajes de preñez se observaron mediante la transferencia directa, esto guarda relación como expresaron Gosalvez y Vidal (1994), donde el mayor porcentaje de preñez se obtuvo a través de este mismo método.

Al igual que en numerosos trabajos, en el presente se destaca la pérdida de viabilidad embrionaria por el proceso de congelamiento-descongelamiento, además del tiempo hasta que se transfieren los embriones, es por ello que reviste importancia el tiempo de descongelado en la técnica de desvitrificaron, como reportaron Cuttini *et al.* (2000) y Rivera Gaona (2015).

## **Técnica de transferencia, contacto con la pared uterina**

En los resultados del presente, se observó que la diferencia entre haber contactado la pared uterina en mayor o menor profundidad guarda una relación estrecha con el resultado de preñez final. Asimismo, influye también la infraestructura de los corrales y docilidad de las vacas receptoras, lo cual contribuye a lograr un mejor manejo del rodeo, disminución de causas de stress en los animales transferidos (Irouleguy, 2009).

Al analizar de a pares, se observó que no hay diferencias significativas si la vaina sale limpia o con mucosa, no así entre éstas y cuando con se observa la presencia de sangre. Esto mismo, expusieron tanto Cometa Guzmán (2006) como Mapletoft (2006), quienes manifestaron que la liberación de prostaglandinas luego de la lesión en la pared compromete la supervivencia del CL.

## **CONCLUSIONES**

Según lo observado en el presente estudio, se concluye que los principales factores que favorecieron a la preñez mediante transferencia de embriones son la calidad de cuerpo lúteo (más de 18 mm), el tipo de embrión a transferir, ya que se obtuvieron mejores tasas mediante la transferencia directa y, por otro lado, influye negativamente la presencia de sangre posterior a la transferencia.

En las condiciones en que se desarrolló este trabajo no se pudo hallar una influencia significativa del estado fisiológico ni de la condición corporal en las tasas de preñez.

Se sugiere para trabajos posteriores, evaluar pérdidas embrionarias posteriores a las del diagnóstico considerado en el presente (30-60 días), así como los costos que dichas pérdidas generan. Asimismo, si bien no se encontró una influencia hasta los 60 días, se sugiere evaluar a la vaca candidata a recibir el embrión, en la pre sincronización y pre transferencia, así como el valor de cada variable considerada al momento de la transferencia, todo ello, bajo el conocimiento del propietario y del técnico para una correcta toma de decisiones.

## **AGRADECIMIENTOS**

Quiero agradecer especialmente a mis tutores, su guía durante todo el trabajo fue fundamental para llegar a esta instancia. En segundo lugar, al personal de cada establecimiento que trabajamos, ellos son los responsables del 90% de los resultados logrados. A mi familia y a la Dra. Victoria Casaux Alsina, compañera de vida y de trabajo, por su apoyo y vocación por este rubro que elegimos.

Quiero mencionar la predisposición y voluntad de todo el equipo de IN VITRO ARGENTINA S.R.L. quien me permitió participar activamente con sus clientes y aprender de técnicos muy capacitados entre los cuales quiero mencionar al Dr. Ernesto Álvarez Torrealba (director del equipo de transferencias embrionarias) y al Dr. Marcelo Albornoz (Gerente IV Argentina y Rio Grande do Sul).

## BIBLIOGRAFÍA

- AYALA GUANGA, L.E.; PESÁNTEZ PACHECO, J.L.; RODAS CARPIO, E.R.; MENDEZ ALVAREZ, M.S.; SORIA PARRA, M.E.; TORRES INGA, C.S.; VAZQUEZ MOSQUEIRA J.M.; PESÁNTEZ CALLE E.R. (2017) Tamaño del folículo ovulatorio, cuerpo lúteo y progesterona sanguínea en vaquillas receptoras de embriones de tres razas en pastoreo en Ecuador.
- BARUSELLI, P.S.; BATISTA, E.O.S.; VIEIRA, L.M.; FERREIRA, R.M.; GUERREIRO, B.G.; BAYEUX, B.M.; SALES, J.N.S.; SOUZA, A.H. Y GIMENES, L.U. (2016). Factors that interfere with oocyte quality for in vitro production of cattle embryos: effects of different developmental & reproductive stages. *Animal Reproduction*, 13(3), 264-272.
- BÓ, G. A.; MORENO, D.; CUTAIA, L.; CACCIA, M.; TRÍBULO, R. J. y TRÍBULO, H. E. (2004). Transferencia de embriones a tiempo fijo: tratamientos y factores que afectan los índices de preñez. *Taurus*, 21, 25-40.
- BRACKETT, B. G., & OLIPHANT, G. (1975). Capacitation of rabbit spermatozoa in vitro. *Biology of reproduction*, 12(2), 260-274.
- CANO, A.B.; ACOSTA, J.T. ÁLVAREZ, R.D.R. GIMÉNEZ FERREIRA, F.D. y DOMÍNGUEZ, R.A. (2020) Manual de transferencia de embriones. CONACYT y UNICAN, Programa paraguayo para el desarrollo de la ciencia y tecnología, 31.
- COMETA GUZMÁN, C.A. (2006) Transferencia de embriones en ganado bovino. Cátedra de Fisiología de la reproducción. Universidad Nacional de Colombia, Sede Palmira, 7.
- CUTINI, A.; TERUEL, M. y CABODEVILLA, J. (2000) Factores que determinan el resultado de la transferencia no quirúrgica de embriones bovinos. *Taurus*, 2(8), 35-47.
- FILIPPIAK, Y. y LAROCCA, C. (2010). Manual de fertilización *in vitro* en bovinos. Facultad de Ciencias Veterinarias, Área de Biotecnología de la Reproducción. Universidad de la República, Montevideo, Uruguay, 27.
- GALLI, C.; DUCHI, R.; CROTTI, G.; TURINI, P.; PONDERATO, N.; COLLEONI, S.; LAGUTINA, L. y LAZZARI, G. (2003) Bovine embryo technologies. *Theriogenology*, 59(2), 599-616.
- GÓMEZ ÁVILA, F.M. (2017) Asociación entre preñez y estado del embrión y tamaño del cuerpo lúteo en fertilización *in vitro* en bovinos en Toro, Valle del Cauca.

*Tesis Doctoral.* Universidad Tecnológica de Pereira. Facultad de Ciencias de la Salud. Medicina Veterinaria y Zootecnia.

GOSALVEZ, L. y VIDAL, L. (1994). La transferencia embrionaria en el ganado vacuno. Ministerio de agricultura, pesca y alimentación, España, 28.

IETS - SOCIEDAD INTERNACIONAL DE TRANSFERENCIA DE EMBRIONES. (2013). Biotecnología de la Reproducción, Manual de la IETS. Disponible en: [http://www.reprobiotec.com/libro\\_rojo/capitulo\\_16\\_iets.pdf](http://www.reprobiotec.com/libro_rojo/capitulo_16_iets.pdf). Última visita: 15/02/2022.

INTAGRI. (2020). Diagnóstico de Gestación en Bovinos. Núm. 60. Artículos técnicos de INTAGRI. México. 4 p.

IROULEGUY, J.M. (2009) Transferencia de embriones frescos a tiempo fijo: Algunas variables que afectan la tasa de preñez. Tesina para optar por el título de Médico Veterinario. Fac. de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires (UNCPBA), Tandil, Buenos Aires, Argentina.

LAGUNES ESPINOZA, M.A. (2009) Efecto de la Calidad del cuerpo luteo (C.L.) y tiempo de embrionización sobre la tasa de concepción en receptoras Bradford con embriones Angus de transferencia directa. *Tesis de Grado* de Médico veterinario zootecnista. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

MAJERUS, V.; DE ROOVER, R.; ETIENNE, D.; KAIDI, S.; MASSIP, A.; DESSY, F. y DONNAY, I. (1999). Embryo production by ovum pick up in unstimulated calves before and after puberty. *Theriogenology*, 52(7), 1169-1179.

MAPLETOFT, R. (2006). Transferencia de embriones en bovinos. IVIS Reviews in Veterinary medicine, I.V.I.S (Ed.) International Veterinary information Service, Ithaca NY; R0104. 1196.ES.

PERRY G. (2013). Statistics of embryo collection and transfer in domestic farm animals. *Embryo transfer Newsletter*, 32, 14-16.

PONCE, N. (2015). Transferencia de embriones en ganado bovino. U. C. Herrera, Ed, 42.

QUINTERO ARGINIEGAS, A. D., MOGOLLÓN WALTERO, E. M., GÓMEZ SÁNCHEZ, N., MORENO JEREZ, E. R., DUBEIBE MARÍN, D. F., y BARAJAS PARDO, D. P. (2019). Diagnóstico de gestación en bovinos. Ed. Servicio Nacional de Aprendizaje y Universidad Cooperativa de Colombia. Bucaramanga, Colombia, 84.

- RAMÍREZ, O. y BERNAL, S. (2012). Vitrification of bovine embryos produced *in vitro*. *Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica*, 15(2), 419-429.
- RIVERA GAONA, G. (2015) Crio preservación de células reproductivas. Cátedra de Reproducción Animal. Facultad Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional de Colombia.
- SUAREZ GUEVARA, A.M (2015) Eficiencia de la inseminación artificial al primer servicio por la técnica transvaginal en hembras bovinas de la hacienda el prado.
- VITDONE, J.S.; ALLER, J.F.; OTERO, G.; SCENA, C; ALBERIO, R.H. y CANO, A (2011) Destete precoz y desempeño reproductivo en vacas tratadas con progesterona intravaginal.