

Factores que afectan la eficiencia reproductiva de la hembra receptora en un programa de transplante de embriones bovinos

Arturo Duica A.* / Néstor Tovío L.** / Henry Grajales L.***

RESUMEN

El transplante de embriones es una técnica biotecnológica, que permite aumentar la descendencia de animales de alto valor genético. Los resultados positivos, representados en gestaciones tras la aplicación de dicha técnica, se ven afectados por una serie de factores como los inherentes a la donante, al embrión, a la aplicación de la técnica y a las hembras receptoras, quienes reciben un embrión extraño a nivel uterino, permitiendo su desarrollo gestacional. Se describen algunos factores que afectan la eficiencia reproductiva de la hembra receptora de embriones bovinos en un programa de transplante de embriones. Además de una variedad de parámetros que deben ser evaluados en este tipo de hembras, como el factor racial, 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 transplantar el embrión. De este modo, un óptimo desarrollo folicular será determinante para la formación de un cuerpo lúteo que genere concentraciones plasmáticas de progesterona suficientes para ofrecer un medio ambiente uterino adecuado y favorecer el óptimo desarrollo embrionario. Al tener en cuenta los factores que afectan la eficiencia de la técnica de transplante de embriones, se obtendrá un aumento en los resultados positivos representados en gestaciones y nacimientos de individuos provenientes de animales de alto valor genético.

Palabras clave: cuerpo lúteo, embrión, folículo ovárico, hembra receptora, progesterona, transplante embriones.

* Médico Veterinario Universidad de La Salle. MSc. (c), Grupo de investigación en Fisiología de la Reproducción. Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia. Universidad Nacional de Colombia. Correo electrónico: aduicaa@unal.edu.co

** Zootecnista, MSc. (c), Grupo de investigación en Fisiología de la Reproducción. Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia. Universidad Nacional de Colombia. Correo electrónico: nitoviol@unal.edu.co

*** Zootecnista. MSc., PhD. Profesor Asociado Departamento de Producción Animal, Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Universidad Nacional de Colombia. Correo electrónico: hagrajalesl@unal.edu.co

Fecha de recepción: 15 de mayo de 2007.

Fecha de aprobación: 6 de septiembre de 2007.

FACTORS THAT AFFECT THE REPRODUCTIVE EFFICIENCY OF THE RECIPIENT WITHIN A BOVINE EMBRYO TRANSFER PROGRAM.

ABSTRACT

The embryo transfer is a biotechnological technique that allows increasing the descendant of animals with high genetic value. The positive results, represented in pregnancy after the application of this technique, are affected by some factors that are inherent to the donor, the embryo, the technique, and the recipients which receive a strange embryo in the uterus allowing pregnancy. This review describes some factors affecting the reproductive efficiency of the recipients of bovine embryos within a program of embryo transfer. Its important to evaluate the parameters in this kind of recipients, as race, age, physiological status, health status, weight, reproductive tract integrity and management, and also too

monitoring the ovarian structures while the estrus synchronization, and within previous and posterior stages in embryo transfer procedure. Therefore an optimum follicular development will be determinant to corpus luteum formation which generates enough serum progesterone concentrations to offer a right uterine environment allowing the optimum embryo development. Controlling the factors that affect the efficiency of the embryo transfer, it will obtain an increasing of positive results represented in pregnancies and births of individuals come from animals with high genetic value.

Key words: corpus luteum, embryo, ovarian follicle, recipient, Progesterone, embryo transfer.

INTRODUCCIÓN

Los sistemas productivos pecuarios día a día se basan en la producción eficiente de derivados de origen animal, con el objeto de satisfacer las necesidades nutricionales de la población mundial. Para que esto ocurra es necesario que las prácticas ganaderas sean más eficientes, optimizando la utilización del suelo y adaptando las explotaciones ya existentes a las exigencias de la sociedad. Por este motivo, el desarrollo de la mejora genética cumple un papel fundamental como eje de la producción pecuaria que ayuda a una racionalización y un uso eficiente de estos productos de origen animal, así como del entorno. Para este propósito es importante la aplicación de la tecnología en cada uno de los eslabones que componen la cadena de producción.

La biotecnología se define como la aplicación de principios científicos biológicos con fines industriales (Gorlach, 1999). Al ser aplicada en la reproducción se convierte en una herramienta por medio de la cual se puede aumentar la eficiencia reproductiva de los animales, con el propósito de cumplir con los cometidos del uso eficiente y la racionalización de los recursos (Palma, 2001).

Si bien, con la biotecnología de la reproducción se ha avanzado en cuanto a las mejoras productivas de los animales, es necesario determinar y conocer los factores que afectan la eficiencia de este tipo de técnicas biotecnológicas. En Colombia se ha producido un avance importante hacia la utilización de estas técnicas con la difusión de la inseminación artificial; esta es una de las biotecnologías asociadas a la reproducción más básica, pero al ser utilizada en las explotaciones ganaderas permite iniciar un mejoramiento importante debido a que se brinda al productor la posibilidad de contar con material se-

minal proveniente de toros de excelente calidad, mejorando así las características de la progenie en las diferentes explotaciones, obteniéndose una mayor eficiencia de los animales en los diferentes medios (Baruselli, 2005).

Actualmente en el país se está avanzando hacia la utilización de técnicas como el transplante o transferencia de embriones (TE); esta es la herramienta más utilizada alrededor del mundo para multiplicar animales de alto valor genético (Bó, 2000). La conciencia de poder hacer un mejoramiento ganadero está teniendo una difusión importante entre los productores del medio, que buscan mediante estas técnicas mejorar las características productivas de los animales para, de esta manera, ofrecer mejores productos a los mercados tanto internos como externos.

La TE es ampliamente difundida a nivel mundial. En Colombia, la demanda por la aplicación de esta técnica biotecnológica es cada vez mayor, pero la variabilidad en cuanto a los resultados tras la aplicación de ésta es muy alta, debido a que se pasan por alto una serie de factores importantes en la selección de los animales que entran al programa de TE.

Factores como la raza de los animales a utilizar, selección de la hembra donante así como de la hembra receptora, manejo de las hembras, respuesta de los animales a los tratamientos de sincronización, técnica para realizar la TE, día en que se efectúe el transplante del embrión, calidad del embrión, respuesta de la receptora al embrión transplantado, interacción embrión - hembra han sido estudiados tratando de estandarizarlos para obtener mejores resultados;¹ 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,

¹ Tal es el caso de autores como Gordon, 1999; Gorlach, 1999; Bó, 2000; Baruselli, 2001; Hasler, 2001; Spell, 2001; Barreto 2002; Bó, 2002; Nigro, 2002; Lequarre, 2004.

de tal manera que pueda brindarle unas condiciones adecuadas que permitan la supervivencia, implantación y desarrollo de éste (Spell, 2001). Por este motivo, es de suma importancia conocer los cambios que transcurren durante el ciclo estral y en las primeras fases del desarrollo embrionario, para así poder determinar claramente los factores que van a incidir de una manera directa sobre la eficiencia en un programa de TE (Bó, 2003).

PRINCIPIOS DE LA TÉCNICA DE TRANSPLANTE DE EMBRIONES

El TE es una técnica que consiste en seleccionar una hembra donante, genéticamente superior, a la cual se le sincroniza el estro por medio de tratamientos hormonales. A continuación se induce una multiovlulación con la ayuda de Gonadotropinas, técnica por la que se busca que la hembra donante de embriones lleve varios folículos hasta el estado ovulatorio para obtener un mayor número de oocitos viables. Se considera que hubo respuesta al tratamiento cuando se producen más de dos ovulaciones efectivas (Tribulo, 2002); estos oocitos son fecundados por medio de la liberación de material seminal a nivel uterino, inseminación artificial (IA); en este proceso se pueden hacer dos o tres IA, según el protocolo de superovulación o multiovlulación (Baruselli, 2003). Finalmente, los embriones son recuperados del útero el día 7 postinseminación, cuando aún no se han implantado a la superficie uterina (Gorlach, 1999). Estas estructuras después de ser recuperadas pueden ser transplantadas a hembras receptoras, que reciben el embrión en fresco, las cuales van a servir como madres substitutas durante el período gestacional. El embrión también puede ser sometido a criopreservación para ser almacenado, previa selección según su estadio y calidad (Gordon, 1999). Las hembras que van a recibir un embrión en su útero deben estar en el mismo período fisiológico, postestro, que las hembras de las que se obtuvieron los embriones, por lo que se hace necesario controlar el ciclo estral de esta

hembra receptora, para que se encuentre en el día siete postovulación; esta sincronía junto con ciertas características sanitarias y de manejo, permiten efectuar el transplante del embrión a la hembra receptora (Gonzales & Stagnaro, 2001).

VENTAJAS Y DESVENTAJAS TRAS LA APLICACIÓN DE LA TÉCNICA DE TE

En el procedimiento de TE se presentan ventajas y desventajas como en cualquier otro procedimiento biotecnológico. Las ventajas de esta biotecnología son básicamente la obtención de una descendencia genéticamente superior, la disminución del riesgo de contagio de enfermedades infecciosas, el mejoramiento genético de un grupo de animales a corto plazo, la 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, permite hacer un chequeo genético ágil de un animal al que se le extrae material seminal probando este en varias hembras multiovluladas para así evaluar su descendencia, además facilita el movimiento nacional e internacional de embriones de animales de alto valor genético (importación y exportación), maximiza el uso de material seminal de alto valor, permite hacer un planificación de los cruzamientos, permite la producción de gemelos por micro manipulación, entre otras (Tribulo, 2002).

De la misma forma en que se puede obtener progenies con características deseables provenientes de animales de alto valor genético, también pueden ser multiplicadas fácilmente las características indeseables de animales que no son aptos para introducir en un programa de TE; por eso es de suma importancia al aplicar este tipo de tecnologías, contar con la asesoría de personal idóneo para efectuar estos procedimientos; otras desventajas que deben ser evaluadas antes de la aplicación de esta técnica son la variabilidad que se presenta en materia de resultados, la poca dispo-

nibilidad de hembras receptoras ideales, ya que no existen bancos especializados en la producción de estas en el país, los altos costos en materia de hormonas para control del ciclo estral y multiovlulación los animales en este tipo de programas. Se debe contar con personal técnico altamente calificado para evitar disminuciones en la efectividad de la técnica debido a que pueden presentarse diferencias en materia de resultados entre equipos de trabajo (Bó, 2003); la variabilidad en cuanto a la calidad de los embriones es otra de las desventajas que acarrea la aplicación de este tipo de técnicas, además que entre un 20 y 30% de las hembras donadoras de embriones no responden a los tratamientos hormonales, haciendo que no se pueda recuperar ningún embrión transferible; esta variabilidad en la respuesta puede depender de los factores individuales asociados a la dinámica folicular en estos animales (Baruselli, 2003). Una gran parte de las desventajas asociadas a la técnica de TE se presentan por el poco control o desconocimiento de los fenómenos fisiológicos asociados a las estructuras ováricas y producción de hormonas que determinan el medio ambiente uterino requerido para el embrión a transplantar (Gorlach, 1999).

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, así como en la sincronización del ciclo estral, técnicas de multiovlulación, inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) 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.

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 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 1 (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 ovulatorios, 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 de 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).

LA MULTIOVULACIÓN EN 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 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 gonadotropina coriónica de yegua preñada (eCG), la cual genera una acción foliculo 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 multiovlación, ya que por medio de estos se aplica hormona foliculoestimulante (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 encontrados al aplicar tratamiento súper estimulatorio a tres grupos de vacas lecheras con dosis 450 μ 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 foliculo 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 multiovlación 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 las hormonas gonadotrópicas 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 de la selección del folículo dominante se obtendrá el crecimiento de un grupo de folículos logrando el objetivo de la técnica de multiovlación (Bungarts, 1994; Bó, 1996); la aplicación de la FSH se hace durante cuatro días en aplicaciones cada 12 horas para tener niveles necesarios de hormona en el organismo del animal, permitiendo que esta ayuda hormonal produzca una multiovlación efectiva (Hasler, 1993). El día 6 se aplica prostaglandina F 2α , 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 multiovlación 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).

ASPECTOS ASOCIADOS A LA EFICIENCIA EN EL TRANSPLANTE 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.

MECANISMOS PARA COLECTAR LOS EMBRIONES

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 colectar los embriones se basan en realizar un lavado al interior de los cuernos uterinos para de esta forma poder colectar 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).

CLASIFICACIÓN Y MANIPULACIÓN DE EMBRIONES

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° 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 sincro-

nización 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; Gorlach, 1999; Gonzales & Stagnaro, 2001).

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 sinnúmero de protocolos de sincronización del estro, técnicas de obtención, manipulación y preservación de los embriones, así como de protocolos de multiovlación 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 hacia 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.

SELECCIÓN DE LA HEMBRA RECEPTORA

En el éxito de un programa de TE influyen muchos 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 anomalías (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 el 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 un manejo adecuado de las hembras (Gómez, 2005).

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).

DESARROLLO POST-TRANSPLANTE DEL EMBRIÓN

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 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 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 F₂α, 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).

ACTIVACIÓN DE MECANISMOS LUTEOTRÓPICOS

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 trofoctodermo (Bazer, 1997). Este ejerce un efecto antiluteolítico paracrino en el endometrio, el cual suprime la trascricpción 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 F2 α 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 sustan-

cias que desencadenaría la luteolisis y, por ende, la pérdida embrionaria (Rodríguez, 2001).

ACTIVACIÓN DE MECANISMOS LUTEOLÍTICOS

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 α , 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 α 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 α ; 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 α 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 α 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 α desencadena la activación del sistema inmunológico, ya que estimu-

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).

OTROS FACTORES QUE AFECTAN LA EFICIENCIA REPRODUCTIVA EN LA HEMBRA RECEPTORA DE EMBRIONES

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, la cuales generan disminuciones en la eficiencia reproductiva, en animales a los que se transplanta 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 $PGF_2\alpha$ 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 super ovuladas se considera que el 10% de estadios de mórula y blastocistos presentan este tipo de anormalidades 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 la etapas de su desarrollo (Kawarsky, 1996).

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.

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 razas 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).

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 am-

biente 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-hipofisario-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).

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).

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 las 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 *Trichomona* (Hernández, 2003).

CONCLUSIONES

Dentro de los factores considerados en la aplicación de la técnica biotecnológica de transplante de embriones es importante controlar los factores que afectan la eficiencia de la hembra receptora, realizando una evaluación de las estructuras ováricas, que garanticen al embrión un ambiente adecuado para su desarrollo post-transplante, de tal manera que se mantenga la funcionalidad de los mecanismos luteotrópicos y se evite el desencadenamiento de los mecanismos luteolíticos; así es posible, mejorar los resultados al obtener tasas de preñez mayores en las hembras receptoras tratadas.

El conocimiento de las estructuras ováricas, sus características e interrelaciones en la hembra receptora de embriones, en cuanto al desarrollo folicular y la estructuración y funcionalidad del cuerpo luteo, es fundamental para lograr ofrecer un adecuado medio ambiente uterino al embrión y así contribuir así a mejorar la eficiencia en los programas de transplante de embriones.

BIBLIOGRAFÍA

Adams, G.; Matteri.; R. Gither, O. "Effect of progesterone on ovarian follicles, emergence of follicular waves and circulating follicle-stimulating hormone in heifers". *Journal Reproduction* 37. (1992).

Ahmad, N.; F. Schrick, R.; Butcher.; Inskeep, E. "Effect of persistent follicles on early embryonic losses in beef cows". *Biology Reproduction* 52. (1995).

- Al-Katanani, Y.; Lopez, F.; Hansen, P. "Effect of season and exposure to heat stress on oocyte competence in Holstein cows". *Journal Dairy Science* 85. (2002).
- Araujo, M.; Vale, V.; Ferreira, A.; Sá, W.; Barreto, J., Filho, L. "Secreção de interferon-tau em embriões bovinos produzidos in vitro frescos e congelados. (Interferon tau secretion in cattle embryos in vitro fertilized before and after cryopreservation)". *Archivos Brasileiros de Medicina Veterinaria y Zootecnia* 57. (2005).
- Barnea, E. "Embryo maternal signaling prior to implantation". *Textbook of obstetrics gynecology* I. Munteanu. Argentina: SIEP, 2000.
- Barreto, A. "The effect of progestagen CIDR device on pregnancy rates in bovine embryo transfer recipients". *Theriogenology* 57. (2002).
- Baruselli, P. "Increased pregnancy rates in embryo recipients treated with CIDR-B devices". *Theriogenology* 55. (2001).
- Baruselli, P.; De Oliveira, M. "Últimos 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. "Nuevos avances en los tratamiento de superovulación en donantes de embriones". Congreso internacional de reproducción bovina. INTERVET. Bogotá. Colombia. Septiembre de 2005.
- Baxter, S.; Ward, W. "Incidence of fetal loss in dairy cattle after pregnancy diagnosis using an ultrasound scanner". *Veterinary Record* 140. (1997): 287-288.
- Bazer, F.; Spencer, T.; Ott, T. "Interferon Tau: A novel pregnancy recognition signal". *American Journal Reproduction Immunology* 37. (1997).
- Bergfelt, D.; Bo, G.; Mapletoft, R.; Adams, G. "Superovulatory response following ablation-induced follicular wave emergence in cattle". *Theriogenology* 36. (1994).
- Bó, G.; Hockley, D.; Nasser, L.; Mapletoft, R. Superovulatory response to a single subcutaneous injection of a porcine pituitary extract in beef cattle. *Theriogenology* 42. (1994): 963-975
- Bó, G.; Berfegfet, D.; Brogliatti, G.; Pierson, R.; Mapletoft, R. "Systemic Vs. local effect of exogenous estradiol on follicular development in heifers". *Theriogenology* 45 (1996): 333.
- Bó, G. "Manipulación de la dinámica folicular en ganado bovino: Su aplicación en programas de Transferencia de embriones". II Simposio internacional de reproducción animal. Argentina. 2000.
- Bó, G.; Baruselli, P.; Moreno, D.; Cuaita, L.; Caccia, M.; Tribulo, R.; Mapletoft, R. "The control of follicular wave development for self-appointed embryo transfer programs in cattle". *Theriogenology* 57. (2002): 53-72.
- Bó, G.; Moreno, D.; Cuaita, L.; Caccia, M. "Factores que afectan los porcentajes de preñez en los programas de transferencia de embriones". IV Seminario internacional de reproducción de grandes animales. CGR. Bogotá Colombia. Septiembre de 2003.
- Bungarts, L.; Niemann, H. "Assessment of presence of a dominant follicle and selection of a dairy cows suitable for superovulation by a single ultrasound examination". *Journal Reproduction Fertility* 47. (1994).
- Burges, K.; Kalph, M.; Jenkin, G.; Thorburn, G. "Effect of oxytocin and estradiol on uterine prostaglandin release in nonpregnant and early pregnant ewes". *Biology Reproduction* 42. (1990).
- Diskin, M.; Sreenan, J. "Fertilization and embryonic mortality roles in beef cattle After artificial insemination". *Journal Reproduction Fertility* 59. (1980): 463-468

- Elrod, C.; Butler, W. "Reduction of fertility and alteration of uterine pH in heifers fed excess ruminally degradable protein". *Journal Animal Science* 71. (1993).
- Garrett, J.; Geisert, R.; Savy, M.; Morgan, G. "Evidence for maternal regulation of early conceptus growth and development in beef cattle". *Journal Reproductive Fertility* 84. (1988).
- Gómez, C. "Transferencia de embriones experiencias en Colombia". Memorias, congreso internacional de reproducción bovina. INTERVET Bogota. Colombia. Septiembre de 2005.
- Gonzales-Stagnaro, C. *Reproducción bovina*. Venezuela: Fundación Girarz, 2001.
- Gordon, I. *Reproducción controlada del ganado vacuno y búfalos*. España: Acribia, 1999.
- Gorlach, A. *Transferencia de embriones en el ganado vacuno*. España: Acribia, 1999.
- Grasso, F.; Guilbault, L.; Roy, G.; Lusier, J. "Ultrasonographic determination of ovarian follicular development in superovulated heifers pretreated with FSH-P at beginning of the estrous cycle". *Theriogenology* 31. (1989): 1209-1220.
- Hafez E. *Reproducción e inseminación de los animales domésticos*. 7ª ed. Reproductive Health Center IVF/Andrology International. Kiawah Island, South Carolina, USA: McGraw – Hill Interamericana. 2000: 33 – 144.
- Hamilton, W.; Kaing, J. "Development of egg of the cow up to the stage of blastocyst formation". *Journal Anatomy* 80. (1986).
- Hansen, T.; Austin, K.; Perry, D.; Pru, J.; Teixeira, M.; Johnson, G. "Mechanism of action of interferon-tau in the uterus during early pregnancy". *Journal Reproduction Fertility* 54. (1999).
- Hasler, J.; McCualey, A.; Schermerhorn, E.; Foote, H. "Superovulatory responses in Holstein cows". *Theriogenology* 19. (1993): 83-99.
- Hasler, J., "Factors affecting frozen and fresh embryo transfer pregnancy rates in cattle". *Theriogenology* 56. (2001): 1401-1415.
- Hernández, A. *Lecturas sobre reproducción bovina*. Aspectos morfológicos de la implantación. Universidad Nacional de Colombia Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. 1995.
- Hernández, A.; Escobar, F. Vásquez. *Mortalidad embrionaria en bovinos*. Documento conceptual. 2003.
- Huertas, I.; Huertas, V. *Manual práctico y moderno de inseminación artificial*. Transferencia de embriones. Reproducir LTDA. 1991.
- Jiménez, C. "Congreso Internacional de reproducción bovina. Enfermedades transmisibles por la técnica de transferencia de embriones". INTERVET. Bogotá. Colombia. Septiembre de 2005.
- Kawarsky, S.; Basrur, P.; Stubbings, R.; Hensen, P.; King, W. "Chromosomal abnormalities in bovine embryos and their influence on development". *Biology Reproduction* 54 (1996).
- King, W. "Chromosome abnormalities and pregnancy failure in domestic animals". *Advance Veterinary Science Compendium* 34. (1990).
- Lequarre, A.; Vigneron, C.; Ribaucour, F.; Holm, P.; Donay, I.; Dalbies, R.; Callesen, H.; Mermillod, P. "Influence of antral follicle size on oocyte characteristics and embryo development in the bovine". *Theriogenology* 63. (2005): 841-859.
- Martal, J.; Chêne, N.; Camous, S.; Huynh, L.; Lantier, F.; Hermier, P.; Haridon, P.; Charpigny, G.; Charlier, M.; Chaouat, G. "Recent developments and potentialities for reducing embryo mortality in ruminants: the role of IFN- τ and other cytokines in early pregnancy". *Reproduction Fertility* 247. (1997).
- Nigro, M.; Burri, E.; Bo, G. "Respuestas superovulatorias utilizando el tratamiento de CIDR-B y

- estradiol-17 β en programas comerciales de transferencia de embriones". II Simposio internacional de reproducción animal, Argentina 1996.
- Nigro, M.; Burri, E.; Villata, M.; Bó, G. "Effect of different estrogen and progestagen treatments on superovulatory response in beef and dairy cattle". *Theriogenology* 57. (2002).
- Oliphant, G.; Reynolds, S.; Smith, P.; Marta, J. "Immunocytochemical localization and determination of hormone, induced synthesis of the sulfated oviductal glycoproteins". *Biology Reproduction* 31. (1984).
- Palma, G. *Biología de la reproducción*. Balcaré. Argentina: INTA, 2001.
- Robinson, J.; Sinclair, K.; McEvoy, T. "Nutritional effects on foetal growth". *Animal Science Journal* 68. (1999).
- Rodríguez, J. *Mecanismos para el reconocimiento materno de la preñez en la vaca*. Venezuela: Fundación Girar, 2001.
- Ross, S.; McCaffery, P.; Drager, U.; De Luca, L. "Embryonal development". *Physiological Reviews* 80. (2000): 1021-1954.
- Schallenberger, E.; Ulrich, P.; Mostl, E.; Fuchs, S.; Tanhumberg, H. "Induction of superovulation in cattle comparing single subcutaneous and repeated epidural with standard intramuscular administration of FSH". *Theriogenology* 41. (1994): 290.
- Schroeder, H. "Nutrición y sanidad en la biotecnología". Simposio internacional biotecnología reproductiva y repoblamiento de la ganadería colombiana. Universidad San Martín. Bogotá. Colombia. 2005.
- Spell, A. Beal, W.; Corah, L.; Lamb, G. "Evaluating recipient and embryo factors that affect pregnancy rates of embryo transfer in beef cattle". *Theriogenology* 56. (2001): 287-297.
- Spencer, T.; Burghardt, R.; Johnson, G.; Bazer, F. "Conceptus signals for establishment and maintenance of pregnancy". *Animal Reproduction Science* 82 (2004): 537-550.
- Stingfellow, D. *Manual de la Sociedad Internacional de Transferencia de Embriones* (I.E.T.S.). Illinois U.S.A: 2000.
- Thatcher, W.; Staples, C.; Danet, G.; Oldick, B.; Schmitt, P. "Embryo health and mortality in sheep and cattle". *Journal Animal Science* 72. (1994).
- Tribulo, H. Curso de post-grado en reproducción bovina. Modulo IV. Transferencia de embriones. CGR. Biotecnología reproductiva. Bogotá. Colombia. Febrero de 2002.
- Vanroose, G.; Kruif, A.; Van Soom, A.; "Embryonic mortality and embryo-pathogen interactions". *Animal Reproduction Science* 60 (2000): 131-143
- Vasconcelos, J.; Sartori, R.; Oliveira, H.; Guenther, J.; Wilbank, M. Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate. *Theriogenology* 56. (2001): 307 – 314.
- Zanenga, C.; Marquez, M.; Santos, I.; Valentin, R.; Baruselli, P. 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. 2003.