

NOTA TECNICA

Experiencias en el uso de la transferencia de embriones para crear un hato Girolando en Pococí, Costa Rica¹

Roger Molina-Coto^{A2}, Juan Ignacio Herrera-Muñoz^{A3}, Carlos Arroyo-Oquendo^{A4}, Daniel Carballo-Guerrero⁵

RESUMEN

Durante los años 2012-2017 se aplicó la técnica de multiovulación y transferencia de embriones (MOET) en animales Holstein y Girolando F1 en la Unidad de Reproducción Animal (URA), de la Escuela de Zootecnia de la Universidad de Costa Rica, para la creación y evaluación de un hato Girolando en las condiciones del Atlántico costarricense. Las hembras donantes de embriones se seleccionaron tanto en fincas externas como en la URA. La selección en fincas externas se realizó a través de la información de los registros de raza y de finca, mientras que en URA, a través de los datos de lactancia y desarrollo de las crías. Además, se realizó una estimación parcial de costos para la producción de embriones. En los animales evaluados en URA, como parte del análisis para la selección de donantes de embriones, el promedio de producción diaria de leche fue de 11,1 kg, con una duración de la lactancia promedio de 296 días, a 1 ordeño diario y con ternero al pie. El destete de las crías se realizó a los 7 meses de edad, con un peso promedio de las crías de 255 kg (promedio de 244 kg en hembras y 262 kg en machos). En total, tanto en URA como en fincas externas, se realizaron 38 colectas en 24 donadoras seleccionadas, de las cuales se colectaron 381 estructuras, un 73,5 % fertilizadas y un 26,5 % infertilizadas. De aquellas estructuras fertilizadas (embriones), un 47,3% fueron consideradas transferibles (calidad 1 y 2 de acuerdo a la Sociedad Internacional de Transferencia de Embriones, IETS), para un promedio general de 4,8 embriones transferibles por colecta. Se realizaron 83 transferencias de embrión en fresco y 34 transferencias de embriones congelados, de los cuales se obtuvo tasas de preñez de 33,7% (28/83) y 5,9% (2/34), respectivamente. Las bajas tasas de preñez obtenidas, comparadas con lo visto en literatura, no son resultados normales, pero son las relacionadas con este estudio en particular. El costo para producir un embrión, por concepto de productos consumibles, hormonales y semen fue de US\$62,5 dólares. La producción y transferencia de embriones colaboró en la creación y

¹Proyecto 739-B4-252 inscrito en la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica.

^A Universidad de Costa Rica. Facultad de Ciencias Agroalimentarias, Escuela de Zootecnia. San José, Costa Rica.

² Autor para correspondencia: roger.molina@ucr.ac.cr (<https://orcid.org/0000-0003-3844-2587>).

³ juanignacio.herrera@ucr.ac.cr (<https://orcid.org/0000-0001-5004-0826>)

⁴ carlos.arroyo@ucr.ac.cr

⁵ Universidad EARTH. Limón, Costa Rica. Correo electrónico: dcarballo@earth.ac.cr (<https://orcid.org/0000-0002-6184-8342>)

Recibido: 30 noviembre 2019 Aceptado: 16 noviembre 2020

Esta obra está bajo licencia internacional Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObrasDerivadas 4.0.



desarrollo del hato Girolando de la Unidad de Reproducción Animal de la Universidad de Costa Rica.

Palabras clave: Bovino, ganado doble propósito, MOET

ABSTRACT

Experiences in the use of embryo transfer for the creation of a Girolandoherd in Pococí, Costa Rica. During the years 2012-2017 Multiovation and Embryo Transfer (MOET) technique was applied in Holstein and Girolando F1 animals at the Animal Reproduction Unit (URA), of the Escuela de Zootecnia of the University of Costa Rica, with the aim to create and evaluate a Girolando herd in the Costa Rican Atlantic. Female embryo donors were selected at external farms and URA. Selection in external farms was done through the information of breed herd books and farm records, while in URA, through the data of lactation and performance of the offspring. In addition, an estimation of partial costs of embryo production was obtained. URA evaluated animals, as part of the embryo donors selection, showed an average daily milk production of 11.1 kg, with an average lactation length of 296 days, on a single daily milking and with a calf at the cow side. The weaning was carried out at 7 months of age, with an average weight of 255 kg (244 kg for females and 262 kg for males). Overall, in both URA and external farms, 38 collections were done in 24 selected donors, from which 381 structures were collected, 73.5% fertilized and 26.5% unfertilized. From those fertilized structures (embryos), 47.3% were considered transferable (quality 1 and 2 according to the International Society of Embryo Transfer, IETS), for an overall average of 4.8 transferable embryos per collection. 83 fresh embryo transfers and 34 frozen embryo transfers were performed, from which 33.7% (28/83) and 5.9% (2/34) pregnancy rates were obtained, respectively. The low pregnancy rates obtained, compared to literature reports, are not normal results, but are related to this particular study. The production cost of an embryo, due to consumables, hormones and semen was US\$62.5 dollars. Production and embryo transfer technique collaborated in the creation and development of the Girolando herd of the Animal Reproduction Unit of the University of Costa Rica.

Keywords: Bovine, dual purpose cattle, MOET

INTRODUCCIÓN

La tecnología de producción y transferencia de embriones (TE) bovinos dio sus primeros pasos en la década de 1950 y para 1970 el avance fue suficiente para que algunos países desarrollados la utilizaran comercialmente (Hasler, 2014; Colazo y Mapletoft, 2017). La tecnología consiste en someter a una hembra de genética superior, a un tratamiento hormonal que induce una multiovulación o superovulación, con el fin de obtener múltiples ovocitos, a diferencia de un ciclo estral normal. Estos ovocitos pueden ser fertilizados "*in vivo*" y luego se colectan los embriones por medio de un lavado uterino. También existe otra técnica para producción de embriones que es la fertilización "*in vitro*" donde la fecundación y desarrollo del embrión es fuera del animal (Phillips y Jahnke, 2016). Los embriones son posteriormente transferidos en vacas receptoras, las cuales han sido identificadas como animales sanos, fértiles y con buena capacidad materna.

Mientras la criopreservación del semen e inseminación artificial (IA) permiten la mejora genética acelerada a través de la línea paterna, la TE, permite la mejora genética a través de la línea paterna y de la materna al obtener más de una cría de una hembra élite por año. Adicionalmente, se abre la puerta a otras posibilidades, como nuevos modelos de investigación, facilidad en la exportación e importación de material genético e inclusive al control de enfermedades al evitar la contaminación vertical en algunos casos (Colazo y Mapletoft, 2017).

La técnica de multiovulación y transferencia de embriones (MOET, por sus siglas en inglés) ha avanzado en el tiempo, pues los procedimientos que utiliza en la actualidad son más sencillos y menos invasivos que en sus inicios (García et al., 2017). Sin embargo, el número de embriones transferibles por colecta se ha mantenido muy estable desde hace más de 40 años (Mapletoft y Bó, 2011; Hasler, 2014). Esto, limita la posibilidad de diluir los costos de una técnica que implica una inversión considerable. Según Hasler (2010), con datos de las Asociaciones Americana y Canadiense de Transferencia de Embriones Bovinos, la media de embriones obtenidos por colecta se encuentra en el rango de 5-7, siendo levemente superior en razas cárnicas (promedio 6,6) con respecto a razas lecheras (promedio 5,7).

Los resultados de la técnica en la forma de embriones transferibles obtenidos y tasas de preñez pueden llegar a ser muy variables, inclusive entre animales sometidos a los mismos protocolos en el mismo sitio, debido a la multiplicidad de factores que afectan el producto final (ambiente, individuo, evaluador, semen, metabolismo animal y otros) (Machaty et al., 2012; Mandawala et al., 2016). Sin embargo, algunos autores señalan que la tecnología alcanzada es bastante confiable y que muy bajas tasas de preñez son generalmente atribuidas a factores relacionados al manejo y condiciones de los mismos animales (Hasler, 2014; Abdelatty et al., 2018).

Por su parte, la raza Girolando es una raza sintética con una composición genética 5/8 Holstein y 3/8 Gyr, utilizada principalmente en sistemas doble propósito y de lechería

especializada (Passini et al., 2014). La raza fue desarrollada en Brasil entre los años 1989 - 1996 con el fin de obtener un animal que mezclara la capacidad productiva de una raza lechera por excelencia y la resistencia de una raza cebuina adaptada al clima del trópico del sudeste Brasileño (Passini et al., 2014). En general, la raza Girolando se utiliza en sitios de condiciones ambientales adversas para razas especializadas en producción de leche, se ha observado un desempeño satisfactorio con cría al pie, lo cual confirma a esta raza en una alternativa para la producción doble propósito (Delgado et al., 2012).

Facó et al. (2002) estimaron algunos parámetros de interés productivo para la raza, lo realizaron con datos de la Asociación Brasileña de Criadores de Girolando y a partir de registros de más de 3.500 lactancias en distintos sistemas de producción. Para sistemas semi-intensivos (con suplementación alimenticia), se calculó una producción por lactancia promedio de 2.902 kg de leche, en lactancias de 229 días de duración, lo cual representa una producción diaria promedio de 12,7 kg.

En Costa Rica, la información sobre la raza Girolando es escasa, sin embargo, el uso de esta genética ha crecido en los últimos años en el país, esto hizo que el Poder Ejecutivo emitiera el acuerdo 004 (Gaceta 177) donde le otorgaba el Registro Genealógico de Ganado Girolando a la Asociación de Criadores de Ganado Holstein de Costa Rica (SCIJ, 2020).

En la Unidad de Reproducción Animal (URA) de la Universidad de Costa Rica, en Guápiles, Pococí se consideraron las bondades de la raza Girolando para la producción doble propósito (leche y carne) del país y desde el año 2012 se comenzó a generar datos sobre la respuesta a la técnica de multiovulación y transferencia de embriones (MOET) para crear un hato Girolando en la región Huetar Atlántica de Costa Rica. El objetivo de este estudio fue recopilar las experiencias tenidas en la creación del hato Girolando para que sirva como referencia para los ganaderos del país interesados en la raza.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las actividades realizadas corresponden al proyecto 739-B4-252 de la Vicerrectoría de Investigación y fueron aprobadas por el Comité Institucional de Cuido y Uso de Animales (CICUA) de la Universidad de Costa Rica. Los datos se recolectaron desde enero del año 2012 a Octubre del año 2017.

Ubicación

Los procesos de producción y transferencia de embriones fueron realizados (en su mayoría) en la Unidad de Reproducción Animal (URA), en las instalaciones de la Finca de Producción Animal de la Escuela de Zootecnia de la Universidad de Costa Rica. La Finca de Producción Animal se desarrolla bajo el convenio de cooperación entre el Instituto Nacional de Innovación y Transferencia de Tecnología Agropecuaria (INTA), el Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG) y la Universidad de Costa Rica (UCR), ubicada en la Estación Experimental Los Diamantes en Guápiles, Pococí. Se localiza a 10°13' N y 83°46' O y presenta una altitud de 249 m.s.n.m. Tiene una precipitación promedio anual de 4.577 mm/año, una humedad relativa promedio de 87% y una temperatura promedio de 24,5°C (IMN, 2017).

Además de la multiovulación, colecta y transferencia de embriones que se realizó en la URA, se realizaron trabajos en fincas particulares en San Ramón de la Unión de Cartago, Palmira de Zarcero de Alajuela y Turrialba, Cartago. Las dos primeras locaciones ajenas a URA se caracterizan por un clima apto (fresco) para animales de lechería especializada y la tercera requiere de animales mejor adaptados al trópico. En cualquiera de las locaciones, se utilizó una bodega u oficina para el trabajo de cuantificación, clasificación y procesamiento de los embriones obtenidos. El trabajo con los animales se realizó en un cepo o manga.

Selección de donantes de embriones

En fincas externas

Se realizaron convenios con tres productores lecheros (dos que utilizan la raza Holstein y uno con Girolando F1), esto con el objetivo de transferir la genética de las fincas de los productores a URA en forma de embriones. Dichos productores se eligieron por contar con fincas reconocidas por su buen manejo general, calidad genética e información detallada de sus animales, es decir, información de registros tanto a nivel de raza como de finca. Como requisito sanitario indispensable, los animales debían pertenecer a una finca con el certificado de Hato Libre de Tuberculosis y Brucelosis, emitido por el Servicio Nacional de Salud Animal (SENASA) de Costa Rica. En las vacas multíparas, se buscó que tuvieran una historia reproductiva de partos con un intervalo entre parto menor a 14 meses y que se encontraran dentro del grupo élite de producción de leche en cada finca. En el caso de animales primíparas, se seleccionaron con base en el registro de sus ancestros, utilizando los mismos criterios de madre que se utilizaron para vacas multíparas. Se realizó una inspección física de los animales para evaluar características de raza, rasgos de tipo, condición corporal y también se realizó exploración ovárica a través de ultrasonido, seleccionando animales que estuvieran ciclando y con útero y ovarios desarrollados. En total, de otras fincas, se utilizaron 16 hembras como donantes.

En la Unidad de Reproducción Animal

Para conformar el hato Girolando en URA, se realizó la compra de vacas Girolando F1 en una finca del cantón de Pococí, los animales nacieron en una zona alta de la provincia de Heredia, pero se trasladaron a Pococí donde se desarrollaron y preñaron. La mayoría de estos animales llegaron a parir a URA. También se compró otro grupo de vacas Girolando F1 provenientes de Paraíso de Cartago. Adicionalmente, en URA, se contaba con las crías Girolando F1, provenientes de las colectas de embriones previamente realizadas en las fincas externas.

De estos grupos de animales, una vez paridas, se registró diariamente la producción de leche y se evaluó el desarrollo de sus crías por medio del peso al destete. Las hembras fueron sometidas a un ordeño diario, con ternero al pie destetado a los 7 meses de edad. Paralelamente, se realizó una evaluación de sus características de ubre, aplomos y docilidad. La cría permaneció con su madre de las 8 a.m. a las 2 p.m., desde el nacimiento hasta el destete.

En general, las hembras disponibles en URA se fueron preñando como receptoras de embrión o utilizadas como donantes de embriones. En total, se evaluaron 36 vacas como potenciales donadoras de embriones. De éstas se eligieron 7 vacas Girolando F1 para realizar multiovulación, el resto como receptoras.

El manejo de hato que implica la producción y transferencias de embriones, aunado a la eficiencia de la técnica, no permitió generar parámetros de desempeño reproductivo que puedan ser representativos de un hato con sangre Girolando, se espera en un futuro, con el hato consolidado, se puedan hacer reportes de días abiertos, servicios por concepción e intervalo entre partos.

Selección de receptoras de embriones

La transferencia de embriones se realizó únicamente en la URA, por tanto, se hizo con los animales presentes que no calificaron como donantes de embriones o que sí calificaron y no produjeron embriones, pero que presentaron habilidad materna y sanidad. Esto se realizó en las 36 vacas del hato.

Selección de machos

Durante el proyecto, solamente se utilizó la técnica de inseminación artificial como medio para la fertilización de los embriones. El semen de los machos utilizados como donadores fue importado y todos contaron con una evaluación genética de una asociación oficial de su respectivo país. Dos de los toros Gyr utilizados provenían de Estados Unidos; hasta que se abrió la importación de semen de Brasil se comenzó a utilizar material genético de ese país (también dos toros). Para la selección del toro a utilizar, se consideró tanto el material genético disponible para el momento de la colecta, como las características de las vacas sometidas al protocolo.

Alimentación

Las donantes de embriones de las fincas externas a URA siguieron el manejo nutricional de rutina en cada una de las fincas, el cual consistió en una base de forraje en pastoreo, minerales, alimento balanceado y algunos subproductos agroindustriales como cáscara de banano y subproductos de yuca.

En URA, la alimentación fue: pastoreo de *Panicum maximum* cv. Mombaza e *Ischaemum indicum* (Ratana), alimento balanceado según la cantidad de leche ordeñada (2 kg para aquellas que se les ordeñó menos de 10 kg leche y 3 kg a aquellas que produjeron 10 o más kg de leche ordeñada por día) y subproducto industrial de banano maduro (cáscara) (aproximadamente 5kg/vaca/día).

Tratamientos hormonales para la técnica MOET

Para la multiovulación de las hembras donantes de embriones, se utilizó el protocolo hormonal que se presenta en la Figura 1, similar al empleado por Molina-Coto et al., (2018). Este protocolo permite iniciar las donadoras en cualquier momento del ciclo, pues ignora el momento de la onda folicular al promover la atresia del folículo dominante y originar una nueva onda (Mapletoft y Bó, 2011). En el caso de las hembras Holstein, se utilizó el mismo protocolo que se muestra en la Figura 1 para hembras Girolando F1, excepto en que la dosis de hormona folículo estimulante (FSH) se incrementó proporcionalmente por día para llegar a una dosis final de 400 mg.

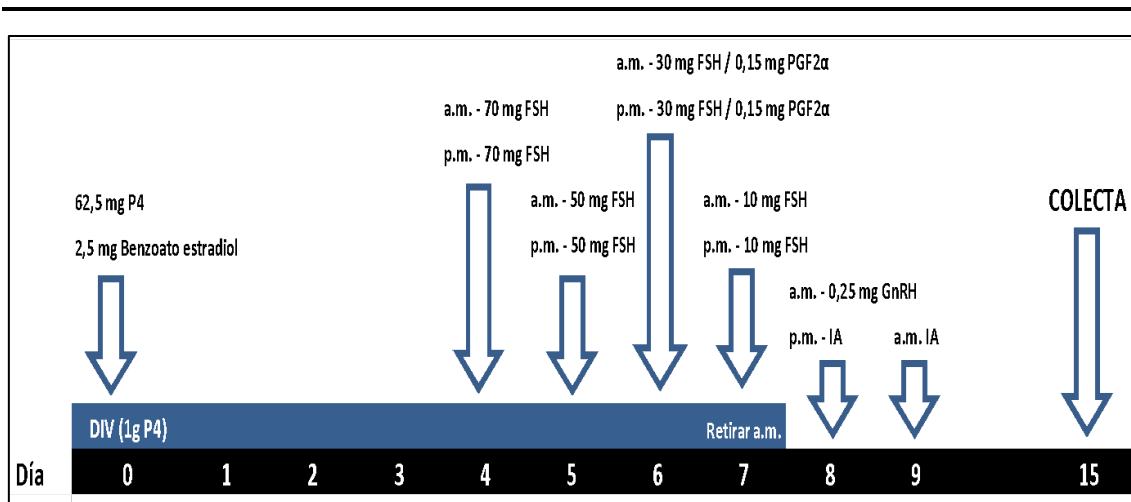


Figura 1. Protocolo de sincronización y multiovulación utilizado en vacas donadoras de embriones Girolando F1. P4: Progesterona; DIV: Dispositivo intravaginal; FSH: Hormona folículo estimulante; PGF_{2α}: Prostaglandina F_{2α}(Cloprostenol dextrógrira); GnRH: Hormona liberadora de gonadotropinas (acetado de gonadorelina).

La transferencia de embriones se realizó en vacas receptoras manejadas en grupos a los que se sincronizó el celo para hacer transferencia en fresco o de embriones congelados. El protocolo hormonal utilizado para tal fin se presenta en la Figura 2.

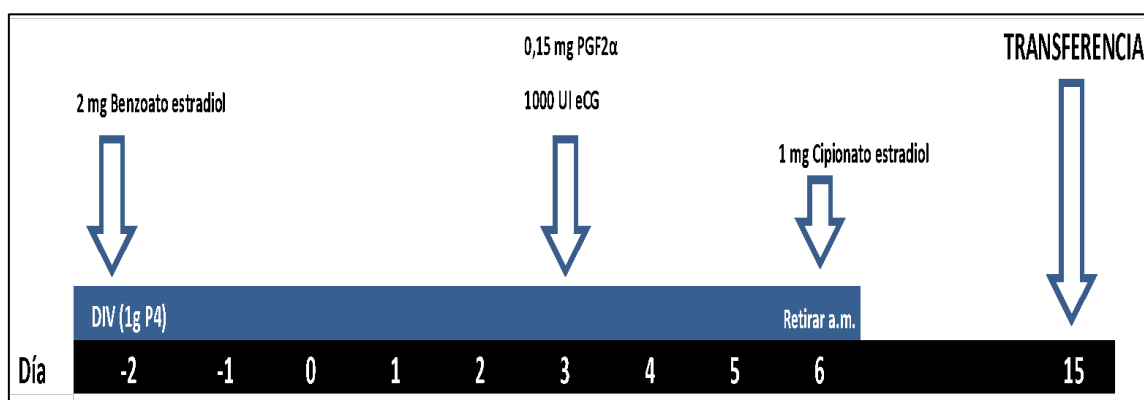


Figura 2. Protocolo de sincronización de vacas receptoras de embriones. DIV: Dispositivo intravaginal; P4: Progesterona; PGF_{2α}: Prostaglandina F_{2α} (Cloprostenol dextrógrira); eCG: Gonadotropina coriónica equina. El día 0 de este protocolo coincide con el día 0 del protocolo de la Figura 1.

Evaluación y destino del producto colectado de las donantes de embriones

Para las colectas de embriones, las estructuras se recuperaron del útero con 6 - 7 días post servicio por medio del método no quirúrgico, validado desde finales de la década de los 70, con la utilización de un catéter Foley (Mapletoft, 1985). Se utilizó una infusión de 2,2 L de lactato de ringer con 10% de solución búfer fosforada (PBS) por hembra colectada. La selección y clasificación de las estructuras se realizó como indica Bó y Mapletoft (2013). Dicha clasificación, evalúa las características físicas del embrión evaluadas bajo el lente de estereoscopio, separa los ovocitos de las estructuras fertilizadas, estos últimos, son clasificados en una escala de 1 a 4, siendo la calidad 1 la mejor. Únicamente las estructuras tipo 1 y 2 fueron transferidas en fresco y solamente fueron congeladas las grado 1 para ser posteriormente transferidas. Estructuras calidad 3 y 4 fueron descartadas en su totalidad. La evaluación de las estructuras se realizó en un estereomicroscopio con una magnificación de 10X para ubicar las estructuras y de 50X para discriminar entre estructuras y sus calidades con base en sus aspectos físicos y desarrollo. Las transferencias de embriones, se realizaron tanto en URA, tanto en fresco como congelado, según cantidad de embriones colectados y disponibilidad de receptoras. De los embriones provenientes de fincas externas, sólo en una ocasión se realizó transferencia en fresco, se trajeron los embriones frescos de la finca de San Ramón de la Unión, para ser transferidos en Guápiles (URA) el mismo día, posterior al transporte de 72 km de un lugar a otro y con una duración 6 horas desde que se alistaron hasta que se transfirieron los embriones.

Los embriones destinados a criopreservación, se congelaron en etilenglicol más sacarosa con el uso de una congeladora comercial diseñada para dicho fin, con el protocolo de congelación de embriones que recomienda el fabricante, iniciando la rampa de congelado en -6°C con un descenso de 0,5°C/min y terminando la rampa en -35°C, posterior a esto se pasaron a nitrógeno líquido y se almacenaron a la temperatura del nitrógeno líquido (-196 °C) en un termo hasta ser utilizados.

Las hembras donantes que fueron colectadas en más de una ocasión durante el ensayo, contaron con periodos de descanso de 60 días entre cada colecta.

Evaluación económica

Cálculo de costo por embrión producido

Debido a que los trabajos de producción, colecta y transferencia de embriones fueron realizados por colaboradores de la empresa privada Asistencia Veterinaria de Costa Rica y por funcionarios de la Escuela de Zootecnia, Universidad de Costa Rica, aunado a la estructura administrativa de la misma universidad y porque, en este caso, no hay forma

de valorar el componente genético aportado desde URA y desde las fincas particulares. Los costos de producción por embrión se calcularon considerando únicamente el valor de los consumibles y productos hormonales utilizados combinado con el rendimiento obtenido en el ensayo, es decir, fue un análisis de costos parciales.

Indicador económico por lactancia

Se elaboró un indicador que refleja el aporte económico de cada vaca cuando se consideran todos sus productos (producción de leche y cría durante la misma lactancia o parto). Se tomó como referencia un precio de US\$0,53/kg de leche y US\$2,11/kg de peso vivo al destete (CORFOGA, 2017), a un tipo de cambio de ₡570 por dólar.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Evaluación Productiva de Potenciales Donadoras de embriones en URA

Producción de leche

En la Figura 3 se observan los resultados de producción de leche de vacas Girolando F1 en URA. Los datos corresponden a 30 potenciales donadoras de URA, en la figura se detalla la primera lactancia completa de las vacas en este lugar (producción diaria y duración de la lactancia promedio). De las 36 potenciales donadoras de embriones, solamente a 6 no se les registró datos de lactancia, debido a problemas de temperamento o muy baja producción (suficiente solamente para el ternero) es decir, fueron parte de una preselección que las eliminó como candidatas a donadoras.

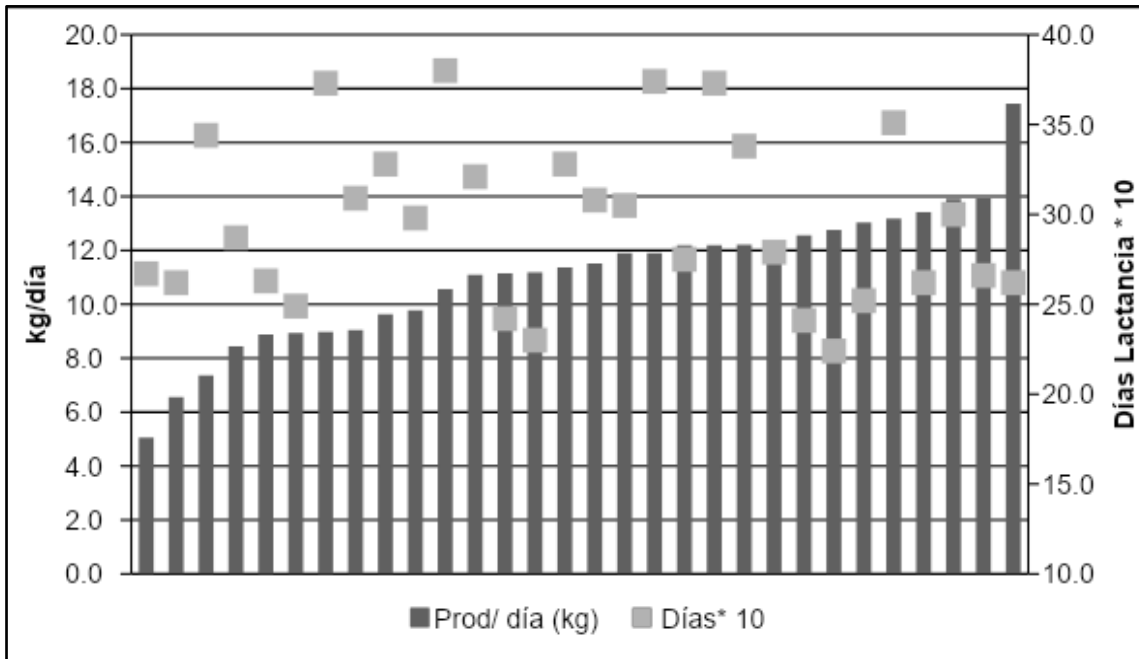


Figura 3. Datos de producción promedio diaria de leche y longitud de lactancia promedio de la primera lactancia de cada una de las vacas Girolando F1 del estudio.

El promedio de producción de las 30 vacas evaluadas fue de 11,1 kg/día, con una duración promedio de la lactancia de 296 días, la producción por día es similar a la reportada por Facó et al. (2002), sin embargo, en este estudio el promedio de longitud de lactancia fue mayor por 67 días. Hasta donde se conoce, en Costa Rica no hay datos de producción para este grupo racial que hayan sido publicados.

En cuanto al comportamiento observado de las curvas de lactancia (Figura 4), y sin haber ajustado los datos a un modelo estadístico, se obtuvo que la producción al pico de lactancia generalmente fue alcanzado antes de los primeros 45 días. Según Vargas y Ulloa (2008), el momento del pico de lactancia y el nivel absoluto del mismo, son altamente dependientes de factores raciales y genéticos y reportan valores para Holstein de 59 días y Jersey de 43 días a través de distintas zonas agroecológicas de Costa Rica. Esto podría indicar que la combinación racial Girolando F1, a pesar de contar con otro tipo de sangre, podría parecerse más al ganado Jersey en cuanto al comportamiento de su curva de lactancia. También se puede observar alta persistencia (94% promedio mensual, calculada como el promedio de producción de un día de cada mes con respecto al mes anterior a partir del pico de producción), al no presentar una caída abrupta a lo largo de la lactancia. Datos reportados (Jacopini et al., 2012) señalan el pico de lactancia en Girolando a los 38 días, lo cual es similar al reportado por este estudio. En el caso de la duración de lactancia, los mismos autores reportan una duración menor (255 días) pero una producción promedio mayor de 3.695 kg por lactancia, versus los 296 días de lactancia y

3.285,6 kg totales promedio por lactancia (a partir de la sumatoria de las mediciones diarias de leche) obtenidos en este estudio. En este estudio, entre los 208 y 231 días de lactancia se da una caída de la producción, probablemente debido al estrés de la separación total de la cría (destete) y a la falta de estímulo por parte de la cría para la bajada y producción de leche.

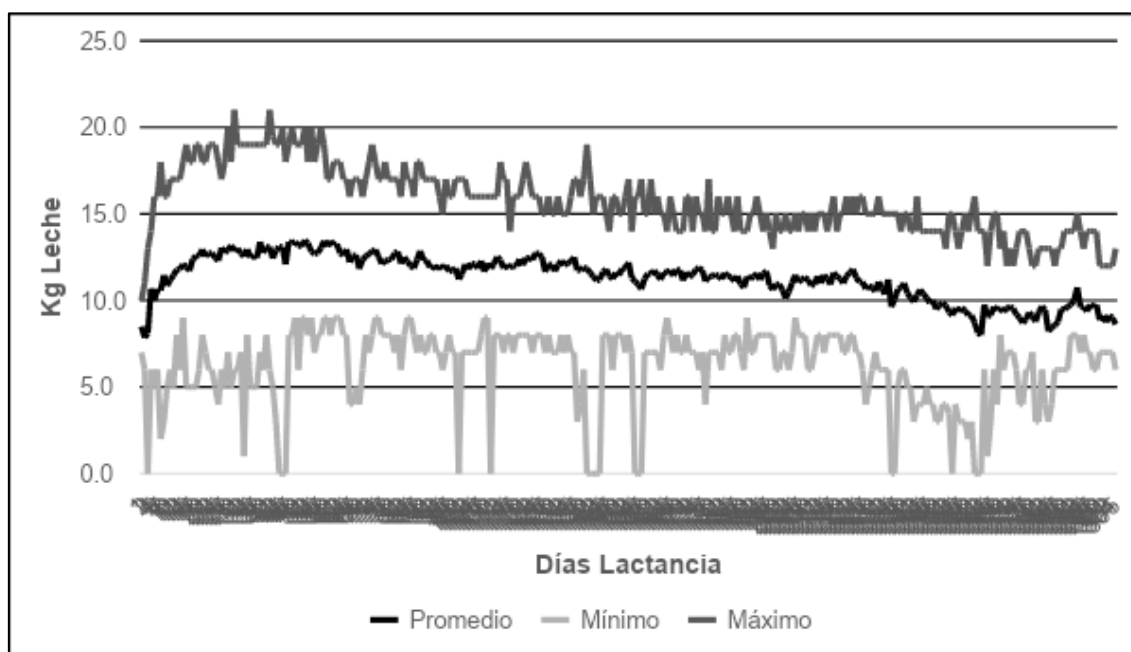


Figura 4. Curva de lactancia de los 30 animales Girolando F1 evaluados en el proyecto, valores promedio, máximos y mínimos en cada uno de los días de la primera lactancia.

Desempeño de las crías

El peso al nacimiento de las crías y pesos al destete es información que permite evaluar el desempeño de las vacas, se considera su capacidad de producción láctea y su habilidad materna; todos factores que juegan un papel en el retorno económico que pueda obtener el ganadero (Córdova et al., 2005). En este proyecto, los pesos al destete aproximadamente a 7 meses fueron de $244,7 \pm 34,4$ kg para hembras, $262,6 \pm 48,2$ kg para machos y $255 \pm 42,8$ kg general. En cuanto a estos parámetros la información en el país es escasa, sin embargo, WingChing-Jones (2017) reporta en fincas comerciales de la zona sur de Costa Rica, pesos al destete en ganado de carne de apenas 178 kg, por su parte, en fincas de ganado puro Brahman, se reporta 191 kg al destete en sistemas de pastoreo y 246 kg al destete en sistemas de pastoreo con suplementación (Vásquez-Loaiza, 2018).

Indicador económico por lactancia

En la Figura 5, se presenta el indicador económico (ingresos brutos por lactancia) de 21 vacas evaluadas. El promedio del indicador económico por lactancia, por vaca, fue de US\$2.303. En promedio, la producción láctea representó un 78,6% y el ingreso por la venta de la cría el 22,4% del total del ingreso por lactancia. Esto refuerza la necesidad de hacer una correcta selección de animales y un manejo nutricional adecuado de las hembras lactantes porque es donde se genera la mayor cantidad de ingresos. A su vez, no descuidar las crías que también aportan y que en algunos casos serán los reemplazos de la finca.

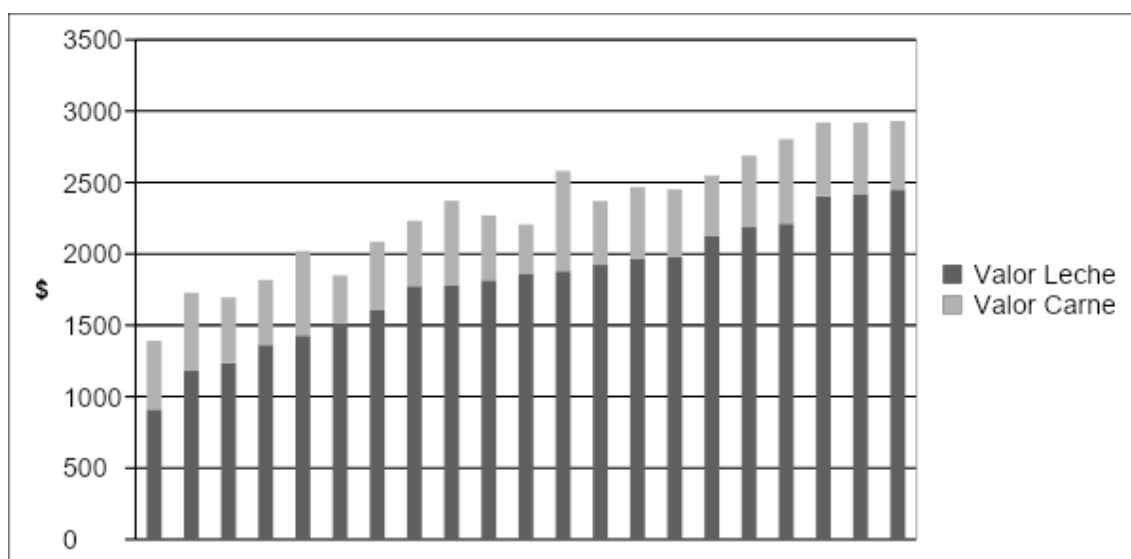


Figura 5. Índice de valor económico por lactancia, incluye los ingresos brutos por producción láctea y de carne (cría) para cada una de las vacas evaluadas (cada barra vertical representa la primera lactancia de una vaca)

Colecta de embriones y calidad de las estructuras colectadas

Se realizaron un total de 38 colectas a 24 vacas donadoras de embriones, de las cuales en total se recuperaron 381 estructuras (embriones u ovocitos). De éstas, un 73,5% (280) se encontraron fertilizadas y un 26,5% (101) infertilizadas. En la Figura 6 se aprecia la relación de estructuras fertilizadas e infertilizadas según grupo racial (Holstein y Girolando F1). Al separar el análisis entre donadoras raza Holstein y el cruce Girolando F1, se observa una diferencia porcentual de más del doble de estructuras infertilizadas a favor de las vacas Girolando F1.

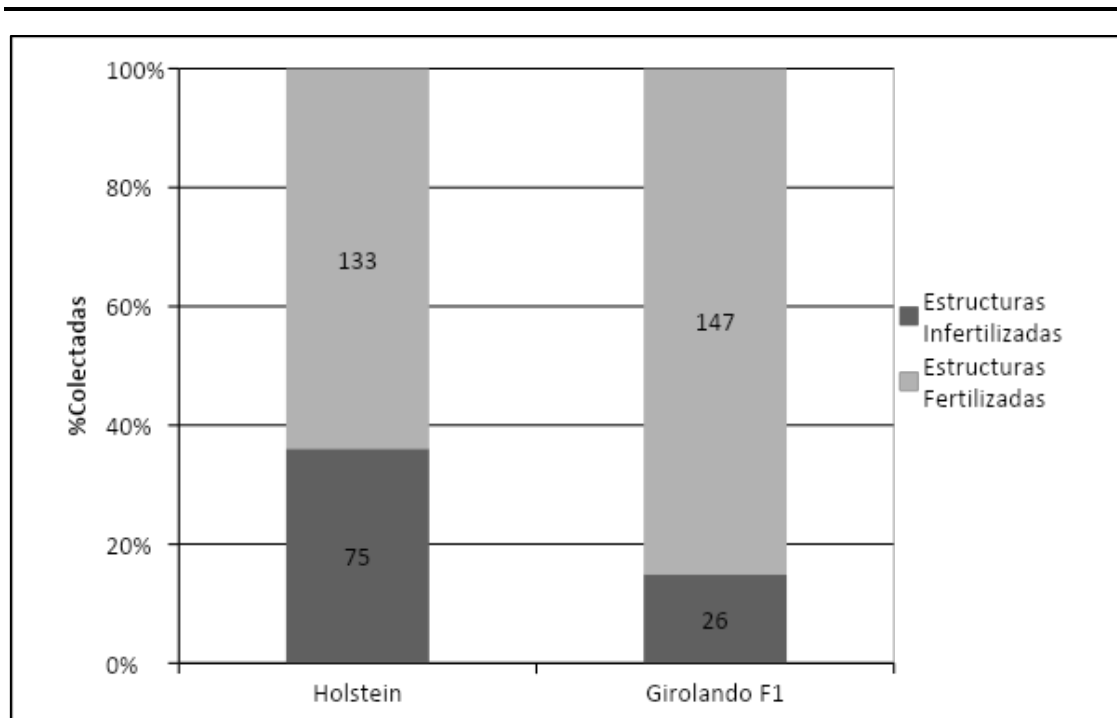


Figura 6. Porcentaje de estructuras fertilizadas e infertilizadas por grupo racial.

En promedio (\pm desviación estándar), por colecta se obtuvo $10,0 \pm 6,8$ estructuras totales, $7,4 \pm 6,8$ fértiles y $4,8 \pm 5,8$ transferibles. Al realizar el análisis por grupo racial (Figura 7), se observa que el número de estructuras totales colectadas fue similar entre los grupos raciales, sin embargo, se presentó mayor proporción de estructuras fertilizadas en las vacas Girolando F1. Al considerar las estructuras transferibles (que en última instancia son aquellas viables para producir una preñez), las vacas Holstein presentaron mejores resultados que las Girolando F1 (5,1 versus 4,4 estructuras transferibles, respectivamente).

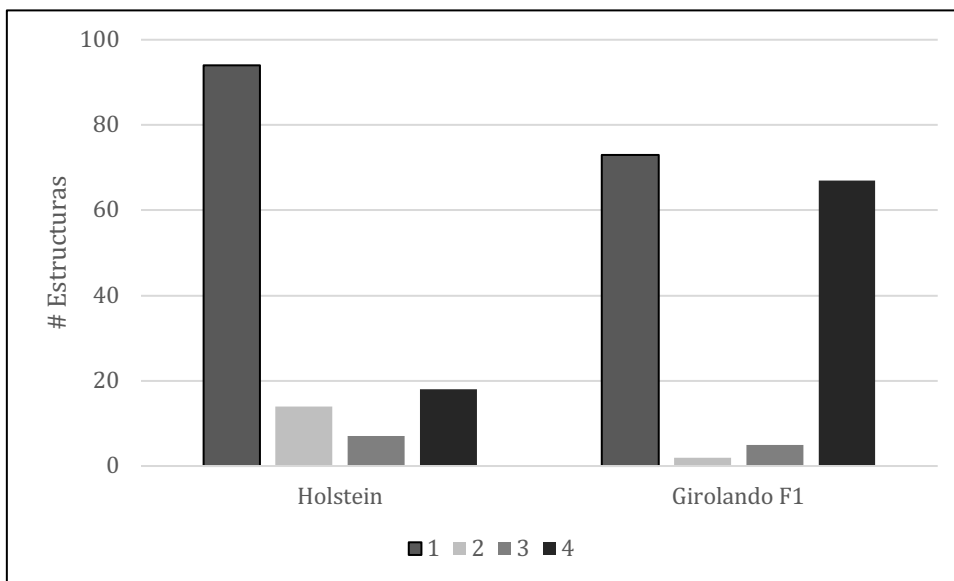
Con base en datos de la Asociación Americana de Transferencia de Embriones, se reporta un promedio entre 5 y 7 transferibles embriones por colecta (Hasler, 2010). El número de estructuras colectadas y fertilizadas de este estudio estuvo muy cercano a lo reportado en la literatura, que indica promedios por colecta desde 12,9 estructuras totales y 8,3 fertilizadas (Hasler, 2010, 2014; Bo y Mapletoft, 2013).

Cuando se comparan vacas Holstein y Girolando F1, se observa que las primeras presentaron una menor cantidad de estructuras fertilizadas, probablemente porque las razas especializadas de leche tienden a generar menos embriones (Hasler, 2010) (Cuadro 1).

Cuadro 1. Promedio y desviación estándar (D.E.) de estructuras colectadas, fertilizadas y embriones transferibles (calidad 1 y 2) por colecta según grupo racial.

	Holstein (n=21)	D.E.	Girolando F1 (n=17)	D.E.
Estructuras totales	9,9	8,1	10,2	4,9
Estructuras fertilizadas	6,3	7,7	8,6	5,4
Embriones transferibles	5,1	7,1	4,4	4,0

Como se aprecia en la Figura 7, la clasificación de las estructuras colectadas agrupó dichas estructuras principalmente en los extremos para los dos grupos raciales. En términos generales, las estructuras tipo 1 representaron un 59,6%, las tipo 2 y 3 representaron un 10% en conjunto y las tipo 4 un 30,4%. En la experiencia obtenida por medio de este estudio, se evidencia que la selección de donantes de embriones a nivel de respuesta a la multiovulación es un proceso que puede ser muy caro, puesto que en algunas ocasiones la cantidad de estructuras no aprovechables es alta, pero cuando se conocen los datos de desempeño de las donantes, en cuanto a calidad y cantidad de embriones, la cantidad de embriones transferibles (calidad 1 y 2) aumenta.

**Figura 7.** Total de estructuras por colecta según clasificación de calidad sugerida por Bo y Mapletoft (2013) por grupo racial.

Transferencias de embriones y porcentajes de preñez

En el transcurso del proyecto se transfirió un total 83 embriones frescos y 34 congelados. Del total frescos, un 35 % fueron provenientes de donadora Girolando F1 y un 65 % de donante Holstein. En el caso de los congelados, un 53 % fue producto de donadora Girolando F1 y un 47 % Holstein.

Cuadro 2. Número de transferencias y porcentaje de preñez según tipo de transferencia (embrión fresco o congelado) y grupo racial de la donante de embriones.

Grupo racial de la donante	n	Preñez Fresco	N	Preñez Congelado
Girolando F1	29	48,3 %	18	11,1 %
Holstein	54	25,9 %	16	0,0 %
General	83	33,7 %	34	5,9 %

Como se observa en el Cuadro 2, el porcentaje de preñez general fue de 33,7% para embriones transferidos frescos y solamente un 5,9% para embriones transferidos congelados. Por el contrario, en embriones producidos *in vivo*, Hasler (2010), reporta porcentajes de preñez superiores en animales puros *Bostaurus*, con porcentajes cercanos a 70% en fresco y 50 - 60% congelado. Sin embargo, el mismo autor indica un estudio realizado en Brasil (más de 1.483 transferencias en fresco y 2.056 congelado), en novillas cruzadas *Bostaurus* * *Bosindicus*, valores más cercanos (42% fresco y 34% congelado) a los obtenidos en este proyecto. Es probable, que la similitud entre las condiciones ambientales de Costa Rica y algunas regiones de Brasil, generen resultados también similares.

El porcentaje de preñez obtenido en este proyecto con embriones congelados se considera muy bajo y esta situación se experimentó a lo largo de todo el estudio. Se evaluaron diferentes factores que pudieran afectar los resultados de preñez, pero no se llegó a ninguna conclusión clara, incluso se efectuaron pruebas en el equipo de congelación. Se realizó una prueba que consistió en correr el programa estándar de congelamiento de los embriones y paralelamente se monitoreó el descenso de la temperatura interna del equipo con termocuplas externas. Después de realizar la prueba en dos ocasiones distintas, se concluyó que el equipo de congelación estaba funcionando correctamente. Los procedimientos, equipo y personal encargado con el que se obtuvieron bajos porcentajes de preñez en fresco fueron los mismos con los que en

épocas anteriores a este periodo de estudio, obtuvieron resultados adecuados. Por esta razón, y por la gran cantidad de variables y factores involucrados en el éxito de la técnica, no se logró vislumbrar con claridad la razón específica del bajo porcentaje de preñez con embriones congelados. A pesar de lo anterior, la técnica de producción y transferencia de embriones no se debe satanizar, puesto que a lo largo de la historia ha demostrado que es una alternativa como herramienta para reproducción y como mejora genética (Moore y Hasler, 2017).

Estimación parcial del costo de producción de embriones en URA

Se estimaron los costos de producir un embrión a partir de todos los productos consumibles y hormonales utilizados en una colecta y considerando un valor de 4,8 embriones transferibles por colecta (Cuadro 3).

El cálculo de los costos realizado fue un cálculo parcial (Cuadro 3). No se consideró la mano de obra (operativa o profesional), mantenimiento de termos criopreservadores para embriones o semen congelado, alimentación y manejo de los animales, depreciación de instalación o genética de los animales debido a que son costos que se deben calcular en específico para cada explotación, máxime que la Unidad de Reproducción Animal forma parte de las actividades de la Universidad de Costa Rica, lo que no lo hace comparable con la mayoría de las actividades privadas. Además, aspectos como ubicación de la finca, instalaciones, grado de asesoría profesional requerido, estado de los animales y finca, manejo general, nutricional y reproductivo, hacen que una estimación de costos deba hacerse para cada escenario en particular. Por ejemplo, la mano de obra y tiempo requerido para preparación de hembras donantes de embriones depende de las instalaciones de la finca, así como del manejo de los animales.

En el Cuadro 3 se observa que el costo total de los productos hormonales, es similar a los consumibles requeridos para llevar a cabo una colecta. Sin embargo, destaca el costo de la hormona folículo estimulante (FSH), pues representa un 85% de todos los costos por concepto de hormonales y casi un 40% del costo total. Además de esto, según la experiencia, es el producto más difícil de obtener en el país, pues no muchas representaciones lo importan y se experimentaron momentos de escasez durante el proyecto.

Ningún otro producto representa más de un 10% del costo total, a excepción del semen, pero esto puede variar; en este caso, se consideró un costo aproximado de ₡10.000 colones (US\$7,3 dólares) la dosis de semen (utilizando dos dosis para cada colecta).

Cuadro 3. Costo por embrión producido por concepto de productos consumibles y hormonales durante el proyecto.

Hormonales	Costo / Embrión (US\$)	Costo / Colecta (US\$)	Peso Relativo Hormonales (%)	Peso Relativo Total (%)
Dispositivo Intravaginal (DIV)	1,1	5,2	3,8	1,7
Progesterona	0,2	0,8	0,6	0,3
Benzoato de Estradiol	0,1	0,5	0,4	0,2
Hormona folículo estimulante (FSH)	24,3	116,5	84,8	38,8
Cloprostenol dextrógiro (PFG2 α)	1,4	6,7	4,9	2,2
Acetato de Gonadorelina (GnRH)	1,7	7,7	5,6	2,6
Total Hormonales	28,6	137,3	100,0	45,7

Consumibles	Costo / Embrión (US\$)	Costo / Colecta(US\$)	Peso Relativo Consumibles %	Peso Relativo Total %
Manguera "Y"	2,2	10,7	6,6	3,6
Catéter Foley	4,1	19,5	11,9	6,5
Filtro	4,1	19,5	11,9	6,5
Solución Lavado	5,70	27,2	16,7	9,1
Suero Fisiológico	1,3	6,0	3,7	2,0
Medio Holding	1,8	8,4	5,2	2,8
Ethylene Glicol	1,7	8,2	5,1	2,7
Lidocaína	0,1	0,3	0,2	0,1
Placa de Petri	0,5	2,3	1,4	0,8
Plato de 6 Cuencos	0,6	2,9	1,8	1,0
Pajillas	0,4	1,9	1,2	0,6
N2 Líquido	3,6	17,5	10,8	5,8
Semen	7,3	35,1	21,5	11,7
Otros Consumibles	0,7	3,5	2,2	1,2
Total Consumibles	34,0	163,1	100,0	54,3

Calculado a un tipo de cambio de 570 colones / US dólar.

En general, el costo de una colecta por concepto de productos fue de US\$300 dólares, lo que representa un costo aproximado de US\$62,5 dólares por embrión transferible, según desempeño obtenido bajo las circunstancias descritas de este proyecto (4,8 embriones transferibles por colecta).

Con base en los resultados obtenidos de preñez, así como los cálculos de costos bajo el esquema propuesto, el generar una preñez a partir de un embrión Girolando F1 en fresco es de US\$129,4, en congelado US\$563,1 y de Holstein en fresco de US\$241,3, lo que representa (según el esquema de costo parcial realizado) el 5,6%, 24,4% y 10,5% respectivamente en inversión con respecto al ingreso bruto promedio calculado por parto (US\$2.303), que contempla el ingreso por leche y por la cría. No se calculó la generación de una preñez proveniente de la raza Holstein de embrión congelado, porque el porcentaje de preñez obtenido en este estudio en particular no lo permitió. Esto refuerza el hecho de que aunado a la cantidad de embriones transferibles por colecta, el porcentaje de preñez que se obtenga, determinan el éxito de la técnica de producción y transferencia de embriones.

El uso de la producción y transferencia de embriones permitió generar la base de un hato Girolando en la URA, además de aprovechar la mejor genética disponible bajo el marco de este proyecto. La selección de donantes de embriones tiene diferentes etapas, hay selección a nivel genético, de conformación, productivo, reproductivo, de salud, pero al hacer uso de estas biotecnologías, se suma el desempeño del animal en respuesta en este caso a la multiovulación y producción de embriones *in vivo*.

Desde el punto de vista productivo y de desempeño general de estos animales, la raza Girolando F1 es una alternativa importante para la producción en sistemas de doble propósito.

CONSIDERACIONES FINALES

La técnica de transferencia de embriones (TE) bovinos es una herramienta útil para intensificar la reproducción de hembras élite y acelerar la mejora genética del hato, sin embargo, es una técnica que depende de factores, algunos no controlables, que afectan el éxito de la misma.

El equipo de trabajo, tanto profesionales a cargo como trabajadores operativos en finca, deben estar capacitados y ser conscientes de la importancia de todos los pasos del proceso.

Un programa de TE tiene un costo económico elevado, por lo que se debe considerar la capacidad de inversión y los objetivos de cada sistema de producción para su

implementación. Existe un riesgo implícito, debido a la multiplicidad de factores que afectan el éxito de la técnica, algunos de ellos ajenos al control de los sistemas de producción. Se deben evaluar condiciones de infraestructura, personal, manejo, objetivos de producción, capacitación, aspectos sanitarios y ambiente para definir si una biotecnología como la producción y transferencia de embriones es apta para la explotación en específico.

En este estudio, de manera numérica, los embriones provenientes de animales de lechería especializada (Holstein) tuvieron un porcentaje de preñez menor al de los embriones provenientes de animales doble propósito (Girolando F1) en la transferencia de embriones, sin embargo, es necesario hacer un análisis con un tamaño de muestra mayor para tener mayor confiabilidad en los datos. La técnica de producción y transferencia de embriones bovinos ha colaborado en la creación del hato Girolando de la Unidad de Reproducción Animal.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen profundamente el apoyo desinteresado de la empresa Asistencia Veterinaria de Costa Rica, por medio del Dr. Guido Carballo Cruz, a los ganaderos que apoyaron el proyecto, al personal operativo de URA, a la Vicerrectoría de Investigación de la UCR y a la Fundación UCR por su invaluable aporte para el desarrollo del proyecto.

LITERATURA CITADA

- Abdelatty, A.M., M.E. Iwaniuk, S.B. Potts, y A. Gad. 2018. Influence of maternal nutrition and heat stress on bovine oocyte and embryodevelopment. *International Journal Veterinary Science. Medicine.* (6): 1-5. doi: 10.1016/j.ijvsm.2018.01.005.
- Bo, G.A., y R.J. Mapletoft. 2013. Evaluation and classification of bovine embryos. *Animal Reproduction* 10(3): 344-348.
- Colazo, M.G., y R.J. Mapletoft. 2017. Estado actual y aplicaciones de la transferencia de embriones en bovinos. *Ciencias Veterinarias.* 9(1): 20-37.
- Córdova, A., G. Rodríguez, M. Córdova, C. Córdova, y J. Pérez. 2005. Ganancia diaria y peso al destete en terneros de cruces *Bos taurus* con *Bos indicus* en Trópico Húmedo. *Medicina Veterinaria y Zootecnia-Córdoba* 10: (1), 589-592.
- CORFOGA. 2017. Precios – CORFOGA – Corporación Ganadera. Consultado el 23 de febrero de 2018 en la dirección <http://www.corfoga.org/estadisticas/precios/>

- Delgado, P.A.M., L.G.R. Calderón, A.M. Aldana, y C.E.L. Penagos. 2012. Desempeño productivo y reproductivo de vacas F1 Gyr x Holstein en clima cálido colombiano. *Veterinaria y Zootecnia*. 6(1):17-23.
- Facó, O., R.N.B. Lôbo, R. MartinsFilho, y A. Moura. 2002. Análise do desempenho produtivo de diversos grupos genéticos Holandês x Gir no Brasil. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 31(5):1944-1952.
- García, P., L. Quintela, J. Becerra, y A. Peña. 2017. La transferencia de embriones en bovinos. Albéitar Portal Vet. Consultado el 22 de febrero de 2018 en la dirección <http://albeitar.portalveterinaria.com/noticia/15991/articulos-rumiantes/la-transferencia-de-embriones-en-bovinos.html>
- Hasler, J.F. 2010. Bovine embryo transfer: are efficiencies improving. Appl. Repro Strat Conference Nashv. TN. Consultado el 17 de setiembre de 2020 en la dirección https://www.researchgate.net/publication/266421862_Bovine_embryo_transfer_are_efficiencies_improving
- Hasler, J.F. 2014. Forty years of embryo transfer in cattle: A review focusing on the journal *Theriogenology*, the growth of the industry in North America, and personal reminiscences. *Theriogenology* 81(1): 152–169.
- IMN. 2017. Instituto Meteorológico Nacional, Estación automática de Canta Gallo, Cariari, Limón. Consultado el 17 de noviembre de 2017 en la dirección <https://www.imn.ac.cr/especial/estacionCantagallo.html>
- Jacopini, L.A., S.B.P. Barbosa, D.A.L. Lourenço, y M.V.G.B. da Silva. 2012. Curvas de lactação de vacas Girolando an través de diferentes modelos. *IX Simpósio Bras. Melhor. Anim. Pessoa PB 20*.
- Machaty, Z., J. Peippo, y A. Peter. 2012. Production and manipulation of bovine embryos: Techniques and terminology. *Theriogenology* 78(5): 937–950.
- Mandawala, A.A., S.C. Harvey, T.K. Roy, y K.E. Fowler. 2016. Cryopreservation of animal oocytes and embryos: Current progress and future prospects. *Theriogenology* 86(7): 1637–1644. doi: 10.1016/j.theriogenology.2016.07.018.
- Mapletoft, R.J. 1985. Embryo Transfer in the cow: General procedures. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 4 (4): 843-858.
- Mapletoft, R.J., y G.A. Bó. 2011. The evolution of improved and simplified superovulation protocols in cattle. *Reproduction Fertility and Development*. 24(1): 278–283. doi: 10.1071/RD11919.

- Molina-Coto, R., C. Arroyo-Oquendo, D. Carballo-Guerrero, y J. Elizondo-Salazar. 2018. Respuesta a la suplementación con propilenglicol en vacas multiovuladas para la producción de embriones. *Agronomía Mesoamericana*. 29 (3):519-533.
- Moore S.G., y J.F. Hasler. 2017. A 100-Year Review: Reproductive technologies in dairy science. *Journal of Dairy Science*. 100(12):10314-10331. doi: 10.3168/jds.2017-13138. PMID: 29153167.
- Passini, R., B. de Carvalho Barros, y T.C. Macena. 2014. Teste de tolerânciaao calor em bovinos girolandos cruzados no centro-oeste do Brasil. *Acta Vet. Bras.* 8(3): 163–168.
- Phillips, P.E., y M.M. Jahnke. 2016. Embryo Transfer (Techniques, Donors, and Recipients). *Vet. Clin. North Am. FoodAnim. Pract.* 32(2): 365–385. doi: 10.1016/j.cvfa.2016.01.008.
- SCIJ 2020. Sistema Costarricense de Información Jurídica. Consultado el 7 de julio de 2020 en la dirección http://www.pgrweb.go.cr/scij/Busqueda/Normativa/Normas/nrm_norma.aspx?nValor1=1&nValor2=80106&nValor3=101559¶m2=1&strTipM=FN&lResultado=1&strSim=simp
- Vargas, B., y J. Ulloa. 2008. Relación entre crecimiento y curvas de lactancia en grupos raciales lecheros de distintas zonas agroecológicas de Costa Rica. *Development* 20: 8.
- Vásquez-Loaiza, M. 2018. Actualización y análisis de datos de las razas *Bosindicus* con certificado de registro genealógico en Costa Rica. Tesis de licenciatura. Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica. 73 p.
- WingChing-Jones, R. 2017. Índices productivos y reproductivos de fincas de cría de ganado bovino de carne en la zona Sur de Costa Rica. *Cuadernos de Investigación UNED. Vol. 9(2):247-256*. doi:10.22458/urj.v9i2.1899.