



# Factores que afectan la tasa de gestación con embriones cebú producidos *in vitro* en trópico

Alondra Zavaleta-Martínez<sup>1</sup> ; Orlando Román-Fernández<sup>1</sup> ; Manlio Alpírez-Mendoza<sup>1</sup> ; Manuel Barrientos-Morales<sup>1</sup> ; Araceli Rodríguez-Andrade<sup>2</sup> ; Patricia Cervantes-Acosta<sup>1</sup> ; Antonio Hernández-Beltrán<sup>1</sup> ; Leonel Avendaño-Reyes<sup>3</sup> ; Belisario Domínguez-Mancera<sup>1\*</sup> .

<sup>1</sup>Universidad Veracruzana, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Veracruz, México.

<sup>2</sup>Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico De Veracruz Departamento de Química Y Bioquímica, Veracruz, México

<sup>3</sup>Universidad Autónoma de Baja California, Instituto de Ciencias Agrícolas, Mexicali, México.

\*Correspondencia: [beldominguez@uv.mx](mailto:beldominguez@uv.mx)

Recibido: Noviembre 2023; Aceptado: Febrero 2024; Publicado: Mayo 2024.

## RESUMEN

**Objetivo.** Estudiar los factores que afectan el éxito de la transferencia de embriones (TE). **Materiales y métodos.** Se analizaron 1087 TE de raza cebú. Los factores extrínsecos de la donadora bovina (DB) fueron: unidad de producción pecuaria (UPP) (n=13), veces que realizan TE en UPP (1 vez, >1 vez), región/zona (n=4), época (seca o lluvia) y estación del año; e intrínsecos: raza de donadora y toro, semen (convencional o sexado), calidad (CE) y desarrollo embrionario (DE). En la receptora bovina (RB): tamaño del cuerpo lúteo (CL1, CL2 y CL3), época (seca o lluvia) y estación. La estadística se realizó con  $\chi^2$  para el análisis de los efectos principales y multivariado de agrupamiento para estimar las asociaciones. **Resultados.** La tasa de gestación (TG) general fue  $37.99 \pm 1.47$ , hubo diferencias ( $p < 0.05$ ) entre las UPP (2.78–75%), la época seca fue mayor que lluvia (44.55 vs 31.28%), otoño e invierno ( $p < 0.05$ ) en comparación con primavera y verano (42.76, 43.98, 37.57 y 29.77%, respectivamente) y la región/zona fueron diferentes ( $p < 0.05$ ). La CE excelente presentó mayor ( $p < 0.05$ ) TG que la buena (38.9 vs. 26.3%). En la RB, la época y la estación del año tuvieron efecto ( $p < 0.05$ ). El análisis de agrupamiento mostro asociación ( $r > 0.90$ ) de estación con época durante la aspiración folicular transvaginal guiada por ultrasonografía OPU con la TG; el semen, CE y DE tuvieron una mayor asociación con TG ( $r > 0.80$ ). **Conclusiones.** Los factores ambientales al momento de la OPU y la CE son efectos por considerar en programas de TE cebú producidos *in vitro* en el trópico.

**Palabras clave:** Biotecnología; bovino; estrés por calor; transferencia de embrión (*Fuente: DeCs/MeSH, OMS*).

## ABSTRACT

**Objective.** To study the factors affecting the success of embryo transfers (ET). **Materials and methods.** 1087 ET in zebu cattle were analyzed. The considered extrinsic factors of the donor cows (DC) were the cattle production unit (CPU) from which they were sourced (n=13), amount of transfers in the unit (1 time, >1 time), geographical zone (n=4), period (dry or rainy) and year season (winter, spring, summer or fall); and the intrinsic factors were the breed of the bull and DC,

### Como citar (Vancouver).

Zavaleta-Martínez A, Román-Fernández O, Alpírez Mendoza M, Barrientos-Morales M, Rodríguez-Andrade A, Cervantes-Acosta P, et al. Factores que afectan la tasa de gestación con embriones cebú producidos *in vitro* en trópico. Rev MVZ Córdoba. 2024; 29(2):e3453. <https://doi.org/10.21897/rmvz.3453>



©El (los) autor (es) 2024. Este artículo se distribuye bajo los términos de la licencia internacional Creative Commons Attribution 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>), que permite a otros distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir de su obra de modo no comercial, siempre y cuando den crédito y licencien sus nuevas creaciones bajo las mismas condiciones.

semen (conventional or sexed), embryo quality (EQ) and embryo developmental stage (EDS) The factors considered in the recipient cows (RC) were corpus luteum size (CL1, CL2 or CL3), period (dry or rainy) and year season (winter, spring, summer or fall). Statistics were compiled with  $\chi^2$  for the analysis of the main effects, and correlations were estimated through a multivariate clustering analysis. **Results.** The general pregnancy rate (PR) was  $37.99 \pm 1.47$ , and there were differences ( $p < 0.05$ ) observed among the CPU (2.78–75%). The PR was higher in the dry than in the rainy period (44.55 vs 31.28%), and in fall and winter ( $p < 0.05$ ) than spring and summer (42.76, 43.98, 37.57 and 29.77%, respectively), and there were differences observed between the geographical zones as well ( $p < 0.05$ ). The PR was higher with excellent-quality embryos ( $p < 0.05$ ) than with good-quality embryos (38.9 vs. 26.3%). The period and year season had an effect over the RC ( $p < 0.05$ ), and the grouping analysis showed a correlation ( $r > 0.90$ ) between the period and year season during Oocyte pick-up (OPU) over the PR; moreover, semen, EQ and EDS had larger associations with the PR ( $r > 0.80$ ). **Conclusions.** Environmental conditions at the moment of OPU and EQ are factors worth considering in embryo transfer programs with zebu cattle using *in vitro* produced embryos in tropical conditions.

**Keywords:** Biotechnology; bovine; heat stress; embryo transfer (*Source: DeCs/MeSH, OMS*).

## INTRODUCCIÓN

El objetivo de la transferencia de embriones (TE) es incrementar la descendencia de animales con alto valor genético, que consiste en colocar embriones provenientes de donadoras al útero de una hembra receptora sincronizada, que será la encargada de mantener la gestación hasta llegar a término (1); así mismo, se hace uso de las tecnologías reproductivas como la aspiración folicular transvaginal guiada por ultrasonografía OPU por sus siglas en inglés (2), protocolos para la superovulación al sincronizar las ondas foliculares e induciendo el estro de donadoras de embriones con la finalidad de que se produzcan ovocitos viables para fecundarlos *in vitro*, y así posteriormente transferirlos a una receptora (3). Si bien, con el uso de las biotecnologías reproductivas se crea un avance genético, los resultados se ven afectados por múltiples factores (4) denominados intrínsecos; como la raza o el grupo genético, la edad, la paridad, la condición corporal de la hembra bovina donadora al momento de la OPU; además de los llamados factores extrínsecos que afectan a ambas hembras, donadora (DB) y receptora (RB); como el ambiente, el manejo sanitario y nutricional que afectan los resultados de la aplicación de las biotecnología reproductivas, la zona agroecológica donde se localiza la unidad de producción pecuaria (UPP); en la RB, el estadio de desarrollo, la calidad embrionaria (CE); así como el tamaño y ubicación del cuerpo lúteo al momento de hacer la TE; entre otros, son efectos por considerar; la sumatoria de todos estos efectos dan como consecuencia el aumento en la probabilidad del éxito o el fracaso de la gestación (5,6).

En la actualidad la demanda de carne de origen bovino a nivel mundial, nacional y estatal es una de las más importantes, por lo que pone grandes retos a la producción para satisfacer la demanda del mercado; la ganadería bovina en México mantiene una gran relevancia en el contexto socioeconómico del país, ya que proporciona alimentos, materias primas a la población; además de ofrecer fuentes de empleo en el sector rural. Desde el punto de vista económico, social y político, es la actividad más importante en el estado de Veracruz, ya que proporciona >350.000 empleos distribuidos en todo el estado (7,8). Dentro de este contexto, las condiciones ambientales y la localización del estado, Veracruz ocupa el primer lugar en la producción de carne en canal de bovino, las principales razas utilizadas para este fin son el Cebú (*Bos indicus*), Guzarat, Gyr, Sardo Negro, Brahaman, Nelore e Indobrasil o las cruces con razas europeas (*Bos taurus*) Suizo, Simmental y Hostien, entre otros (9,10).

En México en lo general y en el estado de Veracruz en particular, los sistemas de producción ganadera varían considerablemente; se encuentran los especializados en la producción de leche o carne y los extensivos que producen carne y leche al mismo tiempo, denominados sistema bovino de doble propósito (SBDP) (11). El SBDP es importante porque se desarrolla en más de 48 millones de hectáreas y concentra ~45% del inventario bovino nacional (7). Este sistema de producción utiliza en su mayoría ganado cebú y cruces (9,10). Es por ello, que el presente trabajo pretende analizar e identificar algunos de los efectos intrínsecos y extrínsecos más comunes que modulan la probabilidad de la gestación en

receptoras bovinas cruzadas en condiciones de ambiente tropical en programas de TE producidos *in vitro* provenientes de hembras bovinas donadoras cebú.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Declaración ética.** Todos los procedimientos de manejo, inmovilización, aspiración folicular y TE realizados a las vacas donadoras (OPU) y a las receptoras (TE) dentro de las UPP por los servicios veterinarios fueron evaluados y aprobados con número de registro COBIBA011/2023 por el Comité de Bioética y Bienestar Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Veracruzana.

**Ubicación.** El estudio se realizó en 13 UPP ubicadas en cuatro zonas con características agroecológicas similares (Zona 1 [n= 2]; Zona 2 [n= 2]; Zona 3 [n= 1], Zona 4 [n= 8]) de la región del trópico mexicano mediante la clasificación del clima por Köppen-Geiger (12) con temperaturas que oscilaron entre los 15 a 32°C y humedad relativa del 35 al 100%; en el periodo de marzo 2022 - abril 2023. Todas las hembras bovinas (donadoras DB, y receptoras RB) fueron mantenidas bajo un sistema de pastoreo extensivo con pastos nativos *Cynodon nlemfuensis* y *Brachiaria humidicola*.

**Animales.** Se evaluaron 1087 trasferencias embrionarias (TE) con embriones provenientes de DB cebú en RB pertenecientes a las cruces de *Bos indicus* (Brahman, Gyr, Guzerat y Sardo Negro) X *Bos Taurus* (Suizo Pardo americano, Holstein y Simmental). Todas las DB y RB fueron mantenidas bajo un sistema de pastoreo extensivo con pastos nativos *Cynodon nlemfuensis* y *Brachiaria humidicola*. 60 días previos a la OPU de la DB y al inicio del cronograma de sincronización de la RB, se contempló un plan nutricional con el consumo de sales minerales *ad libitum* y 300 g/animal de grasa de sobrepeso (Percutrin Energy, Bayer; Leverkusen, Alemania). Además, se implementó un plan zosanitario que contempló baño garrapaticida (Amitraz 12.5%. BOVITRAZ®, Bayer; Leverkusen, Alemania) y desparasitación interna (Ivermectin 1%, BAYMEC® Prolong, Bayer; Leverkusen, Alemania), aunado a vacunación contra enfermedades virales; Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR), Diarrea Viral Bovina (DVB), Parainfluenza (PI3), Respiratorio Sincitial Bovino (BRSV); (BOVILIS® VISTA 5 L5 SQ, MSD Animal Health; Rahway, New Jersey, USA)

y clostridiales; Carbuco sintomático, Edema maligno, Enterotoxemias, Hemoglobinuria bacilar, Hepatitis necrótica infecciosa, Muerte súbita por clostridios y Tétanos (CLOSTRIGEN® 9 + T, Virbac; Westlake, Texas USA).

**Obtención de ovocitos.** Se realizó una aspiración folicular (OPU) a las DB cebú (n=2-5) en la respectiva UPP de acuerdo con la metodología propuesta por Galli (2). Se realizó la búsqueda de ovocitos en campo y fueron llevados al laboratorio mediante una incubadora portátil de ovocitos (WTA, Cravinhos, Estado de São Paulo, Brasil.) a una temperatura de 38.5°C con gaseo automático cada dos horas hasta llegar al laboratorio (13).

**Manejo de embriones.** Los embriones transferidos fueron producidos *in vitro*, con semen convencional o sexado y preservados en fresco hasta el momento de la TE (~7 después de la OPU). Al momento de la transferencia se encontraban en etapa de Blastocisto temprano (5), Blastocito (6), Blastocito expandido (7), Blastocito eclosionado (8) Blastocito eclosionado expandido (9) con una CE buena o excelente (13), y se utilizó la técnica no quirúrgica transcervical para la TE (14).

**Protocolo de sincronización de la hembra receptora.** La sincronización del estro en la RB se realizó con el uso de un protocolo basado en progesterona (15) y consistió en: Día 0: dispositivo intravaginal conteniendo progesterona (1.9 g, CIDR, Zoetis, USA) + administración IM de 2 mg para vacas o 1 mg para novillas de benzoato de estradiol (Bio Estrogen®, Biogenesis Bagó). Día 7: Administración IM de 0.15 mg para vacas o 0.075 mg para novillas de Cloprostenol (Bio Estrogen®, Biogenesis Bagó). Día 9: se retira el dispositivo intravaginal de progesterona; Administración IM de 400 UI para vacas o 200 UI para novillas de gonadotropina coriónica equina (eCG) (Ecegon®, Biogenesis Bagó) + administración IM de 0.15 mg tanto para vacas como para novillas de Cloprostenol (Bio Estrogen®, Biogenesis Bagó). Día 10: Administración IM de 1 mg para vacas o 0.5mg para novillas de benzoato de estradiol (Bio Estrogen®, Biogenesis Bagó). Día 18: TE.

**Cuerpo lúteo.** Previo a la TE, se evaluó el tamaño y localización del cuerpo lúteo por ultrasonografía (Ibex Pro) con base en la clasificación propuesta por Abdulkadir (16), donde: CL1  $\geq 2.0$  cm<sup>2</sup> ( $\geq 18$  mm), CL2 1.5 – 2.0 cm<sup>2</sup> ( $\geq 14$ mm y  $< 18$  mm), CL3  $< 1.5$  cm<sup>2</sup> ( $> 10$ mm y  $< 14$  mm).

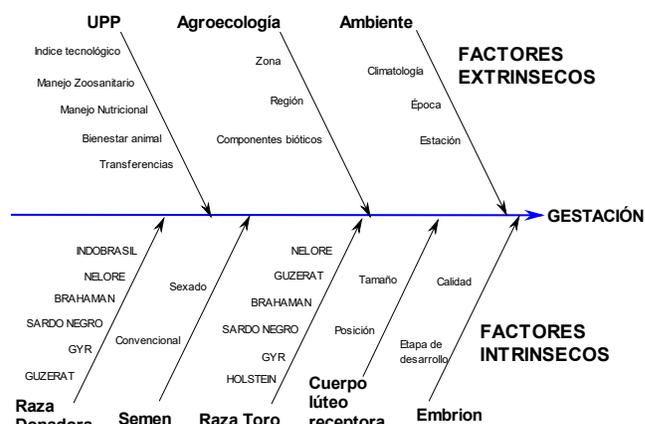
**Procedimiento de transferencia de embriones.** Para la TE se utilizó la técnica transcervical no quirúrgica (14). Se administró un anestésico epidural 5 ml (Pisacaina 2%, Logymed, Logistic & Medicine, Colombia) y se lavó la vulva con agua (sin jabón) y se secó con toalla de papel. Las receptoras se examinaron mediante palpación transrectal y ecografía (Ibex Pro/r L7HD traductor, E.I. Medical Imaging, Loveland, Colorado USA). En este examen, los animales con cuerpo lúteo  $\geq 10$  mm fueron identificados como receptores potenciales. El embrión se cargó en una pajilla de 0.25 ml; después, la pajilla se colocó en la pipeta de TE. El embrión se transfirió a la sección del tercio craneal del cuerno del útero que estaba ubicado en el lado donde se encontró el cuerpo lúteo.

**Diagnóstico de gestación.** La gestación se determinó entre los días 30 y 45 posteriores a la TE por ultrasonografía (Ibex Pro/r L7HD traductor, E.I. Medical Imaging, Loveland, Colorado USA), siendo la variable de respuesta dicótoma, donde 0 = vacía y 1 = gestante.

**Análisis estadístico.** Los análisis estadísticos se realizaron en el programa estadístico STATISTICA v10.0 para Windows StatSoft, Inc 2013. Se realizó un diagrama de Ishikawa; el cual es una herramienta visual que tiene un formato de gráfico y su principal función es ayudar en los análisis de organización de los datos que se han obtenido de muchas variables. Con el uso de tablas de contingencia  $2^k$ , y el uso de la distribución de  $\chi^2$  con valores de significancia  $p < 0.05$ . Se obtuvieron las proporciones entre cada efecto principal de los factores intrínsecos, así como los extrínsecos; además se aplicaron análisis multivariados de agrupamiento (Clustering) para encontrar asociaciones entre las variables de los factores intrínsecos y extrínsecos de la DB con la gestación en la hembra RB. Para la agrupación gráfica (Dendograma) de los conglomerados se aplicó el método de Distancia Euclidiana Completa y amalgamados mediante el procedimiento de agrupamiento de pares no ponderados y normalizada mediante  $1 - r$  de Pearson ( $[\text{Distancia de Unión} / \text{Distancia Máxima}] * 100$ ).

## RESULTADOS

En primera instancia se realizó un diagrama de Ishikawa, conocido como espina de pescado, donde su uso principal es para encontrar la causa de un problema en su raíz, que para este caso fue la gestación (Figura 1).



**Figura 1.** Diagrama de causa efecto de variables analizadas para encontrar la probabilidad (porcentaje) de gestación en unidades de producción con diferentes ambientes agroecológicos y manejos en programas de transferencia de embriones cebú en el trópico.

Como se puede apreciar en la Figura 1, los factores analizados se han categorizado en dos grupos de variables que modulan la probabilidad de que una RB quede gestante con embriones producidos *in vitro* provenientes de DB cebú. Los extrínsecos: UPP, número de veces que han realizado las TE en el año, la zona/región agroecológica, la época y la estación del año; así como los intrínsecos: Raza de DB cebú, raza del toro utilizado, el manejo del semen, el tamaño del cuerpo lúteo de la RB, el embrión utilizado en su desarrollo y calidad. Todos estos factores fueron analizados por separado con la finalidad de encontrar diferencias ( $p < 0.05$ ) entre sus niveles de medición (Tabla 1, 2 y 3).

En la tabla 1. Se aprecia que cada UPP (UPP  $n=13$ ) tiene diferentes probabilidades (tasas de gestación (TG)) mostradas en porcentajes de que una RB tenga éxito (gestación). Así como en la variable número de veces que la UPP ha realizado la práctica de TE; 1 ocasión o más de 1. Las zonas agroecológicas analizadas son diferentes ( $p < 0.05$ ), donde se aprecia que las zonas 2, 3 y 4 tienen mejores probabilidades (tasas) de gestación con respecto a la zona 1. La época del año, (secas y lluvias) así como la estación (primavera, verano, otoño e invierno) son factores por considerar en un programa de TE ya que las variaciones del clima modifican el bienestar de las RB, así como DB de ovocitos.

Con respecto al análisis de los factores intrínsecos de la DB cebú (Tabla 2), en el efecto de raza, la probabilidad de gestación en la hembra

receptora es menor con el uso de embriones de la raza Sardo Negro que en las otras razas. Cabe señalar que los embriones de razas Nelore e Indo Brasil tuvieron una frecuencia baja. El uso de semen sexado para la obtención de embriones también fue analizado y no se encontró diferencia ( $p>0.05$ ) en esta variable, no así en la raza del toro que se utilizó para la obtención de embriones, siendo más bajo con el uso del semen de origen Sardo Negro y el más alto el de raza Guzerat y Nelore, éste último con pocos datos. El desarrollo embrionario al momento de la TE en sus diferentes estadios fue similar ( $p>0.05$ ), y

solo la calidad en la cual se encontraban mostró diferencia ( $p<0.05$ ).

Cuando se realizó el análisis de los factores que modulan la probabilidad de gestación en la hembra bovina receptora (hembras cruzadas), solo el factor ambiental medido como estación del año y época del año resultaron ser factores para considerar en un programa de TE, ya que el tamaño del cuerpo lúteo no mostró diferencias significativas ( $p>0.05$ ); cabe mencionar que el tamaño de cuerpo lúteo en categoría 3 tuvo pocos sus datos.

**Tabla 1.** Efecto de factores extrínsecos de las hembras bovinas donadoras Cebú sobre la tasa de gestación en hembras bovinas receptoras cruzadas.

Variable	Categoría	Gestación (%)	N(1087)	EE (%)	Significancia
UPP	1	2.78 <sup>f</sup>	36	2.78	0.0001
	2	38.80 <sup>bd</sup>	183	3.61	
	3	58.33 <sup>ab</sup>	24	10.28	
	4	43.86 <sup>bd</sup>	57	6.63	
	5	50.00 <sup>abd</sup>	16	12.91	
	6	31.58 <sup>cde</sup>	38	7.64	
	7	38.22 <sup>d</sup>	225	3.25	
	8	42.86 <sup>bd</sup>	147	4.10	
	9	42.57 <sup>bd</sup>	101	4.94	
	10	39.58 <sup>bcd</sup>	48	7.13	
	11	24.35 <sup>ce</sup>	115	4.02	
	12	75.00 <sup>a</sup>	44	6.60	
	13	18.87 <sup>ef</sup>	53	5.43	
Transferencias	1	43.75	96	5.09	0.224
	>1	37.44	991	1.54	
Zona/Región	Zona 1	19.21 <sup>b</sup>	151	3.22	0.0001
	Zona 2	40.54 <sup>a</sup>	185	3.62	
	Zona 3	43.86 <sup>a</sup>	57	6.63	
	Zona 4	40.92 <sup>a</sup>	694	1.87	
Época	Seca	44.55 <sup>a</sup>	550	2.12	0.0001
	Lluvia	31.28 <sup>b</sup>	537	2.00	
Estación	Invierno	43.98 <sup>a</sup>	216	3.39	0.0121
	Primavera	37.57 <sup>a</sup>	511	2.14	
	Verano	29.77 <sup>b</sup>	215	3.13	
	Otoño	42.76 <sup>a</sup>	145	4.12	

<sup>a,b</sup> Literales diferentes entre fila de la misma columna (%) son significativos ( $p<0.05$ ).

**Tabla 2.** Efecto de factores intrínsecos de las donadoras Cebú sobre la tasa de gestación en receptoras cruzadas.

Variable	Categoría	Gestación (%)	N (1087)	EE (%)	Significancia
Raza Donadora	GUZERAT	36.63	101	4.82	0.1848
	GYR	41.71	175	3.74	
	SARDO NEGRO	33.89	475	2.17	
	BRAHAMAN	41.85	313	2.79	
	NELORE	50.00	16	12.91	
	INDOBRASIL	42.86	7	20.20	
Semen	Convencional	38.74	808	1.71	0.3907
	Sexado	35.84	279	2.88	
Raza Toro	HOLSTEIN	36.2 <sup>6ab</sup>	273	2.92	0.0491
	GYR	44.44 <sup>ab</sup>	63	6.31	
	SARDO NEGRO	33.90 <sup>b</sup>	469	2.19	
	BRAHAMAN	44.26 <sup>ab</sup>	235	3.25	
	GUZERAT	48.39 <sup>ab</sup>	31	9.12	
	NELORE	50.00 <sup>ab</sup>	16	12.91	
Etapa Blastocito (IETS)	Temprano (5)	37.50	16	12.50	0.1160
	Blastocito (6)	30.95	42	7.22	
	Expandido (7)	38.68	892	1.63	
	Eclosionado (8)	39.34	122	4.44	
	Eclosionado expandido (9)	6.67	15	6.67	
Calidad embrión	Excelente	38.87 <sup>a</sup>	1011	1.53	0.0296
	Buena	26.32 <sup>b</sup>	76	5.08	

<sup>a,b</sup> Literales diferentes entre fila de la misma columna (%) son significativos ( $p < 0.05$ ).  
IETS: International Embryo Technology Society (13).

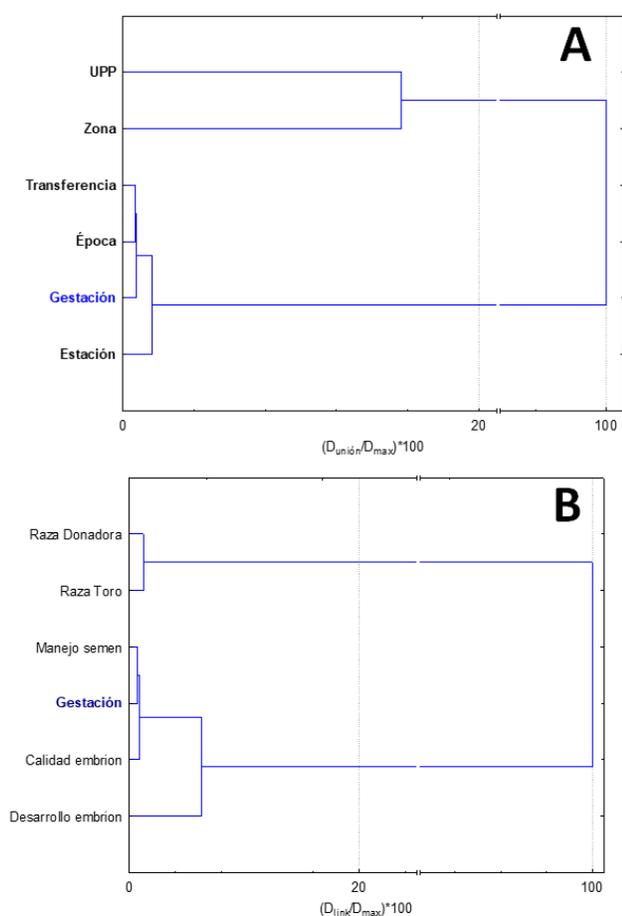
**Tabla 3.** Efecto de factores intrínsecos y extrínsecos sobre la tasa de gestación en receptoras cruzadas transferidas con embriones cebú

Variable	Categoría	Gestación (%)	N (1087)	EE	Significancia
Cuerpo lúteo	CL1	38.33 <sup>a</sup>	407	2.41	0.3286
	CL2	33.65 <sup>a</sup>	416	2.32	
	CL3	32.86 <sup>a</sup>	70	5.65	
Época	Seca	42.29 <sup>a</sup>	603	2.01	0.0011
	Lluvia	32.64 <sup>b</sup>	484	2.13	
Estación	Invierno	45.10 <sup>a</sup>	153	4.04	0.0184
	Primavera	38.01 <sup>a</sup>	534	2.10	
	Verano	30.98 <sup>b</sup>	255	2.90	
	Otoño	42.76 <sup>a</sup>	145	4.12	

<sup>a,b</sup> Literales diferentes entre fila de la misma columna (%) son significativos ( $p < 0.05$ ).

Cuando se realizó el análisis de agrupamiento (relación) para encontrar las variables que más se correlacionaban con la probabilidad de gestación con los factores extrínsecos de la hembra bovina donadora cebú (Figura 2A). Dicho análisis multivariado mostró que el ambiente es

uno de los principales factores a considerar, ya que interfieren en la probabilidad de gestación, mientras que las demás variables como la UPP, la zona (agroecología) y las veces que una UPP realiza la TE no son dependientes de la probabilidad de gestación.



**Figura 2.** Dendrograma de unión simple. **A.** Relación entre los factores extrínsecos analizados que modulan la tasa (probabilidad) de gestación en programas de transferencia de embriones cebú producidos *in vitro*. **B.** Relación de los factores intrínsecos analizados que modulan la tasa (probabilidad) de gestación en programas de transferencia de embriones cebú producidos *in vitro*.

En este mismo orden de ideas, cuando se realizó un análisis de relación para encontrar las variables que más se correlacionaban con la probabilidad de gestación de los factores intrínsecos, se puede apreciar que el embrión en su desarrollo y calidad, así como el manejo del semen son factores por considerar y que la raza del toro, así como la raza de la donadora son variables subordinadas (Figura 2B).

## DISCUSIÓN

Son diversos los efectos que modulan la TG en RB transferidas con embriones producidos *in vitro*, y se han catalogado en dos grandes

grupos: los que son propios del animal o “efectos intrínsecos”, como la raza o el grupo genético al cual pertenece, la edad al momento de obtener el óvulo (OPU) o al momento de ser transferida (TE), el número de partos de la receptora, la producción de progesterona por un CL de mayor tamaño, así como su localización en un ovario más activo, su estado de carnes medida como condición corporal, entre otras. Muchos de estos efectos son controlables ya que son criterios de selección al momento de realizar la OPU o al momento de realizar la TE; y los efectos que están fuera del animal llamados “efectos extrínsecos”, como las condiciones agroecológicas donde se encuentran las UPP, el ambiente medido en diferentes formas como el grado de confort ambiental, las estaciones del año y las épocas de lluvias o secas de la zona agroecológica; además existen factores propios de la técnica biotecnológica reproductiva utilizada como la manipulación del semen, raza del toro, así como el estadio y calidad del desarrollo en que se encontraba el embrión al momento de la transferencia (17,18).

En las diferentes UPP es normal que se presenten diferencias en el manejo que alteren los resultados de los programas donde se aplican las biotecnologías reproductivas, como IA a tiempo fijo (IATF) y la TE; por ejemplo, el tipo y la cantidad de suplementación mineral que se suministra, la disponibilidad de forraje verde o seco en los potreros, el estrés causado por malas prácticas de manejo. Los factores extrínsecos que afectan en mayor medida los resultados de un programa de TE son los relacionados con la alimentación, el estado de salud de los animales o del hato y las condiciones que afecten el bienestar (19).

Con respecto al ambiente donde las hembras donadoras y las receptoras pastorean en el presente trabajo, se aprecia que en verano (época de lluvias), la probabilidad de gestación es menor, ya que los animales se encuentran afectados ante el estrés por calor (20), aunque la cantidad de forraje verde disponible para el pastoreo aumenta por la lluvia; esto coincide con Fernández-Novo et al (21), quien menciona que el estrés por calor influye en el éxito de algunas biotecnologías reproductivas como en la tasa de fertilización y CE, además de que aumenta la tasa de pérdida de gestación. Un estudio realizado por Martínez et al (22), demostró que hay un efecto ambiental en el DE y la CE, aumentando el número de embriones de buena calidad y transferibles durante la estación húmeda. En

este sentido, el aumento en la humedad relativa (HR) es considerado un factor que aumenta las condiciones adversas de las altas temperaturas en regiones tropicales; los principales efectos de la HR se encuentran asociados con reducción de la efectividad en la disipación de calor y están negativamente asociados al consumo de alimento y disminución en las gestaciones (23).

Los factores intrínsecos son los denominados propios del animal que afectan la TG y se encuentran directamente relacionados con la fisiología del animal (donadora y receptora) o con el embrión. En este trabajo no se reportan diferencias entre razas de la donadora cebú con respecto a la TG, los trabajos de TE se centran en la evaluación de la RB como: el grupo genético, condición corporal, estado nutricional, tamaño del cuerpo lúteo, paridad, entre otros; debido a que es ella (hembra bovina receptora) la encargada de llevar a término la gestación y poco es analizado en la hembra bovina donadora; en este sentido, analizar el origen del embrión como: la raza de la donadora, la raza del toro utilizado, el tipo de semen empleado, la época en la que fue obtenido el ovocito por OPU para su fertilización *in vitro*, el tipo de preservación previo a la TE, entre otros.

Ya que el genotipo del embrión es diferente de la madre y del padre, se podría especular que podrían existir diferencias en las TG con embriones producidos *in vitro* con el uso de diferentes toros e incluso con el uso de semen convencional o sexado. Al respecto, Blondin et al (24), estudiaron el efecto de la heparina en el proceso de fertilización en ovocitos bovinos, con el uso de semen convencional y sexado; además, compararon diferentes toros y su producción de blastocitos. Estos autores encontraron que la producción de embriones con semen convencional es diferente ( $p < 0.05$ ) a la de embriones con semen sexado, en el presente trabajo no se reportan diferencias, quizás debido al bajo número de repeticiones o cantidad de toros con semen sexado.

El tamaño del CL de la RB presente al momento de la TE juega un papel importante, se espera que secrete suficiente cantidad de progesterona para el mantenimiento de la gestación del embrión transferido (25). El presente trabajo no reporta diferencias entre los tamaños de cuerpo lúteo, y cabe mencionar que son pocos los datos con CL3 ( $n=70$ ) que son de menor tamaño, ya que se opta por colocar los embriones en receptoras con CL1 y CL2, de mayores tamaños.

La observación y clasificación de los embriones al momento de la TE es esencial. Chebel et al (26), analizaron los factores que influyen en la recolección y TE producidos *in vitro* o *in vivo* en la raza Holstein incluyendo la CE transferido, encontrando diferencias significativas ( $p < 0.01$ ) para embriones de calidad 1 (excelentes) respecto de calidad 2 (buenos), similares a lo encontrado en el presente trabajo.

En investigaciones llevadas a cabo en diversas UPP ubicadas en clima tropical en Brasil, Bényei et al (27), evaluaron el éxito en la implantación de 1466 embriones en vacas receptoras Holstein por Cebú, comprobando que factores extrínsecos como el método de sincronización, el origen de los embriones y los efectos de la unidad de producción pecuaria eran los factores que más influían; en este mismo sentido Montiel et al (28), concuerdan con dichos resultados; sin embargo, Baruselli et al (29), en investigaciones llevadas a cabo con condiciones similares, lo relacionan a factores intrínsecos tales como el tamaño y número de CL en los ovarios de la vacas receptoras. Sin embargo, para Contreras et al (30), el uso consumado de la TE en los trópicos, que considere las aplicaciones *in vitro* requerirá mejoras en los procedimientos, así como en los recursos y la educación relacionados.

Por último, se sabe que la CE y el DE ejercen una marcada influencia sobre los resultados de la TE. La TE en estadios tempranos (mórula temprana) resulta en menores TG que cuando se transfieren embriones en estadio más avanzado (31). Por otra parte, Valencia et al (32), analizaron el efecto del estadio del embrión sobre TG con diferencias ( $p < 0.05$ ) en la probabilidad de éxito de una gestación en los estadios de blastocito y blastocito expandido con respecto a blastocisto temprano y eclosionado. Estos se deben a que transferir embriones con mayor desarrollo y zona pelúcida intacta, refleja una mayor actividad y viabilidad generando mejores TG que transferir embriones eclosionados, comprometiendo así la gestación.

Estudios realizados por Block y Hansen (33), reportan diferencias significativas en secreción de Interferón-tau ( $IFN_{-T}$ ) en embriones de diferente desarrollo, encontrando una correlación positiva entre el estadio embrión y la producción de  $IFN_{-T}$ . En el presente trabajo no se encontraron diferencias significativas entre los diferentes estadios de desarrollo embrionario al momento de la TE, aunque se opta por transferir embriones de excelente calidad y en estado de blastocisto expandido y eclosionado.

Se concluye que los factores ambientales al momento de la OPU o de la TE, así como la CE transferido son factores para considerar en programas de TE cebú producidos *in vitro* en el trópico húmedo.

### Conflicto de intereses

Los autores de la presente investigación declaramos que no existe conflicto de intereses con la publicación de este manuscrito.

### Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías "CONAHCyT"

### Financiación

Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías "CONAHCyT"  
EmbriMex, Laboratorio de Reproducción Bovina; Veracruz, México.

## REFERENCIAS

1. Duica AA, Tovío LN, Grajales LH. Factores que afectan la eficiencia reproductiva de la hembra receptora en un programa de trasplante de embriones bovinos. *Revista de Medicina Veterinaria* 2007; 14:107-124. <https://ciencia.lasalle.edu.co/mv>
2. Galli C, Crotti G, Notari C, Turini P, Duchi R, Lazzari G. Embryo production by ovum pick up from live donors. *Theriogenology*. 2001; 55(6):1341-1357. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(01\)00486-1](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(01)00486-1)
3. Soria M, Soria C, Méndez S, Argudo D, Serpa G, Torres C. et al. Valoración de dos protocolos de superovulación para la producción de embriones en vacas Holstein. *Rev Prod Anim*. 2018; 30(2):52-56. <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/30584>
4. Kafi M, McGowan MR. Factors associated with variation in the superovulatory response of cattle. *Animal reproduction science*. 1997; 48(2-4):137-157. [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(97\)00033-X](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(97)00033-X)
5. Ferraz PA, Burnley C, Karanja J, Viera-Neto A, Santos JE, Chebel RC, Galvão KN. Factors affecting the success of a large embryo transfer program in Holstein cattle in a commercial herd in the southeast region of the United States. *Theriogenology*. 2016; 86(7):1834-1841. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.05.032>
6. Hernández-Martínez J, Lara D, Vázquez D, Retureta A. Unidad de producción bovina con transferencia de embriones en el sur de Veracruz. (Embryo transfer in a bovine production unit located in southern Veracruz state) *Revista Biológico-Agropecuaria Tuxpan*. 2019; 7(2): 222-232. <https://doi.org/10.47808/revistabiogro.v7i2.113>
7. Cárdenas-Bejarano E, Gallardo-López F, Núñez-Espinoza J, Asiaín-Hoyos A, Rodríguez-Chessani M, y Velázquez-Beltrán G. 2016. Redes de innovación en los grupos ganaderos de validación y transferencia de tecnología en México. *Agricultura, Sociedad y Desarrollo*. 13 (2):237-255. <https://doi.org/10.22231/asyd.v13i2.328>
8. Méndez- Cortés V, Mora-Flores JS, García Salazar JA, Hernández-Mendo O, García-Mata R, García-Sánchez RC. Tipología de productores de ganado bovino en la zona norte de Veracruz. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. 2019; 22:305-314 <http://doi.org/10.56369/tsaes.2723>
9. Román SI, Rios A, Montañón M, García A, Vega VE, Sifuentes AM, et al. Mejoramiento genético de los bovinos del trópico. En: Rodríguez O, Coordinador Editorial. Estado del arte sobre investigación e innovación tecnológica en ganadería bovina tropical. México: REDGATRO CONACyT; 2015; 1:99-152. <https://redgatro.fmzv.unam.mx/assets/rn9.pdf>

10. Galina CS, Geffroy M. Dual-Purpose Cattle Raised in Tropical Conditions: What Are Their Shortcomings in Sound Productive and Reproductive Function? *Animals*. 2023; 13(13):2224. <https://doi.org/10.3390/ani13132224>
11. Granados-Rivera LD, Quiroz-Valiente J, Maldonado-Jáquez JA, Granados-Zurita L, Díaz-Rivera P, Oliva-Hernández J. Caracterización y tipificación del sistema doble propósito en la ganadería bovina del Distrito de Desarrollo Rural 151, Tabasco, México. *Acta Universitaria*. 2018; 28(6):47-57. <https://doi.org/10.15174/au.2018.1916>
12. Beck H, Zimmermann N, McVicar T, Vergopolan N, Berg A, Wood EF. Present and future Köppen-Geiger climate classification maps at 1-km resolution. *Science Data*. 2018; 5:180214. <https://doi.org/10.1038/sdata.2018.214>
13. Stringfellow DA, Givens MD. International Embryo Transfer Society. Manual of the international embryo transfer society: a procedural guide and general information for the use of embryo transfer technology emphasizing sanitary procedures (4th ed.). International Embryo Transfer Society. 2010. <https://www.iets.org/Publications/IETS-Manual>
14. Palma G. Transferencia de embriones bovinos y comunicación embriomaternal. En: *Biología de la reproducción*. Mar del Plata, Argentina: Ed. Repro Biotec; 2008.
15. Zavaleta-Martínez A, Barrientos-Morales M, Alpírez-Mendoza M, Rodríguez-Andrade A, Cervantes-Acosta P, Hernández-Beltrán A, Avendaño-Reyes L, Domínguez-Mancera B. Effect of heatwaves on the pregnancy rate of dual-purpose recipient cows transferred with produced *in-vitro* embryos in tropical locations. *Multidisciplinary Science Journal* 2024. 6(7):2024103. <https://doi.org/10.31893/multiscience.2024103>
16. Abdulkadir K, Gülnaz M, Ebru B, Baris G, Abdulkadir O, Hayrettin O, Ahmet G. The effect of ovulatory follicle size at the time of insemination on pregnancy rate in lactating dairy cows. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*. 2016; 40(1):68-74. <https://DOI:10.3906/vet-1506-59>
17. Oyuela LA, Jiménez C. Factores que afectan la tasa de preñez en programas de transferencia de embriones. *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*. 2010; 57(3):159-167. <https://revistas.unal.edu.co/index.php/remevez/article/view/18237/19838>
18. Pérez-Mora A, Segura-Correa JC, Peralta-Torres JA. Factors associated with pregnancy rate in fixed-time embryo transfer in cattle under humid-tropical conditions of México. *Animal Reproduction*. 2020 17(2):e20200007. <https://doi.org/10.1590/1984-3143-AR2020-0007>
19. Thatcher WW, Moreira F, Santos JE, Mattos RC, Lopes FL, Pancarci SM, Risco CA. Effects of hormonal treatments on reproductive performance and embryo production. *Theriogenology*. 2001; 55(1), 75-89. [https://doi.org/10.1016/s0093-691x\(00\)00447-7](https://doi.org/10.1016/s0093-691x(00)00447-7)
20. Domínguez-Mancera B, Hernández-Beltrán A, Rodríguez-Andrade A, Cervantes-Acosta P, Barrientos-Morales M, Pinos-Rodríguez JM. Changes in Livestock Weather Security Index (Temperature Humidity Index, THI) During the Period 1917-2016 in Veracruz, Mexico. *Journal of Animal Research*. 2017. v.7 n.6, p. 983-991. <https://ndpublisher.in/admin/issues/JARv7n6a.pdf>
21. Fernández-Novo A, Pérez-Garnelo SS, Villagrà A, Pérez-Villalobos N Astiz S. The Effect of Stress on Reproduction and Reproductive Technologies in Beef Cattle-A Review. *Animals*. 2020; 10(11):2096. <https://doi.org/10.3390/ani10112096>
22. Martínez JF, Galina CS, Ortiz P, Maquivar MG, Romero-Zúñiga JJ. Effects of Season on Donor and Recipient Cows and Calf Performance from Birth to Weaning in Embryo Transfer Programs in the Tropics. *Animals*. 2021; 11(12):3596. <https://doi.org/10.3390/ani11123596>
23. Amundson JL, Mader TL, Rasby RJ, Hu QS. Environmental effects on pregnancy rate in beef cattle. *Journal of Animal Science*. 2006; 84(12):3415-3420. <https://doi.org/10.2527/jas.2005-611>

24. Blondin P, Beaulieu M, Fournier V, Morin N, Crawford L, Madan P, King WA. Analysis of bovine sexed sperm for IVF from sorting to the embryo. *Theriogenology*. 2009; 71(1):30–38. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.09.017>
25. Vasconcelos JL, Sartori R, Oliveira HN, Guenther JG, Wiltbank MC. Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate. *Theriogenology*. 2001; 56(2):307–314. [https://doi.org/10.1016/s0093-691x\(01\)00565-9](https://doi.org/10.1016/s0093-691x(01)00565-9)
26. Chebel RC, Demétrio DG, Metzger J. Factors affecting success of embryo collection and transfer in large dairy herds. *Theriogenology*. 2008; 69(1):98–106. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2007.09.008>
27. Bényei B, Komlósi I, Pécsi A, Pollott G, Marcos CH, de Oliveira Campos A, Lemes MP. The effect of internal and external factors on bovine embryo transfer results in a tropical environment. *Animal reproduction science*. 2006; 93(3-4):268–279. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2005.07.012>
28. Montiel F, Galina C, Rubio I, and Corro M. Factors affecting pregnancy rate of embryo transfer in *Bos indicus* and *Bos taurus*/*Bos indicus* cows. *Journal of Applied Animal Research*. 2006. 29:149–152. <https://doi.org/10.1080/09712119.2006.9706592>
29. Baruselli PS, Ferreira RM, Sá Filho MF, Nasser LF, Rodrigues CA, Bó GA. Bovine embryo transfer recipient synchronisation and management in tropical environments. *Reproduction, fertility, and development*. 2010; 22(1): 67–74. <https://doi.org/10.1071/RD09214>
30. Contreras DA, Galina CS, Chenoweth P. Prospects for increasing the utilization of cattle embryo transfer by small-scale milk and meat producers in tropical regions. *Reprod. Domest. Anim.* 2021; 56(12): 1479–1485. <https://doi.org/10.1111/rda.14015>
31. Looney CR, Nelson JS, Schneider HJ, Forrest DW. Improving fertility in beef cow recipients. *Theriogenology*. 2006; 65(1):201–209. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.09.023>
32. Valencia OHF, Rodríguez CN, Mantilla T. Factores que afectan la tasa de preñez mediante transferencias de embriones por fertilización *in vitro* en novillas multirraciales en condiciones de trópico colombiano. *Rev Mex Cien Pec.* 2023; 14(2):326-338. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v14i2.6031>
33. Block J, Hansen PJ. Interaction between season and culture with insulin-like growth factor-1 on survival of *in vitro* produced embryos following transfer to lactating dairy cows. *Theriogenology*. 2007; 67(9):1518–1529. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2007.03.012>