

## ARTICULOS ORIGINALES

### Recuperación y transferencia de embriones de vacas Holstein de élite con infecciones uterinas recurrentes.

Rodríguez L, MV\*, Giraldo M, MV\*, Vélez MP\*\* Est. mv., Maldonado JG, MVZ, MS.\*\*

\* Sembrio Ltda, AA 075166 de Medellín.

\*\* Grupo de Teriogenología, Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia. Universidad de Antioquia, Ciudadela Robledo, Carrera 75 No. 65-87. Medellín, Colombia.  
E-mail: juangmal@catios.udea.edu.co

#### Resumen

Seis vacas Holstein élite (promedio de 6049 Kg. de leche/305 días; 9,6 años de edad y 6,5 partos; IEP de 13,8 meses; y 1,9 S/C), presentaron problemas reproductivos caracterizados por infecciones uterinas recurrentes con 340 DA postparto. Después del último tratamiento para infección uterina las vacas se sometieron al esquema de inducción de superovulación con dosis constantes de FSH (días 11-14 del ciclo), aplicación de PGF2 $\alpha$  el día 13 (AM:PM), e IA (AM:PM) y administración de GnRH (AM) el día del celo. A los 8 días se hizo lavado, recolección, clasificación y transferencia de embriones a receptoras Holstein o Brahman comercial (F1), sincronizadas con el ciclo de la donadora. Se obtuvo un promedio de 9( $\pm$  4.8) embriones por lavado, con 39.4% de oocitos no fecundados, 30.3% de embriones transferibles y 30.3% de no transferibles. El 50% de los embriones transferidos se implantaron y la calidad del embrión se correlacionó con la tasa de implantación ( $p < 0.05$ ). La edad de la vaca se correlacionó con el número de embriones por lavado ( $p < 0.05$ ). Estos resultados demuestran que la transferencia de embriones se puede usar para recuperar material genético de vacas élite que presentan problemas de fertilidad.

#### Palabras claves:

*Bos taurus*, Embriones, FSH, Infertilidad, Vaca lechera.

#### Introducción

La transferencia de embriones se ha utilizado como una de las biotecnologías de la reproducción más eficientes para la propagación de material genético de alta calidad y es posible obtener resultados significativas en los programas de mejoramiento genético (11) con una notoria disminución del intervalo generacional, por el uso de la transferencia en programas como el MOET o *Multiple Ovulation Embryo Transfer* (2, 10). Una de las recomendaciones para el uso de la técnica es la selección de la mejor genética del hato y de ahí que las mejores candidatas como donadoras sean las vacas de alta fertilidad para que aseguren el mayor éxito en la producción de embriones viables (12, 14). Sin embargo, muchos productores tienen vacas de alto valor genético con serias alteraciones reproductivas (3) que pueden ser consecuencia de un manejo nutricional inadecuado (1) o una complicación infecciosa postparto de la vaca (8), con aumento del número promedio de días abiertos (DA), los servicios por concepción (S/C) y el costo de los tratamien-

tos. A pesar del uso masivo de la TE en muchos programas de mejoramiento genético en el mundo (2, 9, 11, 16), esta herramienta biotecnológica no se ha explotado para lograr descendencia de vacas con problemas reproductivos. El objetivo del presente estudio fue evaluar la posibilidad de recuperar el material genético de vacas de leche élite que presentaban infecciones uterinas recurrentes, mediante la inducción de superovulación y la transferencia de embriones.

#### Materiales y métodos

*Criterios de inclusión en el estudio.* Se estudiaron seis vacas Holstein de la ganadería Horizontes ubicada en el Municipio de la Ceja (Antioquia), con una altura de 2200 m.s.n.m., temperatura promedio de 16°C, y humedad relativa promedio del 85%.

Las vacas pertenecían al hato de alta calidad genética y se seleccionaron para el estudio por presentar una o varias de las siguientes caracte-

rísticas: infecciones uterinas recurrentes, repeticiones de servicios, aumento anormal de los días abiertos o, finalmente, haber presentado actividad ovárica posparto de acuerdo con los hallazgos anotados por el veterinario de la explotación, sin haber logrado iniciar una gestación. La historia reproductiva de las vacas anterior al inicio del programa de TE, así como también el resumen de su comportamiento productivo y reproductivo antes de entrar en la condición de

infertilidad, se presenta en las tablas 1-6. A continuación se describen algunas características importantes de las vacas del estudio:

1. Vaca No. 3512 (Horizontes Majesty Holster). Registro 3477, nacida el 8 de mayo de 1988, ingresó al estudio a los 8,9 años de edad. La vaca tenía un récord de producción promedio de 5990 litros de leche en 305 días de lactancia (19,6 kg./día). El registro reproductivo de la vaca se presenta en la tabla 1.

**Tabla 1. Historia reproductiva y tratamiento médico de la vaca Horizontes Majesty Holster (Registro 3477).**

Fecha (dd-mm-aa)	Diagnóstico	Tratamiento
04-11-95	Parto	
13-12-95	Vacía, infección utrina	Tilosina: 20cc/i.m./3días
18-01-96	Cuerpo lúteo ovario derecho	PGF2 $\alpha$ : 5cc/i.m.
19-02-96	Quiste folicular ovario derecho	GuRH: 2cc/y.m.
20-03-96	Vacía	GuRH 5cc/i.m., Vit A y E 20cc/i.m.
22-05-96	Folículo retenido izquierdo	GuRH 2cc/i.m.
21-06-96	Cuerpo lúteo retenido derecho	PGF2 $\alpha$ 5cc/i.m.
23-07-96	Vacía ciclando normal	
20-01-97	Cuerpo lúteo izquierdo	Iliren 5cc/i.m., tetraciclina 50cc/i.m.
31-03-97	Folículo derecho	
28-04-97	Vacía ciclando normal	
10-06-97	Primer lavado y T.E.	SOV, IA, Tetraciclina
30-08-97	Segundo lavado y T.E.	SOV, IA, Tetraciclina
22-10-97	Tercer lavado y T.E.	SOV, IA, Tetraciclina

2. Vaca No. 1551 (Horizontes Tripple Threat Hazel) registro 29825, nacida el 24 de septiembre de 1985. Ingresó al estudio a una edad de 11,5 años. La vaca tenía un récord de producción promedio de 6500 kg. para una lactancia de 305 días (21,3 kg./día). El registro reproductivo de la vaca se observa en la tabla 2.

3. Vaca No. 937 (Horizontes Lince Alicia) registro 28812, nacida el 25 de marzo de 1985. Ingresó al estudio a los 12 años de edad con un récord de producción promedio de 5700 kg. de leche en 305 días de lactancia (18,68 Kg./día). El registro reproductivo se presenta en la tabla 3.

4. Vaca No. 3676 (Horizontes Export Lili) Registro 39879, nacida el 14 de mayo de 1989. Ingresó al estudio a los 7,9 años de edad con un récord de producción promedio de 6090 Kg. de leche en una lactancia de 305 días (19,96 Kg./día). La historia reproductiva se presenta en la tabla 4.

5. Vaca No. 2123 (Horizontes Tripple Threat Elvia) Registro 3268, nacida el 28 de junio de 1987. Ingresó al estudio a los 9,8 años de edad con un récord de producción promedio de 5500 Kg. en 305 días de lactancia (18,03 Kg./día). La historia reproductiva se presenta en la tabla 5.

**Tabla 2. Historia reproductiva y tratamiento médico de la vaca Horizontes Tripple Threat Hazel (Registro 29825)**

Fecha (dd-mm-aa)	Diagnóstico	Tratamiento
05-03-96	Parto	
20-03-96	Infección uterina	Tilosina: 20cc/i.m./3días
20-06-96	Urovagina	Buserelina 5cc/i.m. Fureal i.vaginal
23-07-96		Buserelina 5cc/i.m.
22-08-96	Folículo ovario izquierdo	Betadiscristicina X 3 lavados
24-09-96	Cuerpo lúteo derecho retenido	PGF2 $\alpha$ 5cc/i.m.
24-10-96	Cuerpo lúteo izquierdo, infección uterina	PGF2 $\alpha$ 5cc/i.m., betadiscristicina x 3 lavados
27-11-96	Quiste lúteo ovario izquierdo	PGF2 $\alpha$ 5cc/i.m.
19-07-96	Folículo ovario derecho	
24-02-97	Ovario poliquístico izquierdo	GuRH 5cc/i.m., repetición a los 15 días.
31-03-97	Cuerpo lúteo izquierdo	PGF2 $\alpha$ 5cc/i.m.
28-04-97		
Confirmar!	Vacía	GuRH 5cc/i.m., Oxitetracitina 50cc/i.m.
13-04-97	Primer lavado y T.E.	SOV, IA, Tetraciclina
13-06-97	Segundo lavado y T.E.	SOV, IA, Tetraciclina

**Tabla 3. Historia reproductiva y tratamiento médico de la vaca Horizontes Alicia (Registro 28812)**

Fecha - (dd-mm-aa)	Diagnóstico	Tratamiento
14-10-96	Parto	
24-10-96	Infección uterina	Tilosina: 20cc/i.m./4días
19-12-96		Butazinol 10cc/día/3 días, Oxitetraciclina 50 cc/i.m.
20-01-97	Cuerpo lúteo derecho	PGF2 $\alpha$ 5cc/i.m.
24-02-97	Moco turbio, ovulación ovarío izquierdo	Tilosina: 20 cc/i.m.
31-03-97	Cuerpo lúteo izquierdo	PGF2 $\alpha$ 5cc/i.m.
04-97	Descarte por problema reproductivo	
26-04-97	Primer lavado y T.E.	SOV, IA, Tetraciclina
13-06-97	Segundo lavado y T.E.	SOV, IA, Tetraciclina
22-10-97	Tercer lavado y T.E.	SOV, IA, Tetraciclina

**Tabla 4. Historia reproductiva y tratamiento médico de la vaca Horizontes Export Lili (Registro 39879)**

Fecha (dd-mm-aa)	Diagnóstico	Tratamiento
07-10-96	Parto	
27-09-96		Oxitetraciclina tres lavados (50% oxitetraciclina/50% agua)
19-12-96	Cuerpo lúteo derecho	PGF2 $\alpha$ 5cc/i.m.
20-01-97	Folículo derecho retenido	GuRH 5cc/i.m.
28-04-97	Ovario poliquístico izquierdo	Trimetoprimsulfa y GuRH
15-04-97	Primer lavado para T.E.	SOV, IA, Tetraciclina
16-06-97	Segundo lavado para T.E.	SOV, IA, Tetraciclina
20-08-97	Tercer lavado para T.E.	SOV, IA, Tetraciclina
22-10-97	Cuarto lavado para T.E.	SOV, IA, Tetraciclina

**Tabla 5. Historia reproductiva y tratamiento médico de la vaca Horizontes Tripple Threat Elvia (Registro 3268)**

Fecha (dd-mm-aa)	Diagnóstico	Tratamiento
06-07-96	Parto	
23-07-96	Infección uterina	Tilosina 20cc/i.m./3 días
24-09-96	Cuerpo lúteo derecho retenido	PGF2 $\alpha$ 5cc/i.m.
24-10-96	Folículo ovario derecho	
20-01-97	Anestro	Buserelina 5cc/i.m.
- 31-03-97	Anestro	Buserelina 5cc/i.m.
26-04-97	Primer lavado y T.E.	SOV, IA, Tetraciclina
20-10-97	Segundo lavado T.E.	SOV, IA, Tetraciclina

6. Vaca No. 3722 (Horizontes Arlinda Chief Lontana) Registro 37041, nacida el 1 de julio de 1989. Ingresó al estudio a la edad de 7,7 años, con un récord de producción promedio de 6513 kg. para una lactancia promedio de 305 días (21,35 kg./día). El registro reproductivo de la vaca se presenta en la tabla 6.

*Tratamiento de inducción de superovulación.* Las vacas se sometieron al tratamiento de inducción de superovulación con dosis constantes de FSH descrito por Rodríguez et. al, 1998 (13), como se resume a continuación: las vacas recibieron una inyección de 2 ml (2 mg/ml) de pFSH (Folltropin, Vetrepharm, Canadá) con un intervalo de 12 horas, durante los días 11 a 14 del

ciclo de referencia para la SOV, para una dosis total de 32 mg; el día 13 se les aplicó dos dosis de 5 cc (25 mg) de PGF2 $\alpha$  (Lutalyse, Upjohn, Kalamazoo, MI) con intervalo de 12 horas; el día de aparición del estro inducido por la prostaglandina recibieron la primera inseminación artificial en las horas de la mañana y una dosis de 2,5 ml de Buserelina (10 mg) por vía intravenosa (Conceptal, Hoescht, Santafé de Bogotá); doce horas más tarde recibieron la segunda inseminación. Para las inseminaciones se usó semen de toros Holstein de alta selección.

*Lavado, recolección y clasificación de los embriones.* Ocho días después de la inseminación artificial las vacas se sometieron al lavado para re-

Tabla 6. Historia reproductiva y tratamiento médico de la vaca Horizontes Arlinda Chief Lontana (Registro 37041)

Fecha (dd-mm-aa)	Diagnóstico	Tratamiento
15-02-96	Parto	
19-02-96	Involución normal	
20-03-96	Metritis	Oxitetraciclina, 3 lavados
21-06-96	Vacía ciclando normal	
24-09-96	Folículo ovario derecho	Buserelina, 5cc /i.m.
27-12-96	Folículo derecho retenido	GuRH 5cc/i.m y tres lavados con Trimetoprimsulfa
26-04-97	Primera SOV y TE	
26-05-97	Cuerpo lúteo derecho	PGF2 $\alpha$ 5 cc/i.m
20-10-97	Segunda SOV y TE	

colección de embriones por el método de catéter uterino descrito por West y Donaldson, 1982 (19) de la siguiente manera: la región perineal se lavó y desinfectó con yodo, se introdujo la sonda de Foley por vía vaginal y endocervical hasta fijarlo en el cuerpo uterino, luego se instiló medio de lavado (Vigro complete Flush Solution, Albúmina 1% AB Technology, Pullman, WA, USA) y se hizo masaje en cada cuerno para proceder con la recolección. El lavado se realizó en un recipiente con filtro (EMCON, Embryo Concentrator, Immuno System, Spring Valley, USA) de donde fueron traspasados a una caja de petri de 5 cm<sup>2</sup>; se recolectaron y se pasaron a cajas de Petry mas pequeñas (Suspensión Culture Dish) para embeberlos en el medio Holding (Vigro Holding ; A.B. Technology, Pullman, WA, USA) y posteriormente clasificarlos. Un día después de cada recuperación de embriones las vacas fueron sometidas a un lavado intrauterino con 50 cc de una solución de tetraciclina al 50% en agua destilada, para prevenir infecciones posteriores al procedimiento de lavado de los embriones (17). Las vacas fueron sometidas a SOV con un intervalo promedio de dos meses.

Los embriones recolectados fueron clasificados de acuerdo con el estado de desarrollo, según la clasificación morfológica del INRA, Francia, 1982 (4): Blastocisto 1 (B1), blastocisto 2 (B2), blastocisto 3 (B3), blastocisto 4 (B4), mórula 1 (M1), mórula 2 (M2), mórula 3 (M3), mórula 4 (M4) y oocitos.

*Sincronización de receptoras y transferencia de los embriones.* Las receptoras seleccionadas fueron

novillas F1 (Holstein x Cebú) provenientes del Valle del Cauca y novillas Holstein comercial o puro de la Hacienda Horizontes. Las hembras F1 se aclimataron en la región de La Ceja durante un tiempo aproximado de dos meses, se les practicó un chequeo genital y cuando se encontraron novillas con gestaciones entre 2.5 y 6 meses se les aplicó una inyección de PGF2 $\alpha$  (Dinoprost, 25 mg/i.m.). Aquellas novillas que presentaron secreciones uterinas después del tratamiento, compatibles con infección uterina, recibieron una dosis de oxitetraciclina (35 cc/i.m.). Cuando se confirmó el celo con presencia de moco limpio se destinaron a la sincronización para la transferencia de embriones. Las receptoras Holstein se escogieron de los lotes de novillas comerciales para la venta, de acuerdo con su desarrollo corporal y su normal condición reproductiva al chequeo genital. En algunos casos particulares se utilizaron novillas puras.

Para la sincronización se hicieron dos aplicaciones de 25 mg de Dinoprost (i.m.) con intervalo de 10 días, correspondientes a los días 2 y 12 del ciclo de inducción de SOV de la donadora (14). Después de la segunda aplicación se observaron tres veces al día, anotando la fecha y hora de presentación del estro. Para la transferencia se seleccionaron como receptoras aptas aquellas novillas que presentaron calor un día antes (+ 1), el mismo día (igual) o un día después (- 1), respecto del calor de la donadora. Del total de novillas seleccionadas inicialmente, se utilizaron finalmente 20 novillas F1 y 25 Holstein.

*Criterios de exclusión.* Durante el estudio se descartaron las receptoras que no presentaron calor, que presentaron un calor poco definido, o las que no quedaron preñadas después de dos transferencias.

*Análisis estadístico.* Para comparar las tasas de gestación de acuerdo con la calidad del embrión transferido, se hicieron pruebas de Mantel-Haenszel o Exacta de Fisher. Además, se hicieron pruebas de regresión simple para establecer las asociaciones entre el número de embriones colectados con la edad de la vaca y el número de días abiertos al inicio del tratamiento; y entre el porcentaje de preñez y la calidad del embrión.

## Resultados

Todas las vacas presentaron parámetros de eficiencia reproductiva superiores a los informados para el promedio de la raza y de su categoría productiva. En la tabla 7 se presenta el resumen de los hallazgos productivos y reproductivos de las vacas, al momento de iniciar el tratamiento de inducción de superovulación.

El 100% de las vacas respondieron al tratamiento de inducción de superovulación reflejado por la recuperación de embriones viables; se obtuvieron 165 embriones en 16 lavados para un promedio de 10.3 embriones/lavado (tabla 8). A las donadoras se les recolectaron oocitos no fertilizados (39.4%), embriones no transferibles (30.3%) y embriones transferibles (30.3%). De los transferibles, se obtuvieron B1 (21), B2 (7), M1 (6), M2 (7) y M3 (9). Del total de embriones transferidos se implantaron el 50% (tablas 9 y 10).

Los embriones transferidos en estado de B1 y B2 presentaron significativamente mayor tasa de gestación ( $P < 0.01$ ) que los embriones en estado de M1 y M2; mientras que los embriones transferidos en estado de M3 presentaron la menor tasa de gestación respecto de los B1 y B2 ( $p < 0.01$ ) y las M1 y M2 ( $P < 0.05$ ). Los resultados se presentan en la tabla 10.

Del total de gestaciones obtenidas el 48% ocurrieron en las receptoras Holstein y el 52% en las receptoras F1 ( $P > 0.05$ ). Al relacionar las tasas de gestación según el grado de sincronización donadora:receptora, se encontró que las receptoras «+1» tuvieron significativamente ( $P < 0.01$ ) mayores tasas de gestación (59%) que las receptoras «igual» (32%) o las receptoras «-1» (10%).

El análisis de regresión simple indicó que hubo una correlación significativa entre la edad de la vaca (número de partos) y el número de embriones recolectados por lavado ( $p < 0.05$ ;  $R^2 = 69\%$ ; Coeficiente de correlación = 0.83). De otro lado, no se encontró asociación significativa ( $p > 0.05$ ) entre el número de embriones colectados y los días abiertos entre el último parto y la fecha de inicio del tratamiento de SOV. Tampoco se encontró asociación entre el número de cuerpos lúteos anotados en el registro de cada vaca y la respuesta SOV ( $p > 0.05$ ).

## Discusión

La selección de una vaca donadora para la transferencia de embriones depende de los objetivos del programa de mejoramiento genético trazado (12) y de factores como el estado sanitario (6, 14) y el comportamiento reproductivo de la donadora (18). Uno de los criterios recomendados para iniciar los tratamientos de inducción de superovulación (SOV) es que las donadoras hayan tenido al menos tres ciclos estrales regulares no inducidos (14); otro es que la vaca se encuentre un estado nutricional balanceado, porque los desbalances con frecuencia se asocian con disfunción reproductiva (1, 7, 8).

Uno de los principales objetivos de la transferencia de embriones es aumentar el número de animales genéticamente superiores a partir de donadores (machos y hembras) previamente seleccionados. Esta selección debe realizarse observando los siguientes factores (3):

1. Genéticos. Los apareamientos deben ser orientados para que los productos sean realmente mejorados. En las pruebas de progeñe efectuadas en los países desarrollados, el enfoque principal para escoger los reproductores para un programa de transferencia de embriones en ganado tipo carne, se ha hecho sobre indicadores como el peso al nacer, la habilidad materna, el peso al destete, la ganancia diaria de peso y el rendimiento en canal.
2. Clínicos reproductivos. Lo ideal es seleccionar una donadora entre 3 y 10 años de edad, que tenga un desarrollo reproductivo normal, fertilidad comprobada, ciclo estral regular, que no tengan historia patológica del sistema reproductivo y que tengan un diagnóstico sanitario conocido.

En el presente estudio los anteriores postulados se cumplieron solo en forma parcial porque las vacas eran de buena genética y buena historia productiva y reproductiva, para parámetros como edad, producción láctea promedio, número de partos, servicios por concepción e intervalo entre partos (tabla 7). Sin embargo, por circunstancias desconocidas, las vacas iniciaron un período de anomalía reproductiva cuya historia se puede ob-

servar en las tablas 1 a 6, caracterizado por retornos regulares e irregulares, infecciones uterinas persistentes con sus respectivos esquemas terapéuticos y, en última instancia, un promedio de 340,5 días abiertos hasta el inicio del programa de transferencia de embriones (tabla 7). En términos productivos estos resultados implican unas pérdidas de 6742 Kg. de leche por donadora y en términos reproductivos 0.92 crías/vaca.

Tabla 7. Parámetros reproductivos y producción láctea de vacas Holstein élite con infertilidad, sometidas a transferencia de embriones.

Vaca	Edad (años)	Producción (kg.)	Partos	IEP* (meses)	SC	DA'
3512	8,9	5990	5	15,5	2,4	584,5
1551	11,5	6500	8	12,9	1,6	343,5
937	12	5700	10	11	1,4	195
3676	7,9	6090	5	15	2,6	191
2123	9,8	5500	7	13,1	1,9	294,5
3722	7,7	6513	4	15,7	1,5	436
Total <sup>b</sup>	9,6 ± 1,8	6049 ± 412	6,5 ± 1,8	13,8 ± 1,8	1,9 ± 0,5	340,5 ± 151

a. Promedio ponderado con el número de partos

b. Valores promedio ± error estándar

\*: DA desde el último parto hasta el inicio de la TE (primera superovulación).

La edad promedio de las vacas incluidas en el presente estudio fue de 9,6 años, lo que indica que se encontraban en el límite superior del rango aceptado para vacas donadoras (3-10 años). De igual forma, el número de partos promedio (7,8) y el intervalo entre partos promedio (13,8 meses) dan una idea del buen comportamiento reproductivo de las vacas antes de entrar en la condición de infertilidad. Sin embargo, los servicios por concepción (1,9) están ligeramente por encima del valor aceptado como normal (1,6) para vacas multíparas en explotaciones tipo leche.

Los resultados del estudio representan una alternativa interesante de aplicación de la transferencia de embriones en vacas que presenten una condición de infertilidad después de haber demostrado una buena productividad, lo que podría indicar que se trata de animales con un valor genético que se puede propagar y descartaría la posibilidad de una discusión ética sobre la aplicación de la transferencia de embriones en vacas con este tipo de historia reproductiva. Por

el contrario, la aplicación de la transferencia en vacas que nunca hayan mostrado un buen desempeño reproductivo, llevaría implícita una fuerte discusión ética sobre la conveniencia de propagar este tipo de material genético.

De otro lado, la historia reproductiva de las vacas antes de entrar en el programa de transferencia y los resultados obtenidos, sugieren que la causa de la infertilidad era debida posiblemente a problemas del tracto genital más que a problemas del funcionamiento ovárico. La mayoría de las vacas presentaron una infección uterina en promedio a los 22,4 ± 5,3 días (± error estándar) postparto, en tanto que la reactivación ovárica postparto se diagnosticó en promedio a los 103,16 ± 15,6 días, de acuerdo con la presencia de cuerpo lúteo (lo que indica que varias semanas antes las vacas pudieron haber reanudado la actividad folicular ovárica). Por consiguiente, cuando se seleccionen vacas con problemas de infertilidad para los programas de transferencia de embriones se deberá tener en cuenta si la alteración es de origen ovárico o uterino.

La respuesta al tratamiento de inducción de superovulación podría sustentar la sugerencia hecha sobre el funcionamiento de los ovarios, porque en la mayoría de las vacas se recolectaron tanto oocitos no fertilizados (39.4%), como embriones en sus diferentes estadios de desarro-

llo (60.6%), lo que se refleja en un promedio de 10.3 embriones colectados por lavado. La excepción podría ser la vaca No. 3722, que produjo en un lavado tan solo dos embriones en estado de B1 y un oocito sin fertilizar (tabla 8).

Tabla 8. Número de embriones colectados y calidad de los embriones en vacas Holstein con problemas reproductivos sometidas a tratamiento para transferencia de embriones.

Vaca	n	Embriones				Calidad de los embriones								
		Col	Trn	Peg	NoP	Ooc	B1	B2	B3	B4	M1	M2	M3	M4
3512	4	27	13	8	5	11	8			1	1	5		1
937	3	37	6	3	3	24	4				1		2	6
3676	4	62	21	11	10	19	7	7	1	8		5	2	13
2123	2	20	4	2	2	3					4	2		11
1551	2	16	4		4	7								9
3722	1	3	2	1	1	1	2							
Total	16	165	50	25	25	65	21	7	1	9	6	12	13	31

n= número de lavados por cada vaca problema; Col: embriones colectados; Trn: número de embriones transferidos; Peg: número de embriones pegados; NoP: número de embriones no pegados; Ooc: número de oocitos no fertilizados.

Sin embargo, la respuesta superovulatoria observada, junto con el alto número de oocitos no fecundados, podría indicar que los ovarios estaban sometidos al efecto de algún factor interno posiblemente de origen metabólico (7) que alteró la viabilidad y el potencial de fertilización de los oocitos; o bien, que afectó la capacidad fertilizante del semen: las vacas del presente estudio tenían una producción promedio de 6049 Kg. de leche, equivalentes a 19,83 Kg. de leche/día, producción que exige unos altos requerimientos nutricionales que pudieron haber ocasionado desbalances metabólicos en las vacas.

En vacas lecheras de alta producción los desbalances nutricionales pueden acarrear problemas metabólicos severos o alteraciones como cetosis, hipocalcemias e hipomagnesemias subclínicas, entre otras (5, 7, 15) que tienden a ser más frecuentes en vacas multíparas, como fue el caso de las vacas del presente estudio. Tanto las alteraciones metabólicas como la

multiparidad, están asociadas con aumento en la frecuencia y severidad de infecciones uterinas que, además, tienden a volverse persistentes (8).

Si bien en el presente estudio no se hicieron análisis sobre el balance de la dieta de las vacas, ni se practicaron pruebas para caracterizar su estado metabólico, la historia reproductiva después del último parto caracterizada por infecciones uterinas (tablas 1-6) y el comportamiento ovárico aparentemente normal, denotado por la ciclicidad y la respuesta al tratamiento de inducción de superovulación, sugieren que las vacas tenían un problema metabólico subclínico.

Por consiguiente, la baja proporción de embriones de buena calidad (30.3%) y el alto número de oocitos no fertilizados (40.6%), podrían ser un indicador del efecto de las alteraciones metabólicas tanto en la capacidad fertilizante del semen, disminuida por un ambiente uterino hostil, como en la viabilidad de los oocitos, altera-

Tabla 9. Porcentajes de éxito de la transferencia de embriones de vacas Holstein élite con problemas reproductivos.

Vaca	n	Embriones por lavado	% Buena calidad	% Transferidos	% Preñez
3512	4	6,75	58,8	48,1	61,5
937	3	12,3	13,5	16,2	50
3676	4	15,5	30,6	33,9	52,4
2123	2	10	30	20	25
1551	2	8	0	25	0
3722	1	3	66,6	66,6	50
<b>Total</b>	<b>16</b>	<b>10,3</b>	<b>27,9</b>	<b>30,3</b>	<b>50</b>

Tabla 10. Relación entre la calidad de los embriones transferidos y la tasa de gestación.

Calidad de los embriones vs tasa de gestación											
Vaca	n	M <sub>1</sub>	P+	M <sub>2</sub>	P+	M <sub>3</sub>	P+	B <sub>1</sub>	P+	B <sub>2</sub>	P+
3512	3	1	1	2	2	2	0	8	6	0	0
937	2	1	0	0	0	1	0	4	3	0	0
3676	4	0	0	5	1	2	1	7	4	7	5
2123	1	4	2	0	0	0	0	0	0	0	0
1551	1	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0
3722	1	0	0	0	0	0	0	2	1	0	0
<b>Total</b>	<b>12</b>	<b>6</b>	<b>3</b>	<b>7</b>	<b>3</b>	<b>9</b>	<b>1</b>	<b>21</b>	<b>14</b>	<b>7</b>	<b>5</b>
Tasa de preñez (%)		M <sub>1</sub> = 50 <sup>a</sup>		M <sub>2</sub> = 42.8 <sup>a</sup>		M <sub>3</sub> = 11.1 <sup>b</sup>		B <sub>1</sub> = 66.6 <sup>c</sup>		B <sub>2</sub> = 71.4 <sup>c</sup>	

Números con diferente superíndice indican diferencias estadísticas significativas (a vs b P<0.05; b vs c P<0.01; a vs c P <0.05).

da por efecto de metabolitos como el amonio y los cuerpos cetónicos; o tóxicos como nitratos y nitritos. De ahí que una de nuestras recomendaciones para estudios futuros, es someter a las vacas que se van a destinar como donadoras a un riguroso examen de su dieta y su estado metabólico, para garantizar que las vacas puedan ser sometidas al programa de transferencia de embriones sin tener inconvenientes con las implicaciones éticas del procedimiento.

Los resultados del estudio demuestran que la transferencia de embriones también puede ser

utilizada para recuperar material genético de alto valor a partir de donadoras que, habiendo mostrado un comportamiento productivo y reproductivo bueno, para los parámetros de la raza, entran en una condición de infertilidad que puede ser atribuida a otros factores diferentes al mal funcionamiento de los ovarios.

Por último, en los registros de las vacas antes de iniciar el tratamiento de SOV para la TE, se pueden observar algunas imprecisiones en los diagnósticos realizados y en los tratamientos instaurados, que escapan de la responsabilidad

de los autores del artículo. De ahí que se haga un llamado a especificar el diagnóstico de las afecciones reproductivas en el postparto, con miras a racionalizar el tratamiento médico de las afecciones del puerperio. No obstante, ante los

hallazgos ováricos que indicaban algún tipo de reactivación folicular y lútea postparto en todas las hembras, la decisión de incluir las vacas en el estudio obedeció, en esencia, a su imposibilidad manifiesta para quedar preñadas.

### Agradecimientos

A Sembrio Ltda, por el apoyo técnico y logístico para la ejecución del estudio. A Colciencias y al Comité para el Desarrollo de la Investigación de la Universidad de Antioquia (CODI) por la financiación de las actividades del Grupo de Teriogenología (Proyecto 1115-04-036-95). A la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Antioquia por la financiación de María Paulina Vélez (Programa Jóvenes investigadores, contrato 004-97).

### Summary

*Six High quality Holstein cows (average of 6049 kg./305 days milk yield; 9,6 years old with 7,8 calving; 13,2 months of Calving interval; and 1,9 breeds/conception) presented recurrent uterine infections with 340,5 open days after calving. After the last successful uterine treatment cows were induced to superovulation with constant FSH doses (days 11-14 of cycle), PGF2 $\alpha$  day 13 (AM:PM) with AI (AM:PM) and GnRH treatment (AM) at the PGF2 $\alpha$ -induced estrus. Eight days after AI cows were flushed and embryos recovered, classified and transferred to Holstein or cross-breed (F1) Brahman heifers synchronized with the donor. The average recovery rate was 10,3 embryos/flushing, with 39,4% non fertilized oocytes, 30,3% transferable and 30,3% non-transferable embryos. Fifty percent of transferred embryos become attached and embryo quality significantly correlates with implantation rate ( $p < 0.05$ ). The age of the cows was significantly associated with embryo-recovering rate ( $p < 0.05$ ). These results showed that progeny from high-quality Dairy cows with recurrent uterine infections can be recovered by embryo transfer.*

**Key words:** *Bos taurus*, Dairy cows, Embryos, FSH, Infertility

### Referencias

- Betteridge KJ, Rieger D. Embryo transfer and related techniques in domestic animals, and their implications for human medicine. *Human Reprod Update* 1993; 8: 147 -167.
- Callesen H, Libourissen T, Greve T. Practical aspects of multiple ovulation-embryo transfer in cattle. *Anim Reprod Sci* 1996; 42:215-226.
- De Bem AR, Rumpf R, Vieira R. et al. III Curso de transferencia e micromanipulacao de embrioes nas especies bovina e equina. Brasília, DF, 1993.
- Embryo transfer in cattle. Rio Vista International Inc. San Antonio, Texas. 1982. Chapter 7.
- Goff JP, Horst RL. Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. *J Dairy Sci* 1997; 80:1260-1268.
- Hussain AM, Jillella D, Daniel RCW, Frost AJ. Studies on some bacteriological aspects of non-surgical embryo transfer in cattle. *Reprod Dom Anim* 1994; 29:55-60.
- Larson SF, Butler WR, Currie WB. Reduce fertility associated with low progesterone postbreeding and increased milk urea nitrogen in lactating cows. *J Dairy Sci* 1997; 80: 1288-1295
- Lewis GS. Uterine health and disorders. *J Dairy Sci* 1997; 80: 984 - 994.
- Maldonado JG, Vélez MP. Memorias Curso internacional sobre transferencia de embriones y técnicas complementarias en bovinos. Medellín, Universidad de Antioquia, Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia. 1997.

10. Meinecke B. Superovulation: recent advances and practical experience. 10e Réunion A.E.T.E. Lyon, 9-10 septembre 1994. 1-9p.
11. Nicholas FW. Genetic improvement through reproductive technology. *Anim Reprod Sci* 1996; 42:205-214.
12. Risinger T, West J. Practical applications and business aspects of embryo transfer. En: *Embryo transfer in Cattle*. Rio Vista International Inc. San Antonio, Texas. 1982; Chapter 3.
13. Rodríguez L, Valencia L, Ruíz ZT, et al. Respuesta superovulatoria de vacas criollas colombianas Blanco Oreginegro (BON) al tratamiento con dos fuentes de FSH: informe de tres casos. *Rev Col Ciencias Pec* 1998; 11 (1): 37-44.
14. Rodríguez L. Transferencia de embriones. En: Maldonado JG, Vélez MP., Eds. *Memorias Curso Internacional sobre transferencia de embriones y técnicas complementarias en bovinos*. Medellín, Universidad de Antioquia, Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, 1997.
15. Sargeant JM, Wayne-Martin S, Lissemore KD, et al. Associations between milk-protein production and reproduction, health and culling. *Prev Vet Med* 1998; 35:39-51.
16. Suzuki T. Bovine embryo transfer and related techniques. *Mol Reprod Develop* 1993; 36:236-237.
17. Thibier M, Guérin B. Le controle de qualité sanitaire du transfert d'embryons bovins: six années d'expérience française. *Bull Acad Vet France* 1993; 66:429-438.
18. Wenigerkind H, Modl J, Palma GA, Zakhartchenko V, Brem G. Ultrasound-guided follicle aspiration and embryo production in nonlactating elite cows. *Reprod Domestic Anim* 1997; 32:107-117.
19. West GM, Donaldson LE. Non-surgical embryo transfer. En: *Embryo transfer in Cattle*. Rio Vista International Inc. San Antonio, Texas. 1982; Chapter 8.