

Factores que afectan la tasa de preñez mediante transferencias de embriones por fertilización *in vitro* en novillas multirraciales en condiciones de trópico colombiano

Heli Fernando Valencia Ocampo ^{a*}

Nancy Rodríguez Colorado ^a

Tatiana Mantilla ^a

^a Universidad Francisco de Paula Santander Ocaña. Sede El Algodonal Km 1 Vía Acolsure; Facultad de Ciencias Agrarias y del Ambiente. Ocaña, Colombia.

*Autor de correspondencia: hfvalenciao@ufpso.edu.co

Resumen:

La transferencia de embriones (TE) es considerada actualmente como una herramienta biotecnológica con gran importancia para multiplicar y obtener individuos con potencialidades productivas y alto mérito genético. El objetivo de este estudio fue determinar la influencia de factores como ITH, tamaño del CL, estado de desarrollo del embrión y peso sobre la tasa de preñez mediante transferencia de embriones por fertilización *in vitro* en novillas multirraciales. Se seleccionaron 840 novillas como receptoras, con edades promedio de 3 años, un peso de 346.5 ± 33.4 kg de peso vivo, a las cuales se les aplicó un protocolo de sincronización para TE, previo registro del estadio del embrión, seguimiento ecográfico y se realizó el monitoreo de variables medioambientales. La información se analizó mediante un modelo de regresión logística para determinar la correlación entre las variables independientes sobre la variable dicotómica de respuesta tasa de preñez. Se determinó la influencia del tamaño del cuerpo lúteo (CL) dado las diferencias significativas ($P < 0.05$) en los tamaños de CL1 y CL2. También, se encontró diferencias ($P < 0.05$) con los estadios de BL y BX. En contraste, no se encontró diferencias estadísticas ($P > 0.05$) en las demás variables. El presente estudio evidenció el impacto del tamaño del CL y el desarrollo del embrión en el éxito de la técnica de TE.

Palabras clave: Transferencia de embriones, Índice temperatura humedad (ITH), Fertilización *in vitro*, Cuerpo lúteo (CL).

Recibido: 26/07/2021

Aceptado: 19/01/2022

Introducción

La transferencia de embriones (TE), es considerada actualmente como una herramienta biotecnológica con gran importancia para multiplicar y obtener individuos con potencialidades productivas y alto mérito genético, que sean capaces de mejorar el rendimiento en los sistemas de producción bovina⁽¹⁾. Diversos estudios evidencian el impacto de los factores que influyen en la efectividad de la técnica, los factores intrínsecos los cuales son propios del animal y están directamente relacionados a la fisiología del mismo, así también, factores relacionados con el embrión (tamaño del cuerpo lúteo (CL), estadio del desarrollo del embrión, toros usados para la fertilización, entre otros); y los factores extrínsecos que se relacionan al medio que rodea a los animales y que afecta de alguna manera la fisiología del animal (ambiente, nutrición, manejo, entre otros)⁽²⁾.

Las condiciones climáticas en niveles fuera del estado de reposo del animal, enmarcan la productividad del individuo desestabilizando las condiciones de confort y sometiéndolo a alteraciones de funcionamiento fisiológico que lo lleva a un medio de estrés calórico (EC)⁽³⁾. A lo largo de los años muchas investigaciones han establecido que el índice de temperatura y humedad (ITH), puede especificar en función de la combinación de las variables temperatura y humedad relativa, el grado de EC que sufren los animales⁽⁴⁾. El valor del ITH varía entre autores, pero se encuentra similitud al concretar que los valores > 72 presenta un EC en los animales. En este sentido, se consideran diferentes umbrales para caracterizar el estado de confort animal, según el valor del ITH, se caracteriza el EC como: confort (< 68), malestar leve (68 - 72), malestar (72 - 75), alerta (75 - 79), peligro (79 - 84) y emergencia (> 84)⁽⁵⁾. No obstante, la mejora en la técnica y los resultados de las tasas de preñez siguen siendo tema de investigación teniendo en cuenta la cantidad de factores que influyen en el éxito de la biotecnología⁽⁶⁾.

El objetivo de este estudio fue determinar la influencia de factores como ITH, tamaño del CL, estado de desarrollo del embrión y peso sobre la tasa de preñez mediante transferencia de embriones por fertilización *in vitro* en novillas multirraciales.

Material y métodos

El estudio se realizó en Colombia, en el municipio de Puerto Boyacá ubicado geográficamente a 5°58'34" N y 74°35'15" O, perteneciente al departamento de Boyacá. Se hizo un experimento observacional con el fin de medir las variables ITH, tamaño del CL, estado de desarrollo del embrión y peso, así mismo se estimó como pueden afectar la tasa de preñez obtenida mediante TE por fertilización *in vitro*. Se seleccionaron novillas multirraciales (n= 840) receptoras con una edad promedio de 3 años, con un peso promedio de 346.5 kg; se realizó el manejo sanitario previo a los trabajos reproductivos, vitaminización, vermifugación, vacunación contra enfermedades reproductivas, antibioterapia y baño para parásitos externos. En el mismo sentido, se hizo un pesaje de control cada mes observando así la ganancia de pesos de los animales. La alimentación se implementó mediante pastoreo extensivo predominando las especies de guineas (*Megathyrus maximum*), braquiaria dulce (*Brachiaria humidicola*), braquipará (*Brachiaria mutica*), agua a voluntad y sal mineralizada al 8 % de fósforo, de esta manera se brindó un manejo homogéneo para todos los animales. Las variables como la raza no fueron evaluadas, dada las condiciones de alta variabilidad en el componente racial de las hembras receptoras.

Los trabajos reproductivos se iniciaron en el mes de marzo en continuas actividades hasta el mes de diciembre del año 2020; previo a iniciar los trabajos las receptoras fueron examinadas por vía rectal y ecográfica, seleccionando animales que no tuvieran problemas anatómicos de útero, cuello uterino y ovarios que limitaran la respuesta a la transferencia. El protocolo de sincronización para las receptoras que se implementó fue de combinación de progesterona con benzoato de estradiol de la siguiente manera: el día 0 un dispositivo intravaginal bovino de liberación de progesterona (0.6 g de progesterona P4) más benzoato de estradiol (2 mg). El dispositivo fue retirado el día 8 y se aplicaron 300 UI de eCG (gonadotropina corionica equina), 150 µg de D-cloprostenol (análogo sintético de la prostaglandina F2α) y 1 mg de cipionato de estradiol⁽⁷⁾.

La transferencia de embriones se realizó el día 17 del inicio del protocolo de sincronización, para esto se realizó primero mediante ultrasonografía transrectal la palpación con el fin de detectar la presencia de un cuerpo lúteo en el ovario. Posteriormente, para la ejecución de la técnica de transferencia, se aplicó 3.5 a 4 ml de lidocaína (anestesia epidural) a la receptora, se limpió la zona vulvar y luego el embrión fue colocado en el punto más distal del cuerno uterino ipsilateral al ovario que presenta el cuerpo lúteo⁽⁸⁾. Los embriones utilizados fueron por fertilización *in vitro* obtenidos y empacados por profesionales del laboratorio BIOEMBRIO FIV S.A.S. de alrededor de 7 días, los cuales determinaban el estadio del embrión al empacarlo. Los embriones usados en este estudio fueron de la raza Girolando (F1 y 3/8 Gyr X 5/8 Holstein). La técnica fue aplicada por un solo veterinario con experiencia evitando variabilidad en el procedimiento. La detección de la gestación se realizó el día 28

después de proceso de transferencia, por lo cual se utilizó un ecógrafo Chison eco2-vet con un transductor lineal L7V-A 6.5MHz, donde se determinó si había presencia de la vesícula gestacional en el útero mediante la ecografía para el diagnóstico positivo.

Datos meteorológicos

Los datos medioambientales se obtuvieron del Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales (IDEAM), mediante una estación meteorológica cerca al área de estudio. El valor del índice fue calculado con los datos de temperatura y humedad relativa proporcionados por dicha estación. El índice de temperatura-humedad relativa (ITH) se calculó mediante la ecuación 1 reportada por Habeeb⁽⁵⁾:

$$ITH = (1.8 * Ta + 32) - [(0.55 - 0.0055 * HR) \times (1.8 * Ta - 26)]$$

Donde: HR= Humedad relativa del aire (%) y Ta= Temperatura del aire (°C).

Análisis de los datos

Los datos fueron analizados usando el programa estadístico Epi Info versión 7⁽⁹⁾, se utilizó un análisis de regresión logística para revelar el modelo de la relación entre variables independientes (tamaño del CL, estadio del embrión, ITH y precipitación) sobre la variable dicotómica de respuesta (tasa de preñez) que se obtuvo usando la transferencia de embriones; este modelo estadístico recurre a la razón de probabilidades, o “Odds ratios” (OR). Medidas estandarizadas que permiten comparar el nivel de influencia o fortaleza de las variables independientes sobre la variable dependiente, para el nivel de significancia de las pruebas se aceptaron $P < 0.05$. El GLM se describe como $Y = \beta_0 + \alpha + e$. Donde Y es la variable respuesta 1= preñada y 0= no preñada, β_0 es el intercepto, α es el efecto de las variables categóricas en estudio y e es el error estadístico. Así mismo, la variable continua de peso se analizó mediante estadística descriptiva y un análisis de varianza ANOVA observando el grado de significancia que presentaba dicha variable al asociarlo con la variable de respuesta.

Resultados

Se realizaron un total de 2,259 sincronizaciones y se obtuvo una respuesta general a los protocolos de sincronización tiempo fijo del 75.6 %, lo que permitió realizar un total de 1,710 transferencias con embriones por fertilización *in vitro*, donde se logró una tasa de preñez general del 29 %.

Efecto del tamaño del CL sobre la tasa de preñez

La clasificación del CL de acuerdo con el tamaño permitió obtener tres categorías CL1: <15 mm, CL2: 15-25 mm; CL3: >25 mm de diámetro⁽¹⁰⁾. El Cuadro 1 muestra que al asociar la tasa de preñez obtenida con el tamaño del cuerpo lúteo se encuentran diferencias significativas ($P<0.05$) para los tamaños de CL1 y CL2. Después de la transferencia se obtuvo que la probabilidad de preñez (razón de probabilidades, OR) es de 0.46 para el CL1; 0.62 para CL2 y 0.67 para CL3. Esto evidenció que existe 0.21 y 0.16 veces más de obtener una preñez con un CL3 y CL2 respectivamente, comparado con el CL1; de esta manera se tiene mejores probabilidades de aumentar las tasas de preñez cuando se transfieren embriones con mayores tamaños de CL 3 y 2 comparados con el CL1.

Cuadro 1: Asociación de tasa de preñez con el tamaño del CL

Variable	Preñez (%)	Razón de probabilidades	Intervalo de confianza 95 %		P-valor
Tamaño CL1	25	0.4629	0.2636	0.8128	<u>0.0073</u>
Tamaño CL2	31	0.6264	0.4051	0.9688	<u>0.0355</u>
Tamaño CL3	32	0.6709	0.4342	1.0367	0.0722
Constante		*	*	*	0.1255

Los valores subrayados presentan diferencias significativas ($P<0.05$).

Efecto del estadio del embrión sobre la tasa de preñez

Estadio del embrión se refiere al tiempo y desarrollo del embrión teniendo en cuenta las pautas de clasificación establecidas por la Sociedad internacional de transferencia de embriones (IETS)⁽¹¹⁾; identificado con las letras BI: blastocito inicial alrededor de 5 días de desarrollo, BL: blastocito con 6 días de desarrollo, BX: blastocisto expandido con 7 días de desarrollo y BN: blastocisto en eclosión se encuentra rompiendo la zona pelúcida.

Los análisis realizados para conocer el efecto del estadio del embrión sobre la preñez evidencian diferencias significativas (Cuadro 2) con los estadios de BL y BX con valores P de 0.0136 y 0.0000 respectivamente. Se observa también que las probabilidades OR de obtener una preñez transfiriendo embriones con estadios de desarrollo de BX y BL es de 0.9 y 0.5 veces más respectivamente comparado con BI. Esto puede inferir que, a mayor desarrollo en embriones con la zona pelúcida intacta, refleja una mayor actividad y viabilidad de estos generando mejores tasas de preñez que al transferir embriones tardíos comprometiendo la fertilidad.

Cuadro 2: Asociación de tasa de preñez con el efecto del estadio del embrión

Variable	Razón de probabilidades	Intervalo de confianza 95 %		P-valor
Estadio embrión BI	0.8290	0.5569	1.2342	0.3557
Estadio embrión BL	<u>1.4129</u>	<u>1.0737</u>	<u>1.8594</u>	<u>0.0136</u>
Estadio embrión BN	0.3060	0.0385	2.4337	0.2630
Estadio embrión BX	<u>1.7750</u>	<u>1.3727</u>	<u>2.2952</u>	<u>0.0000</u>
Constante	*	*	*	<u>0.0000</u>

BI= blastocito inicial alrededor de 5 días de desarrollo; BL= blastocito con 6 días de desarrollo; BX= blastocito expandido con 7 días de desarrollo; BN= blastocito en eclosión.

Los valores subrayados presentan diferencias significativas ($P<0.05$).

Efecto del ITH sobre la tasa de preñez

Respecto a la asociación del ITH con tasas de preñez no se encontraron diferencias significativa en el porcentaje de preñez con respecto a los diferentes valores de ITH en el momento de la transferencia ($P>0.05$) (Cuadro 3), aunque se determinó que en la zona donde se realizó el estudio los animales se encontraban en un rango de 78 a 83 según el índice enmarcado en zona de peligro según la clasificación de Armstrong, dado a la influencia de un ambiente altamente estresante donde condiciones genéticas y de adaptación pueden tener influencia en la respuesta obtenida.

Cuadro 3: Asociación de tasa de preñez con el Índice Temperatura Humedad (ITH)

Variable	Razón de probabilidades	Intervalo de confianza 95 %		P-valor
ITH 78 día transferencia	1.0818	0.000	>1.0E12	1.0000
ITH 79 día transferencia	0.7575	0.000	>1.0E12	1.0000
ITH 80 día transferencia	1.0840	0.000	>1.0E12	1.0000
ITH 81 día transferencia	0.9087	0.000	>1.0E12	1.0000
ITH 82 día transferencia	0.9567	0.000	>1.0E12	1.0000
ITH 83 día transferencia	0.5751	0.000	>1.0E12	1.0000
Constante	*	*	*	1.0000

Efecto de la precipitación sobre la tasa de preñez

Según el régimen de lluvias presentado en la época de estudio y reflejados en los datos de la estación meteorológica, se cataloga como una época de transición del tiempo seco con la primera temporada de lluvias del año el mes de marzo, obteniendo un valor de 184 mm al mes; también se puede inferir que los meses de mayor precipitación fueron abril y septiembre con valores de 380 y 578 mm respectivamente. Así mismo los meses con época seca fueron octubre, noviembre y diciembre con valores de 1, 71 y 0 mm respectivamente, del año 2020. El Cuadro 4 muestra los análisis de asociación de la tasa de preñez con la precipitación optando por generar 4 categorías que enmarca los meses según el régimen de lluvias 1: lluvias 0 a 100 mm, 2: 101 a 200 mm, 3: 201 a 300 mm, y 4: > 301 mm. Teniendo en cuenta los análisis realizados no se encontraron diferencias significativas ($P>0.05$) entre la variable precipitación con la variable respuesta, pero dada las razones de probabilidad OR al ser el valor >1 los meses categorizados con mayor precipitación 3 y 4 tienen mayores probabilidades de mejorar las tasas de preñez comparado con la categoría 1 y 2 siendo los meses menos lluviosos.

Cuadro 4: Asociación de tasa de preñez con la precipitación

Variable	Razón de probabilidades	Intervalo de confianza 95 %		P-valor
Precipitación 1	0.8368	0.0000	>1.0E12	1.0000
Precipitación 2	0.9175	0.0000	>1.0E12	1.0000
Precipitación 3	1.1640	0.0000	>1.0E12	1.0000
Precipitación 4	1.0937	0.0000	>1.0E12	1.0000
Constante	*	*	*	1.0000

Efecto del peso de la hembra receptora sobre la tasa de preñez

El peso promedio de las hembras receptoras al momento de la transferencia presentó una media de 344 ± 107 kg para los animales que no presentaron preñez y 337 ± 42 kg para los animales que obtuvieron una preñez; el análisis de varianza no evidenció diferencias estadísticas ($P>0.05$) que asocien el peso con la preñez obtenida (Cuadro 5).

Cuadro 5: Análisis de varianza del peso asociado a la tasa de preñez

Variación	Suma de cuadrados	df	Media cuadrática	F estadístico
Entre	14888.97033	1	14888.97033	1.79175
Dentro	12215293.50793	1470	8309.72347	
Total	12230182.47826	1471		

P-valor = 0.18071.

Discusión

Los resultados del presente estudio determinaron que el tamaño del CL tiene un efecto en las tasas de gestación después de la transferencia de embriones, se observó que la tasa de preñez era mayor a medida que el tamaño de CL era mayor. Las tasas de gestaciones fueron mayores en las receptoras con CL2 y 3 (31 y 32 % respectivamente) en comparación con las receptoras con CL1 (25 %). Resultados similares presentaron Alkan *et al*⁽¹⁰⁾ al evidenciar en su estudio que el diámetro de CL tuvo efectos significativos en la tasa de preñez durante la transferencia de embriones en vaquillas de carne. Del mismo modo, Baruselli *et al*⁽⁷⁾ determinaron que el efecto del tamaño de CL sobre la concentración de progesterona y la tasa de concepción en receptores de embriones está establecido, dado que los CL más grandes secretan más P4 y esto puede tener un efecto positivo en el reconocimiento de la preñez y, en consecuencia, en las tasas de efectividad en los programas de TE. En contraste, otros investigadores⁽¹²⁾ no encontraron ningún efecto significativo para los rasgos físicos de tamaño y calidad del CL de las receptoras sobre la tasa de concepción, volumen de CL ($P= 0.20$), lado de CL ($P= 0.14$). Del mismo modo, Vieira *et al*⁽¹³⁾ observaron en su trabajo que no había diferencias significativas en el efecto que producía el tamaño del CL sobre el porcentaje de preñez obtenido.

En este estudio se encontraron diferencias significativas para la variable de estadio de desarrollo embrionario obteniendo mejores resultados al transferir embriones en blastocisto y blastocisto expandido. Esto puede ser explicado, ya que al transferir un embrión cuyo desarrollo ha sido más rápido, podría expresar más rápidamente los factores de reconocimiento de preñez, comparado con uno del mismo tiempo y de menor tamaño. Esto puede estar soportado por un trabajo⁽¹³⁾, en el cual observaron que el grado de desarrollo del embrión tuvieron un impacto importante en los resultados de preñez en las receptoras. En contrastes varios autores⁽¹⁴⁾ no identificaron diferencias significativas en las tasas de preñez según el estado de desarrollo embrionario BI, BL y BX. Bényei *et al*⁽¹⁵⁾ reportaron que el análisis estadístico no reveló diferencias significativas en la preñez obtenidas teniendo en cuenta la etapa en el desarrollo embrionario.

El análisis estadístico del presente estudio no encontró diferencias significativas en el efecto del ITH sobre la tasa de preñez. En contraste Silva *et al*⁽¹⁶⁾ observaron que a partir de un ITH de mayor a 72 las vacas Holstein comienzan a disminuir la producción de leche influenciadas por las variables climáticas. Otros estudios⁽¹⁷⁾ concluyen que los efectos de la baja tasa de preñez están influenciados por las prolongadas cargas de calor a la que se encuentra expuestos los animales en su medio productivo que al ITH el día del servicio; en su estudio realizado en Queensland, Australia con animales Holstein lactantes se estableció ITH 72 como el umbral para desencadenar efectos reproductivos negativos, obteniendo tasas de concepción reducidas por la prolongada exposición a estrés calórico 5 y 1 semana antes y después del servicio. Así mismo Schüller *et al*⁽¹⁸⁾ en su estudio con vacas lactantes encontraron que la tasa de concepción se reduce a medida que los animales se encuentren en un estrés calórico al momento del servicio como su prolongada exposición a esta condiciones. También determinaron que 1 hora de exposición con un ITH de 73 fue suficiente para que la tasa de concepción bajara un 5 %.

En este experimento concluyó que la constante exposición a estrés calórico con ITH 73 actúa con efectos negativos en la reproducción 42 y 31 días antes y después respectivamente del día del servicio disminuyendo las tasas de preñez ocasionado por el estrés calórico. Cordeiro *et al*⁽¹⁹⁾ en su estudio demostraron que el estrés por calor afecta negativamente las tasas de concepción de vacas cruzadas (*Bos taurus* × *Bos indicus*) transferidas al norte de Brasil, donde tuvieron una disminución en las tasas de concepción cuando ITH alcanzó 75.7; en contraste, el mes que obtuvo la tasa de concepción más alta presentó el clima más favorable durante el experimento (ITH 73.1). Se ha mencionado⁽²⁰⁾ que los niveles altos de THI tienen un efecto negativo sobre la reanudación de la actividad ovárica y el comportamiento reproductivo en vacas *Bos indicus* mantenidas en pastoreo, especialmente si se produce un THI alto durante el último trimestre de gestación.

La variabilidad de la precipitación en los sistemas de producción animal en zonas tropicales puede tener efectos negativos sobre el crecimiento y la calidad del forraje; representando una condición económica importante al alterar el rendimiento productivo y reproductivo del animal debido a la baja disponibilidad de nutrientes⁽²¹⁾. En este estudio no se encontró un efecto significativo en la tasa de preñez por transferencia de embriones asociado al régimen de lluvias presentado en el tiempo del experimento. En este sentido, Mulliniks *et al*⁽²²⁾ obtuvo resultados similares al concluir que el régimen de precipitación de la época seca y época lluviosa no influyó significativamente ($P>0.46$) en la actividad y desempeño reproductivo de los animales en estudio; indicando también que dada la variabilidad en la precipitación anual los animales que poseen una calificación de la condición corporal de 4 a 4.5 (calificando de 1 al 9), pueden tener un desempeño reproductivo similar a hembras con mejor puntuación en condición corporal. Anudado a esto, en el estudio realizado por Fernandes *et al*⁽²³⁾ no encontró diferencias significativas ($P>0.05$) obteniendo tasa de gestación similar entre las épocas de lluvias y secas con valores de 42.3 vs 45.8 %, respectivamente ($P>0.05$). En

contraste, Scasta *et al*⁽²⁴⁾ determinaron un impacto positivo que tiene la precipitación en el rendimiento forrajero, lo cual, indicaría que las condiciones frías y húmedas ofrecen un mayor plano de nutrición para el pastoreo; así los diversos niveles de precipitación experimentados pueden ser determinantes durante los momentos clave de la gestación.

El análisis estadístico del estudio mostró que no hubo diferencia significativa ($P>0.05$) en la variable del peso de la hembra receptora con respecto a la tasa de preñez. Datos similares se obtuvieron⁽²³⁾ al determinar que no hubo diferencia ($P>0.05$) en el peso corporal (346.5 ± 33.4 kg) de las receptoras con respecto a la tasa de gestación. También determinaron que la variación individual en el potencial para alcanzar ganancia de peso diaria (GDP) por encima de 250 g/día, fue el principal factor que afectó la tasa de preñez a medida en que aumenta la GDP hasta 350 g/día, por lo cual, obtuvo este rango en su experimento como un umbral óptimo para mejorar resultados en los promedios de las gestaciones logradas. Además, concluyeron que las tasas de preñez en receptoras de embriones criadas en pastoreo en climas tropicales podrían mejorarse mediante la selección de hembras de acuerdo con su potencial de ganancia de peso corporal. Contrario a esto, Shorten *et al*⁽²⁵⁾ encontraron en su estudio diferencia significativa ($P<0.01$) al observar mejores tasas de preñez con mayor peso corporal antes del apareamiento (364 ± 77 kg) en hembras de la raza Angus.

Conclusiones e implicaciones

El estudio realizado evidencia un efecto significativo del tamaño del CL sobre la tasa de preñez, observando mayores probabilidades de una gestación cuando se transfiere el embrión en el cuerno ipsilateral a un CL3 y 2, presentando mayor probabilidad de no quedar gestante al transferirse el embrión en una receptora que presente un CL1 < 15 mm de diámetro. Anudado a esto, se presenta una mayor probabilidad de obtener una preñez transfiriendo embriones en un estado de desarrollo de blastocisto expandido BX y blastocisto BL comparado con desarrollos de blastocisto inicial BI y en eclosión BN. Las variables como el ITH, peso del animal y precipitación no presentaron diferencias estadísticas que demuestren la influencia marcada de la asociación de estas variables con la tasa de preñez obtenida. Se recomienda seguir realizando más investigación que permita obtener más información sobre los efectos de los factores como el componente racial de las receptoras y los embriones que influyen en la efectividad de la técnica de transferencia de embriones.

Agradecimientos

Al equipo técnico y científico del proyecto Identificación y análisis de los factores genéticos, nutricionales y sanitarios que afectan los índices de gestación a partir de embriones *in vitro* en bovinos en el departamento de Norte de Santander con número de Convenio 00120, Gobernación Norte de Santander y a la Universidad Francisco de Paula Santander Ocaña.

Del mismo modo, a todos los productores que abrieron las puertas a la investigación en sus sistemas productivos y permitieron la toma de oportuna de muestras e información para el desarrollo de la investigación.

Literatura citada:

1. Ferraz PA, Burnley C, Karanja J, Viera-Neto A, Santos JEP, Chebel RC, *et al.* 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.
2. Oyuela L, Jiménez C. Factores que afectan la tasa de preñez en programas de transferencia de embriones. *Rev Fac Med Vet Zootec* 2010;57:191–200.
3. Molina-Coto R. El estrés calórico afecta el comportamiento reproductivo y el desarrollo embrionario temprano en bovinos. *Nutr Anim Trop* 2017;11(1):1.
4. Ruiz-Jaramillo JI, Vargas-Leitón B, Abarca-Monge S, Hidalgo HG. Heat stress effect on dairy cattle production in Costa Rica. *Agron Mesoam* 2019;30(3):733–750.
5. Habeeb AA. Impact of climate change in relation to temperature-humidity index on productive and reproductive efficiency of dairy cattle. *Int J Vet Anim Med* 2020;3(1):124-134.
6. Hasler JF. 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* 2014;81(1):152–169.
7. Baruselli PS, Ferreira RM, Filho MFS, Nasser LFT, Rodrigues CA, Bó GA. Bovine embryo transfer recipient synchronisation and management in tropical environments. *Reprod Fertil Dev* 2010;22(1):67–74.
8. Pontes JHF, Melo-Sterza FA, Basso AC, Ferreira CR, Sanches BV, Rubin KCP, *et al.* Ovum pick up, *in vitro* embryo production, and pregnancy rates from a large-scale commercial program using Nelore cattle (*Bos indicus*) donors. *Theriogenology* 2011;75(9):1640–1646.
9. Celis AJ. *Epi-Info para Windows*. Ediciones 2008.
10. Alkan H, Karaşahin T, Dursun Ş, Satılmış F, Erdem H, Güler M. Evaluation of the factors that affect the pregnancy rates during embryo transfer in beef heifers. *Reprod Domest Anim* 2020;55(4):421–428.
11. Bó GA, Mapletoft RJ. Evaluation and classification of bovine embryos. *Anim Reprod* 2013;10(3):344–348.

12. Thomson SP, Holmes RJ, Landes PT, Allworth MB. Assessment and selection of the recipient cows' corpus luteum at the time of embryo transfer, and its influence on conception rate. *Aust Vet J* 2021;99(7):288–292.
13. Vieira LM, Rodrigues CA, Mendanha MF, Sá-Filho MF, Sales JNS, Souza AH, *et al.* Donor category and seasonal climate associated with embryo production and survival in multiple ovulation and embryo transfer programs in Holstein cattle. *Theriogenology* 2014;82(2):204–212.
14. Do VH, Catt S, Amaya G, Batsiokis M, Walton S, Taylor-Robinson AW. Comparison of pregnancy in cattle when non-vitrified and vitrified *in vitro* derived embryos are transferred into recipients. *Theriogenology* 2018;120:105-110.
15. Bényei B, Komlósi I, Pécsi A, Pollott G, Herald-Marcos C, De-Oliveira A, *et al.* The effect of internal and external factors on bovine embryo transfer results in a tropical environment. *Anim Reprod Sci* 2006;93:268–279.
16. Da-Silva RG, Morais D, Guilhermino MM. Evaluation of thermal stress indexes for dairy cows in tropical regions. *Rev Bras Zootec* 2007;36(suppl 4):1192–1198.
17. Morton JM, Tranter WP, Mayer DG, Jonsson NN. Effects of environmental heat on conception rates in lactating dairy cows: Critical periods of exposure. *J Dairy Sci* 2007;90(5):2271–2278.
18. Schüller LK, Burfeind O, Heuwieser W. Impact of heat stress on conception rate of dairy cows in the moderate climate considering different temperature-humidity index thresholds, periods relative to breeding, and heat load indices. *Theriogenology* 2014;81(8):1050–1057.
19. Cordeiro ALL, Satrapa RA, Gregianini HAG, Gregianini JTF, Maia GFN, Landim-Alvarenga FC. Influence of temperature-humidity index on conception rate of Nelore embryos produced *in vitro* in northern Brazil. *Trop Anim Health Prod* 2019;52(3):1527–1532.
20. Díaz RF, Galina CS, Aranda EM, Aceves LA, Sánchez JG, Pablos JL. Effect of temperature humidity index on the onset of post-partum ovarian activity and reproductive behavior in *Bos indicus* cows. *Anim Reprod* 2020;17(1):1–11.
21. Beard JK, Silver GA, Scholljegerdes EJ, Summers AF. The effect of precipitation received during gestation on progeny performance in *Bos indicus* influenced beef cattle. *Transl Anim Sci* 2019;3:256–262.

22. Mulliniks JT, Cox SH, Kemp ME, Endecott RL, Waterman RC, Van-Leeuwen DM, *et al.* Relationship between body condition score at calving and reproductive performance in young postpartum cows grazing native range. *J Anim Sci* 2012; 90:2811-2817.
23. Fernandes CA, Pereira-Palhao M, Silva-Figueiredo AC, Ribeiro JR, Fonseca F, Moreira-Viana JH. Weight gain potential affects pregnancy rates in bovine embryo recipients raised under pasture conditions. *Trop Anim Health Prod* 2015;48:103–107.
24. Scasta J, Henderson L, Smith T. Drought effect on weaning weight and efficiency relative to cow size in semiarid rangeland. *J Anim Sci* 2015;93:5829–5839.
25. Shorten PR, Morris CA, Cullen NG. The effects of age, weight, and sire on pregnancy rate in cattle. *J Anim Sci* 2015;93:1535–1545.