

**FR 29. RESPUESTA REPRODUCTIVA DE NOVILLAS MESTIZAS (*Bos indicus* x *Bos taurus*)
USADAS COMO RECEPTORAS DE EMBRIONES BOVINOS EN EL TRÓPICO
VENEZOLANO. I. TIPO RACIAL**

Noris Roa¹, Tiburcio Linares¹, Diego Barrios¹, Rita Tamasaukas² y Morella R. de Rolo³

¹Instituto de Investigaciones Zootécnicas, CENIAP FONAIAP. Apartado. Postal 4653. Maracay 2101, Venezuela. Telefax: 58-43-831655. e-mail: njroa@reacciun.ve. ²Universidad Nacional Experimental Rómulo Gallegos. Telefax 58-43-320729. San Juan de Los Morros. Venezuela. ³Instituto de Investigaciones Veterinarias, FONAIAP. Maracay. Venezuela.

Abstract

Reproductive response of crossbred heifers (*Bos indicus* x *Bos taurus*) used as bovine embryo recipient in Venezuelan tropic. I. Racial type

To evaluate reproductive response and early diagnosis of pregnancy in venezuelan tropic, plasma Progesterone (P_4) concentrations were determined by Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) in 47 crossbred (*Bos indicus* x *Bos taurus*) recipient heifers in a commercial embryo transfer (ET) program in savanna area of Monagas state, Venezuela. Pregnancy status was confirmed by rectal palpation 60 days after oestrus. Pregnancy rates were 38.3% (18/47) while a 61.7 % stayed open. Simple linear regression and one way analysis of variance indicated that there were not significant differences ($P > .05$) between plasma P_4 concentrations of females which remained pregnant and those which did not on either days 0 (estrus) or 7 (ET). On day 21, the mean \pm SD concentrations of P_4 in pregnant females was 12.2 ± 2.2 ng/mL being significantly higher ($P < .05$) compared to non-pregnant females (0.82 ± 0.42 ng/mL). Recipients having plasma P_4 concentrations of 2 ng/mL or more on day 21 were considered as pregnant. The test accuracy for diagnosing pregnancy was 75 % and 100 % for open cows. These heifers have good reproductive response as recipient of embryos in the Venezuelan tropic. Evaluating the concentrations of P_4 the day 21 after estrus gives a high percentage of safety in the early diagnosis of pregnancy and the open recipient to recycle for ET before 60 days post estrus, reducing their maintenance cost.

Palabras claves: Progesterona, trasplante de embriones, novillas receptoras, ELISA.

Key words: Progesterone, embryo transfer, recipient heifers, ELISA.

Introducción

La ganadería en Venezuela es predominantemente mestiza producto de un cruzamiento no dirigido entre las razas criollas cebuinas y lecheras especializadas por parte de los ganaderos, evaluar este tipo racial usado como receptoras de embriones bovinos para incrementar en forma acelerada la descendencia de animales de alto valor genético, fomentaría el crecimiento de grupos bovinos élitos los cuales servirían de base para el desarrollo de un modelo de ganadería tropical (Roa, 1996). En el trópico, la regulación endocrina de la función reproductiva no ha sido suficientemente documentada. Sin embargo es importante estudiar los perfiles hormonales de tipos raciales autóctonos en el ambiente tropical para determinar si estos perfiles son similares a los reportados en ganaderías bajo condiciones templadas (Roa, 1996; Chagas *et al.*, 1993). Con el propósito de evaluar la respuesta reproductiva de novillas mestizas (*Bos indicus* x *Bos taurus*) usadas como receptoras de embriones bovinos en el trópico Venezolano, se diseñó un ensayo donde se determinarían las concentraciones de Progesterona (P_4) plasmática, utilizando la técnica de Enzimoimmunoanálisis (ELISA).

Materiales y métodos

La presente investigación se realizó en el estado Monagas, en zona de Sabanas bien drenadas estacionales e hipértérmicas, con precipitación y temperatura promedio de 1350 mm y 26.4 °C. respectivamente. Se utilizaron 47 novillas mestizas *Bos indicus* x *Bos taurus*, de 2 a 2.5 años de edad, receptoras de embriones bovinos, con predominio *Bos indicus* poseían > 62.5 % de componente *Bos indicus* y con predominio *Bos taurus* poseían > 62.5% de componente *Bos taurus*. Condición corporal óptima de 5 y 6 (Nicholson y Butterworth, 1986) y con ciclos estrales regulares. Se colectaron 8 mL de sangre de los vasos coccígeos el día del celo (día 0), día de la transferencia de embriones (día 7) y los días 21, 28, 35, 42 y 49 post celo en tubos con EDTA, centrifugándose para obtener el plasma (Pulido *et al.*, 1991) para procesarlo por ELISA. Se utilizó el trasplante de embriones no quirúrgico (Roa, 1996), registrándose el celo y confirmación de preñez por palpación transrectal, 60 días

post-transplante. La cuantificación hormonal se realizó con kits de ELISA (Kubiak, 1986), usando un lector de placas de ELISA ajustado el espectrofotómetro para leer absorbancia a 405 nm. Se realizaron las pruebas de validación, para especificidad la prueba de paralelismo y para precisión, el cálculo del coeficiente de variación (CV) intra e interensayo (Silvan *et al.*, 1992), como control de calidad de los kits, señalando existencia de paralelismo. El CV intraensayo calculado fue de 5.77 % y interensayo fue de 6.50 % valores que están dentro de los rangos óptimos de CV para ambas pruebas. Los datos fueron analizados por Correlación, análisis de regresión lineal, análisis de varianza y la prueba de comparación de medias por Tukey (Steel y Torrie, 1988).

Resultados y discusión

De 47 receptoras de embriones 18 (38.3 %) resultaron preñadas y 29 (61.7 %) resultaron vacías. Las concentraciones de P_4 plasmática promedio se muestran en el cuadro 1, las mismas mostraron una variación cuantitativa en función de la etapa del ciclo estral y del estado fisiológico (vacía o preñada), cuyo el patrón cíclico encontrado concuerda con los cambios que ocurren durante el ciclo estral (CE) debido a la funcionalidad del cuerpo lúteo (CL), tanto para preñadas como vacías. Asimismo, los resultados de este trabajo, explicar la función luteal por medio de la cuantificación de P_4 plasmática sanguínea a nivel periférico (Roa, 1996; Chagas *et al.*, 1993). Otras variaciones observadas individualmente en las concentraciones de P_4 con respecto a la longitud del CE en receptoras que quedaron vacías post-T.E, pueden ser debidas a la condición metabólica y nutricional presentada por cada animal al momento del muestreo sanguíneo, lo cual se podría demostrar, tomando muestras sanguíneas a intervalos más cortos. También los CE largos pueden ser atribuidos a mortalidad embrionaria que pudieron haber ocurrido post-TE y alargar la aparición del próximo celo post-TE. Otros factores que pueden afectar el patrón cíclico de la P_4 son la asincronía por errores de detección del celo, celos sin ovulación y regresión prematura del CL el día del transplante embrionario (Roa, 1996; Chagas *et al.*, 1993).

La ecuación de regresión lineal para hembras preñadas fue $y = 4.1522 + 0.1840 x$, y para hembras vacías fue $y = 3.5657 + 0.0417 x$, y el análisis de varianza (ANAVAR) realizado para comparar diferencias entre concentraciones de P_4 los diferentes días del muestreo y entre los diferentes grupos de receptoras (preñadas, vacías con TE), no demostró diferencias significativas ($P > .05$) entre los dos grupos para los días 0 (celo) y el día 7 (TE) del CE (cuadro 1), por lo que las concentraciones de P_4 los días 0 (celo) y 7 (TE) del CE, no constituyó, por sí solo, un indicio seguro para la selección de receptoras durante estos días, pero si ayudó a no descartar potenciales receptoras de embriones que tenían concentraciones adecuadas de P_4 y que a la palpación transrectal poseían cuerpos luteos pequeños y fueron descartadas a recibir transplante de embrión. El diagnóstico de Preñez Precoz se observó a partir del día 21 post celo, donde hubo diferencias significativas ($P < .05$) entre las concentraciones de P_4 de los dos grupos de receptoras. En las preñadas, la media ($X \pm DE$) de P_4 se mantuvo en niveles altos, en comparación con las receptoras vacías con TE cuyos valores bajaron significativamente dando inicio a un nuevo CE. Esta diferencia significativa se mantuvo durante el resto de los días del muestreo (cuadro 1). Este diagnóstico de laboratorio (P_4) tuvo una efectividad de 75 % en detectar receptoras preñadas y de 100% en detectar las vacías correctamente, para el día 21 post celo, tomando como criterio de discriminación 2 ng/ml de P_4 en plasma (Roa, 1996), donde los valores mayores a 2 ng/mL en plasma se consideraron preñadas el día 21 y valores menores o igual a 2 ng/ml se consideraron vacías. De las 24 receptoras diagnosticadas preñadas por tener valores $>$ de 2 ng/mL el día 21 post celo, el 20 % (seis) de ellas fueron diagnosticadas vacías a la palpación transrectal a los 45-60 días post celo. Esto se debió a que estas receptoras presentaron ciclos estrales anormales, debido a preñeces que no llegaron a los 60 días y/o a la presencia de alguna disfunción uterina resultante de contaminación con organismos patógenos al momento del transplante. Las diagnosticadas vacías el día 21 post celo, pudieron utilizarse de nuevo (reciclaje rápido) como receptoras, sin tener que esperar la confirmación del diagnóstico transrectal 60 días post celo, lo que pudo representar un ahorro en los costos de mantenimiento equivalente a 30 días.

Conclusiones

Este tipo de novillas presentaron buena respuesta reproductiva como receptoras de embriones en el trópico Venezolano. La determinación de las concentraciones de P_4 a partir del día 21 post celo resultó con un alto porcentaje de seguridad en el diagnóstico precoz de hembras vacías, logrando reciclarlas antes de los 60 días post celo disminuyendo así los costos de mantenimiento de las mismas.

Cuadro 1. Concentraciones de progesterona plasmática en receptoras mestizas de embriones bovinos (ng/mL, Media \pm DE).

Día del Muestreo	0 (celo)	7 (TE)	21	28	35	42	49
Preñadas	0.85 \pm 0.52 ^{ns}	5.75 \pm 1.82 ^{ns}	12.16 \pm 2.18 ^a	11.08 \pm 3.27	11.48 \pm 3.40	9.47 \pm 4.84	11.7 \pm 3.54
Vacías con TE	1.4 \pm 1.93 ^{ns}	6.2 \pm 3.26 ^{ns}	0.82 \pm 0.42 ^b	6.7 \pm 4.0	27.89 \pm 4.5	12.96 \pm 4.2	85.0 \pm 3.37

TE: Transplante de embriones.

a, b: diferentes letras hay significancia (P < .05).

Literatura citada

- Chagas e Silva, J. N., M. R. Cidado y J. A. Costa. 1993. Selecao de vacas frías para receptoras de embriones frescos e congelados com base na progesterona plasmatica. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinarias*. Vol. LXXXVIII. N° 508: 156-163.
- Kubiak, J. 1986. Application of enzyme immunoassay (EIA) to the study of hormones, with particular reference to the determination of progesterone. Research Technique Report In partial fulfillment of the requirements for: ANSC 631. *Physiology of Reproduction*. 1-6.
- Nicholson, M. J. y M. H. Butterworth. 1986. A guide to condition scoring of Zebu cattle. International Livestock Center for Africa. P.O. Box 5689, ADDIS ABABA, Ethiopia.
- Pulido, A., L. Zarco, C. S. Galina, C. Murcia, G. Flores y E. Posadas. 1991. Progesterone metabolism during storage of blood samples from Gyr cattle: Effects of anticoagulant, time and temperature of incubation. *Theriogenology* 35:965-975.
- Roa, N. 1996. Relación entre Concentraciones de Progesterona y la Tasa de Preñez en Receptoras de Embriones Bovinos. Tesis de Postgrado Magister Scientiarum. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Central de Venezuela. Maracay, Venezuela.
- Silvan, G., J. C. Illera, M. J. Illera and M. Illera. 1992. Development and validation of competitive ELISA to measure steroid follicular fluid levels in heifers. *Theriogenology*. 37 (1): 298.
- Steel, R. G. D. y J. H. Torrie. 1988. *Bioestadística: Principios y procedimientos*. 2ª Edición. McGraw Hill. México.