

Capítulo LXXXV

¿Puede la transferencia de embriones ser utilizada para mejorar la producción de leche y carne en pequeños productores?

Carlos S. Galina
Norma Moreno

Distintos investigadores han probado que la mejor alternativa para producir leche en el trópico es utilizar hembras cruzadas de *Bos taurus* con *Bos indicus* (F1) (Cunningham, 1989; Madalena 1993). La cruce resultante ha probado ser resistente al medio ambiente y para soportar las difíciles condiciones prevalentes en esas zonas. El problema para los productores es como realizar la reposición de esas hembras en la finca. Si toma la decisión de cruzar con *Bos taurus* el producto resultante es bastante vulnerable al medio ambiente lo que ocasiona una drástica reducción en la producción láctea. Si la medida es cruzar a la hembra F1 con *Bos indicus* el producto es resistente al medio ambiente pero muy deficiente en la producción de leche (Madalena, 1993).

Una alternativa propuesta por Cunningham en 1989 es la de implantar embriones F1 en vacas F1 y por ende reducir los riesgos del cruzamiento alterno. Aunque la técnica de la transferencia de embriones ha sido explotada bajo condiciones comerciales por muchos años, al menos bajo condiciones tropicales hay obstáculos que no han sido superados. Entre ellos, se encuentra la inadecuada selección de receptoras para los embriones, la impredecible respuesta a los mecanismos superovulatorios y la pobre capacidad de los embriones para resistir la congelación. Asimismo, nuestro grupo ha demostrado que los embriones *Bos indicus* tienen particularidades en cuanto a su evaluación (Aguilar *et al.*, 2002), congelación y éxito en su producción a través del año (Márquez *et al.*, 2005). Finalmente, varios estudios han demostrado las bondades pero también las dificultades económicas para implementar la técnica (Bolívar & Maldonado, 2009; Alarcón *et al.*, 2010). El presente Capítulo pretende condensar estos conceptos con el fin de presentar un análisis de la situación actual de esta importante técnica para ser usada por los pequeños productores.

SELECCIÓN DE RECEPTORAS

Las hembras receptoras pueden ser seleccionadas básicamente por medio de dos procedimientos; el primero, es elegir a las hembras que presentan estro de manera espontánea con el inconveniente de la necesidad de ser eficientes en la detección de celos y de mantener los animales bajo condiciones semi-intensivas; esta eficiencia puede ser muy limitada (para revisión, ver Galina & Orihuela, 2007). Debido a la dificultad en detectar hembras en celo de manera casual, los técnicos han optado por el control farmacológico del celo aplicando diversos productos; sin embargo, en ganado tropical puede haber hasta un 30% de vacas que muestran celo pero que no ovulan sobre todo si su condición corporal es regular (Díaz *et al.*, 2002). La presentación de celos sin ovulación se ve notablemente incrementada cuando se utilizan protocolos basados en la inyección de estrógenos (Solano *et al.*, 2000; Velásquez, 2004). Montiel *et al.* (2006) en un estudio para seleccionar hembras receptoras señalaron la necesidad de palpar cerca de 400 hembras para poder obtener 96 receptoras.

Debido a lo expuesto, la adopción de los programas de transferencia de embriones en pequeños productores puede ser problemática debido a la escala población animal que cada productor tiene para que sean utilizadas como receptoras. La escogencia de las novillas de reemplazo de estos pequeños productores es también insegura debido a que la respuesta a cualquier manipulación es poco predecible (para revisión, ver Maquívar & Galina, 2010). Aunado a esto, la distancia entre las fincas productoras hace difícil la implementación de un programa. Simplemente la falta de un transporte adecuado ha hecho que programas gubernamentales se vuelvan obsoletos debido a las distancias que impiden brindar un servicio eficiente a los productores.

EVALUACIÓN EMBRIONARIA

La respuesta superovulatoria o sea la cantidad de folículos que tienen capacidad de ovular, la habilidad del técnico en obtener la mayor cantidad de embriones vía lavado uterino y la destreza del personal encargado de juzgar la viabilidad de un embrión, pero sobre todo su capacidad de producir una gestación, son posiblemente los tres puntos claves para el éxito de un programa de producción de embriones. En relación a la primera, existe muy buena evidencia que al menos en el ganado de tipo cebuino, la respuesta superovulatoria (evaluada por el número de folículos que ovulan) es generalmente mayor de diez unidades, siendo muy limitado el número de óvulos fertilizados capaces de ser transferibles o congelables. Sin embargo, existe discrepancia sobre el tema; mientras algunos grupos consideran que la producción de embriones transferibles no debe ser menor de ocho (Baruselli *et al.*, 2006), otros no encuentran los mismos resultados (Barros & Nogueira, 2001; Chebel *et al.*, 2008).

En general, la respuesta superovulatoria debe de relacionarse con la dinámica folicular al momento del tratamiento (Bo *et al.*, 2003). Pocos estudios se han enfocado en resolver esta pregunta, aunque hay evidencia de que animales pobremente nutridos producen folículos de menor tamaño que pueden comprometer la fertilidad cuando se les compara con un grupo de animales bien alimentados (Oliveira *et al.*, 2002). Cuando la dinámica folicular fue estudiada en vacas postparto y en vacas sin cría fue evidente que el diámetro del folículo más grande se vio afectado por el tiempo que te-

nía la hembra de parida así como por la época del año en que se había hecho la intervención (Molina, 2000). En varios experimentos (Molina, 2000; Montiel *et al.*, 2006; Alarcón, 2008), en los cuales se evaluó la respuesta superovulatoria por medio de la palpación de cuerpos lúteos, se encontró que casi siempre fue mayor de nueve pero el número de embriones con capacidad de ser transferibles casi nunca fue mayor de cinco. Es necesaria mayor investigación sobre este importante tema debido a que los costos inherentes a los esquemas de superovulación son muy elevados.

La recuperación de los embriones puede ser bastante problemática pues en el ganado de tipo *Bos indicus* se ha publicado que puede haber hasta un 30% de vacas con cervix de tipo tortuoso, lo cual dificulta notablemente el paso del catéter para colocar el embrión en el útero (González *et al.*, 1983). Hernández (1988) mostró que aun en cervix disecadas post mortem, el grado de torsión era tan evidente que hacía virtualmente imposible pasar el catéter.

Una característica que debe demandar nuestra atención para futuras investigaciones es la habilidad que tiene el clínico para evaluar un embrión por medio de microscopía de luz; en estudios previos, se encontró que las imprecisiones en juzgar la calidad de un embrión puede ser tan alta como en 30 por ciento (Aguilar *et al.*, 2002). Estas imprecisiones han sido confirmadas utilizando otras técnicas (López-Damián *et al.*, 2008; Godínez, 2009; Gutiérrez, 2009). En un estudio comparativo, Márquez *et al.* (2005) mostraron que las mismas hembras *Bos indicus* superovuladas en dos épocas de año fueron diferentes en su capacidad de producir embriones evaluados por su capacidad para resistir la congelación. Es evidente que, mientras que para evaluar la capacidad del semen para fertilizar se estudia la movilidad de las células, en el caso de los embriones se tiene que discernir si un conglomerado de blastómeros son saludables.

MÉTODOS PARA EVALUAR LA POSIBLE VIABILIDAD DE LOS EMBRIONES

Marquez-Alvarado *et al.* (2004) estudiaron la viabilidad de embriones mantenidos en congelación por diversos períodos de tiempo; en ese ensayo se encontró que había una relación directa entre el tiempo que el embrión se había mantenido almacenado en tanques de nitrógeno líquido y la cantidad de células muertas evaluadas por una técnica de apoptosis. Una célula mantenida en nitrógeno líquido debería de mantenerse viable, mientras las condiciones de almacenaje no cambien; ¿es qué estas células se han visto afectadas por una mala política de almacenamiento, cambios de las células de un termo a otro, revisiones periódicas del termo y algunas prácticas más que merecen ser investigadas?

Hay un cierto consenso sobre el hecho de que las diferencias entre evaluadores son una causa muy importante de error (Lindner & Wright, 1983). Esta observación ha sido confirmada recientemente en un estudio donde se comparó la precisión de la evaluación independiente de embriones por microscopía estereoscópica (el método convencional) comparada con la microscopía de contraste de fases (una técnica más costosa); sin embargo, las escasas diferencias entre ambos métodos no justifica la inversión (Gutiérrez, 2009). Desafortunadamente, en el sistema de transferencia de em-

briones el único criterio de selección es la evaluación del embrión mismo. Una vez que pasa ese filtro, la célula es congelada y después transferida a una receptora; por ende, si la clasificación fue errónea no existe otro criterio en el proceso que rectifique el diagnóstico.

Esto es muy diferente a la producción de pajuelas con semen congelado. En ese caso las células del eyaculado son evaluadas basados en su motilidad, después confirmadas al agregar los diluyentes y vueltos a ser evaluadas, generalmente siete días después de haber sido congeladas. Debido a que el juzgamiento de la calidad de un embrión depende de una sola evaluación subjetiva, Contreras *et al.* (2008) propusieron el uso de un medio de cultivo por 6 horas para confirmar los hallazgos microscópicos. Esta recomendación se basó en el cultivo de células por diversos períodos de tiempo; los resultados mostraron que un embrión de pobre calidad no sobrevivía el medio de cultivo por más de dos horas, mientras que un embrión de regular calidad empezaba a presentar cambios en su viabilidad después de 6 horas. Estos resultados fueron confirmados recientemente por Gódinez (2009) en embriones frescos pero no en embriones congelados. Sus resultados sugieren que el medio de cultivo es tóxico para la célula que se está expandiendo, luego de ser descongelada. Es necesaria mayor investigación en métodos alternos que apoyen la evaluación microscópica.

FACTIBILIDAD ECONÓMICA DE UTILIZAR LA TRANSFERENCIA DE EMBRIONES EN PEQUEÑOS PRODUCTORES

Los gobiernos de países en desarrollo han promovido gran cantidad de programas nacionales para fomentar la aplicación de la transferencia de embriones, sobre todo entre pequeños productores para mejorar la producción animal en ese importante sector de la sociedad. Estos programas han experimentado diversos grados de aceptación dependiendo de la duración y del grado de subsidio que tenga el programa; infelizmente, una vez que el programa concluye éste deja de ser sostenible. Por ende, los productores tienden a frustrarse y ser poco receptivos a nuevas iniciativas de transferencia de tecnología (Molina, 2003; Chávez, 2008). En estos dos últimos estudios se realizaron una serie de encuestas para dar seguimiento al programa desde su inicio. La aceptación de la transferencia de embriones como un medio para mejorar su hato es innegable pero la sustentabilidad económica del sistema es muy debatible.

En efecto, en un estudio reciente (Alarcón *et al.*, 2010) calcularon los costos de preparación de una donadora de embriones y lo estimaron en US\$ 600, mientras que el número de embriones recuperados en varias pruebas de campo fue de 3,8. Si se toma en cuenta que el costo de un animal gestante (calculado en base de un 27% de fertilidad), el costo para preparar a la donadora, los costos de la técnica misma así como la producción del embrión sumarían un total de US\$1.320 por animal. En caso que consideremos una relación de 50:50 entre hembras y machos, el costo de una hembra de reemplazo sería de US\$ 2.640, lo cual rebasa por mucho el valor comercial de una hembra mestiza (aproximadamente 900 dólares).

La rentabilidad de la transferencia de embriones en pequeños productores va a depender de reducciones substanciales en el costo del tratamiento, en la mejora en la producción de embriones viables por intervención y en la mejora de la fertilidad en la

hembra receptora; mientras estos elementos no sean mejorados es poco probable que la técnica sea económicamente sustentable y por ello menos recomendable para su adopción, al menos bajo las condiciones de los pequeños productores, un importante sector de la economía de nuestros países.

RESUMEN

Se describen cuatro problemas que afectan el éxito de la transferencia de embriones en pequeños productores. El primero, son las causas que inciden en una pobre selección de receptoras para la transferencia de embriones; la segunda se centra en describir la dificultad en hacer una correcta evaluación de la morfología del embrión al menos bajo condiciones tropicales; la tercera propone otras alternativas para evaluar embriones y la cuarta, analiza la factibilidad económica de establecer esta técnica como un recurso biotecnológico para mejorar la producción pecuaria en pequeños productores.

AGRADECIMIENTOS

Parte de esta investigación fue apoyada por el proyecto PAPITT IN200810 de la Universidad Nacional Autónoma de México.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguilar MM, Galina CS, Merchant H, Montiel F, Canseco R, Márquez YC. 2002. Comparison of stereoscopy, light microscopy and ultrastructural methods for evaluation of bovine embryos. *Reprod Dom Anim* 37: 341-346.
- Alarcón M, Galina C.S, Corro MD, Asprón M. 2010. Embryo transfer, a useful technique to be applied in small community farms? *Trop Animal Health Prod* 42: 1135-1141.
- Barros CM, Nogueira MF. 2001 Embryo transfer in *Bos indicus* cattle. *Theriogenology*, 56: 1483-1496.
- Baruselli, P. S., M. F. de Sá Filho, C. M. Martins, L. F. Nasser, M. F. Nogueira, C. M. Barros, and G.A. Bó. 2006. Superovulation and embryo transfer in *Bos indicus* cattle. *Theriogenology* 65: 77-88.
- Bó GA, Baruselli PS, Martínez MF. 2003. Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. *Anim Reprod Sci* 78: 307-326.
- Bolivar PA, Maldonado JG. 2008. Análisis de costos de esquemas de la transferencia de embriones bovinos utilizados en Colombia. *Rev Colomb Ciencias Pecuarias* 21: 351-364.
- Chávez, A. 2008. Aceptación e implantación de biotecnologías reproductivas a ganaderos en el trópico con ganado de doble propósito. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F.
- Chebel RC, Demétrio DG, Metzger J. 2008. Factors affecting success of embryo collection and transfer in large dairy herds. *Theriogenology* 69: 98-106.
- Contreras DA, Galina CS, Ávila JG, Asprón MP, Moreno NM. 2008. A system to evaluate the quality of frozen embryos through short-term culture. *Anim Reprod Sci* 106: 369-379.

Cunningham EP. 1989. The genetic component of cattle in developing countries. *Theriogenology* 31: 17-24.

Díaz GS, Galina CS, Basurto CH, Ochoa GP. 2002. Efecto de la progesterona natural con o sin la adición de benzoato de estradiol sobre la presentación de celo, ovulación y gestación en animales tipo *Bos indicus* en el trópico mexicano. *Arch Med Vet* 34: 235-244.

Galina CS, Orihuela A. 2007. The detection of estrus in cattle raised under tropical conditions: What we know and what we need to know. *Hormones Behav* 52: 32-38.

Godínez B. 2009. Evaluación de la viabilidad de Embriones F1 frescos y congelados utilizando el cultivo embrionario. Tesis de Maestría, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F.

Gonzalez R, Soto Belloso E, Bohorquez R. 1983 Patency of the cervical canal in cross-bred female Zebu × Brown Swiss selected for non-surgical recovery or transfer of embryos. *Theriogenology* 19: 759-761.

Gutiérrez M. 2009. Estudio Comparativo sobre dos Sistemas de Evaluación (microscopio estereoscópico e invertido de contraste de fases) en Embriones de ganado *Bos indicus*. Tesis de Maestría Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F.

Hernández BC. 1988. Algunos factores que afectan la fertilidad en vacas Cebú con estros sincronizados con Prostaglandina F2 inseminadas artificialmente. Tesis de Maestría Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F.

Lindner GM, Wright RW. 1983. Bovine embryo morphology and evaluation. *Theriogenology* 29: 407-416.

López-Damián EP, Galina CS, Merchant H, Cedillo-Peláez C, Aspron M. 2008. Assessment of *Bos taurus* embryos comparing stereoscopic microscopy and transmission electron microscopy. *J Cell Anim Biol* 2: 72-78.

Madalena FE. 1993. A simple scheme to utilize heterosis in tropical dairy cattle. *Wld. Anim Review* 74/75: 17-25.

Márquez-Alvarado YC, Galina CS, Castilla B, León H, Moreno-Mendoza N. 2004. Evidence of damage in cryopreserved embryos stored under tropical conditions using the tunel technique. *Reprod Dom Anim* 39: 141-145.

Márquez YC, Galina CS, Moreno N, Ruiz H, Merchant H. 2005. Seasonal effect on Zebu embryo quality as determined by their degree of apoptosis and resistance to cryopreservation. *Reprod Dom Anim* 40: 553-558.

Maquívar M, Galina CS. 2010. Factors Affecting the Readiness and Preparation of Replacement Heifers in Tropical Breeding Environments. *Reprod Dom Anim* 45: 937-942.

Molina JJ. 2000. Efecto de la adición de Somatotropina Bovina al tratamiento de Folltropin-V sobre la respuesta superovulatoria y cantidad de embriones transferibles en vacas Cebuinas superovuladas en dos épocas del año en el trópico húmedo mexicano. Tesis de Maestría. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F.

Molina JI. 2003. Aceptación de la técnica de transferencia de embriones bovinos en productores adscritos al programa para el mejoramiento genético de la ganadería del estado de Chiapas. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F.

Montiel F, Galina CS, Rubio I, Corro M. 2006. Factors affecting pregnancy rate of embryo transfer in *Bos indicus* and *Bos taurus*/*Bos indicus* cows. *J Appl Anim Res* 29: 149-152.

Oliveira JFC, Neves JP, Moraes JCF, GoncalvesPBD, Bahr JM, Hernández AG, Costa LFS. 2002. Follicular development and steroid concentrations in cows with different levels of fertility raised under nutritional stress. *Anim Reprod Sci* 73: 1-10.

Solano J, Orihuela A, Galina CS, Montiel F. 2000. Sexual behaviour of Zebu cattle (*Bos indicus*) following oestrus induction by Synchro-Mate B, with or without oestrogen injection. *Phys Behav* 71: 503-508.

Velásquez PJH. 2004. Desarrollo de un Programa de Inducción de la Ovulación en vacas anéstricas doble propósito en fincas de pequeños productores del Trópico Veracruzano mediante Progestágenos y Estrógenos. Tesis de Maestría Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F.