

CAPÍTULO XIX

ESTUDIOS CITOGENÉTICOS EN GANADO DE DOBLE PROPÓSITO

- I. INTRODUCCIÓN
- II. ANOMALÍAS CROMOSÓMICAS
- III. TRANSLOCACIÓN 1/29
- IV. EVALUACIÓN CITOGENÉTICA EN GANADO DE DOBLE PROPÓSITO
- V. ESTUDIO CITOGENÉTICO DE HEMBRAS FREEMARTIN
- VI. CONCLUSIONES
- VII. LITERATURA CITADA

Oscar Vera y Gladys Muñoz

I. INTRODUCCIÓN

La **eficiencia reproductiva** es uno de los aspectos más importantes, que se debe tomar en cuenta al evaluar la producción de ganado de leche y carne, por lo tanto el mejoramiento de la eficiencia reproductiva tendrá un impacto económico considerable. Son numerosos los factores que la pueden afectar, tales como: selección de razas, nutrición, condiciones sanitarias de los reproductores, condiciones físico-ambientales en que viven los animales etc. Sin embargo, existen factores que inciden directamente en el éxito reproductivo del ganado, estos son los **factores genéticos**, determinantes de características tan importantes como: talla, resistencia a enfermedades, inicio de la madurez sexual, tasas de no retorno, fertilidad, habilidad materna, lactancia etc [10].

Estas características se van revelando a medida que el animal llega a la pubertad y luego a la edad adulta, etapa en la cual, mediante el manejo reproductivo, se ponen en evidencia estas cualidades. Por el contrario, las características cromosómicas, en particular la presencia de anomalías cromosómicas pueden evaluarse a edades muy tempranas, lo cual permitirá predecir si los factores genéticos son favorables o desfavorables para que el reproductor despliegue su potencial reproductivo, sin tener que esperar hasta la edad adulta, para establecer si existen anomalías cromosómicas o determinados síndromes que afecten la fertilidad del animal [10].

Algunos de los casos que mejor ilustran este tipo de problema es el de los reproductores **portadores de la translocación 1/29** y de las hembras reproductoras **afectadas por freemartinismo o cariología en mosaico**. En el primer caso se trata de la translocación Robertsoniana 1/29, una de las anomalías mejor estudiadas [5]. Si un ganadero por ejemplo adquiere un semental seleccionado por su excelente fenotipo, podría ocurrir que este fuera portador de esta translocación, anomalía que sería transmitida a sus descendientes con una probabilidad del 47%, otra probabilidad es que el 6% de los embriones tengan un desbalance cromosómico que determinaría la muerte del embrión en los primeros meses de preñez [6]. Si el ganadero hubiera solicitado una prueba de normalidad cromosómica no estaría expuesto a estos riesgos.

En cuanto al free-martinismo es sabido que hembras provenientes de nacimientos gemelares heterosexuales, podrían ser infértiles, lo que se revela sólo cuando al cabo de 2 años las hembras se cruzan sin éxito en repetidas ocasiones y sólo una vez sacrificadas, el examen de sus genitales internos revela que existía un hermafroditismo, por efecto de factores masculinizantes que alteran el normal desarrollo de los órganos sexuales internos [9].

Por todo lo expuesto, se hace indispensable incorporar el diagnóstico cromosómico precoz de los reproductores, como prueba de rutina para la detección de anomalías cromosómicas que incidan sobre la fertilidad del ganado [20].

Existen Centros de Recría y fincas en los cuales el manejo incluye un control riguroso de la eficiencia reproductiva, **pruebas de progenie y selección de los reproductores** basadas en las características ya mencionadas. Por el contrario existen fincas en las cuales estos controles rigurosos no se aplican, porque se trata de una ganadería extensiva. Por lo tanto, la comparación de la eficiencia reproductiva entre estas fincas y la prevalencia de anomalías cromosómicas de los reproductores, permitirá confirmar si distintos manejos reproductivos inciden en el éxito de la producción. Es de interés también establecer la relación costo-beneficio, tanto por razones genéticas como económicas, porque un reproductor valioso desde el punto de vista fenotípico, debe ser analizado cromosómicamente, evaluación que tiene un costo mínimo en comparación con el beneficio que significa estar seguro de que no difundirá problemas cromosómicos que reduzcan la eficiencia reproductiva del ganado y afecten la producción.

En casi todos los países tropicales de América Latina existe el ganado bovino conocido comúnmente como ganado Criollo, que corresponde a *Bos taurus*, ganado europeo traído por los españoles hace más de 500 años, que reúne la doble condición de ser buen productor de leche y muy resistente a las condiciones tropicales [11]. La adaptabilidad del ganado Criollo constituye una ventaja para mejorar la calidad de los híbridos en mestizaje con Cebú, sin embargo, su baja fertilidad (45.3%) [6, 14], ha limitado su utilización en **Programas de Ganado de Doble Propósito**. Entre las causas de esta baja fertilidad se ha detectado una alta incidencia de anomalías cromosómicas [15].

En el Laboratorio de Reproducción y Desarrollo de la Universidad Simón Bolívar primero (1987) y luego en el Instituto de Reproducción Animal e Inseminación Artificial de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Central de Venezuela (1995), se han estado utilizando las técnicas de análisis citogenético de bovinos razas puras y mestizos, mediante el cultivo de sangre periférica, la obtención de placas metafásicas y el marcaje cromosómico, a fin de evaluar cromosómicamente a los reproductores de Centros de Recría y fincas privadas. Se han estudiado 350 reproductores, de los cuales 110 vacas y 60 toros corresponden a animales de doble propósito. Estos estudios se han realizado en dos tipos de ganado, aquellos seleccionados por **pruebas de progenie y estricto control de su eficiencia reproductiva** y en ganaderías **extensivas**. Se ha establecido la prevalencia de las anomalías cromo-

sómicas y se han realizado estudios citogenéticos de hembras provenientes de nacimientos gemelares heterosexuales [16].

II. ANOMALÍAS CROMOSÓMICAS

A pesar de la gran diversidad de anomalías cromosómicas, se pueden distinguir dos categorías: **anomalías de número y anomalías de estructura.**

Las anomalías de número pueden implicar a un complemento entero de cromosomas o a un solo cromosoma. En el primer caso podría corresponder a una diploidía, triploidía, etc., lo que puede deberse a un accidente, como por ejemplo la fecundación de un óvulo diploide. Cuando es sólo un cromosoma el afectado, se puede producir una monosomía o trisomía. de un determinado par. La trisomía es mejor tolerada que la monosomía, que puede ser letal, en cambio es más frecuente que nazcan individuos trisómicos. La causa más frecuente de aneuploidía es la no disyunción de un cromosoma durante la división celular [21].

Las anomalías de estructura aparecen generalmente después de una fractura cromosómica en el estado premeiótico o meiótico. El fragmento resultante de una fractura puede perderse (delección), sufrir una rotación (inversión) o ser translocado sobre otro cromosoma. Un caso particular de translocación y fusión de tipo Robertsoniana o fusión centromérica, se produce cuando dos cromosomas homólogos que tienen un centrómero terminal se fusionan, con lo cual se reduce el número diploide de cromosomas. Por ejemplo en bovinos una translocación centromérica reduciría el número de 60XY a 59XY. Las translocaciones recíprocas y de tipo Robertsoniana provocan la formación de gametos desequilibrados y al mismo tiempo se propagan de una generación a otra, mediante gametos equilibrados pero portadores de la translocación [21].

III. TRANSLOCACIÓN 1/29

La Citogenética aplicada a los animales domésticos nació en 1964, cuando Gustavsson y Rockborn descubrieron la primera anomalía cromosómica en ganado bovino [7], la denominada **translocación Robertsoniana 1/29** (Figura 1). Después de demostrar su efecto deletéreo sobre la fertilidad [2, 4], todos los reproductores de la mayoría de los Centros de Recría en Europa fueron investigados citogenéticamente y se seleccionaron por sus características cromosómicas. La translocación 1/29 se ha encontrado en alrededor de 60 diferentes cruces, incluyendo *Bos indicus* [17, 19].

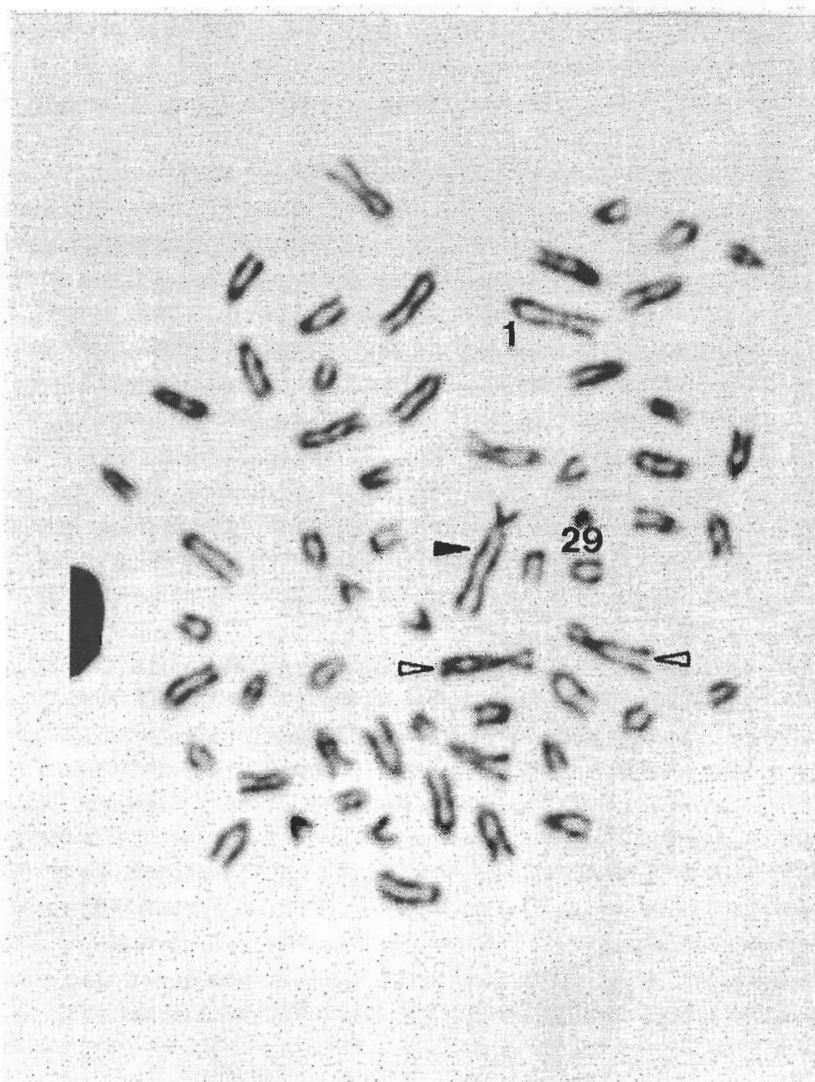


Figura 1. Placa metafásica de una vaca mestiza (*Bos taurus* x *Bos indicus*) portadora de la Rb 1/29 ($2n=59$, XX, t1/29), Cariología Beta (tinción Giemsa).

▷ : Cromosomas sexuales

▶ : Cromosomas translocados.

El mejoramiento de las técnicas de bandeo ha permitido caracterizar mejor esta anomalía, en particular las técnicas de bandeo C revelan la presencia de solamente un bloque de heterocromatina constitutiva localizada en la región centromérica de los cromosomas translocados. Las técnicas de ban-

deo C permiten identificar al centrómero del cromosoma 1, mientras que la mayor parte del centrómero del cromosoma 29 se ha perdido, durante la fusión [8], por lo tanto la translocación es **monomérica**. Este análisis con bandeado C demuestra que la hipótesis del origen ancestral de la translocación 1/29 es verdadera y que las otras translocaciones, que son **diméricas** tienen un origen más reciente. Se ha postulado que los Bóvidos usaron este rearrreglo cromosómico para evolucionar [24], como se demostró por estudios citogenéticos comparativos, que sugieren que por fusión centromérica se podría reducir el número de cromosomas de 60 a 58, y obtener así ventajas derivadas de una nueva unión entre el 1 y el 29, por ejemplo la segregación cigótica podría ser normal en portadores homocigóticos cuyo número cromosómico es $2n=58$.

Los efectos de la translocación 1/29 no son fenotípicamente visibles en los animales portadores, ellos poseen una libido normal, así como también es normal la calidad seminal en los toros; por su parte las hembras portadoras tampoco difieren de las hembras normales en su fenotipo y conducta sexual. De modo que la anomalía pasa absolutamente desapercibida y sólo puede ser revelada por el estudio cromosómico [14]. En términos económicos, también se justifica este diagnóstico previo a la introducción de un semental en un Programa de monta natural, congelación de semen e inseminación artificial.

El problema para identificar la presencia de esta anomalía reside en que si el toro es portador de la translocación y se utiliza la **monta natural**, existe la posibilidad que se produzcan gametos balanceados y desbalanceados (Figura 3 y 4), pudiéndose dar las siguientes probabilidades: que la hembra tenga becerros normales, libres de la translocación en un 47 %, que en otro 47 % sean fenotípicamente normales pero portadores de la translocación y finalmente que se de un 6 % de abortos por mortalidad embrionaria debida al desbalance cromosómico por monosomía del 1 o del 29 (Figura 6).

El problema se presenta para identificar a los portadores, porque si el toro preña a las hembras, ese es el mejor certificado de fertilidad, aunque esté aportando gametos portadores de la anomalía y desbalanceados, al fin y al cabo la que producirá becerros portadores o abortará será la hembra, en este último caso, el ganadero sacrificará a la hembra, cuando el verdadero responsable es el toro. La causa del problema es aún más difícil de identificar si el programa de monta natural consiste en mantener durante la estación de monta 2 toros para 25 vacas en un mismo potrero, como fué el caso de 2 fincas evaluadas en el presente estudio (Figura 2).

La congelación de semen e inseminación artificial representa otro extraordinario medio de difusión de las anomalías cromosómicas cuando el semental posee un excelente fenotipo pero es portador de una anomalía cromosómica. En este caso se dispersa enormemente el problema, porque ya no se trata de 25 vacas servidas durante una estación de monta sino de miles de

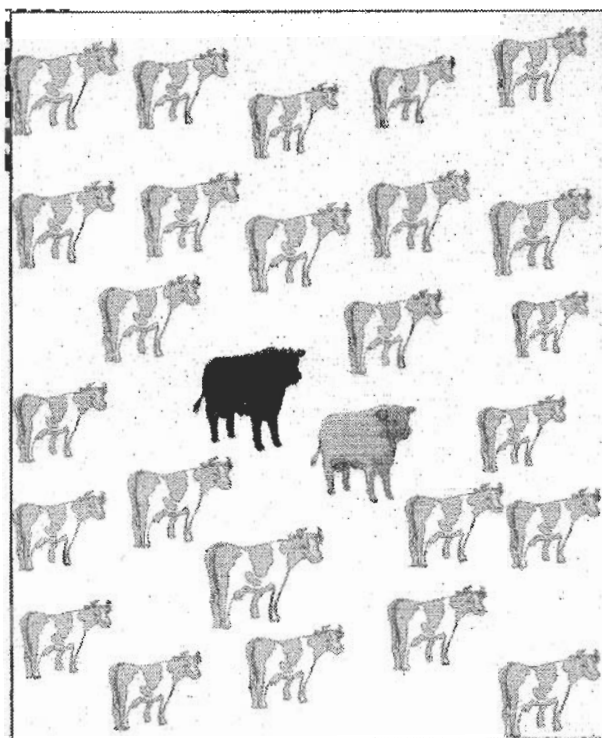


Figura 2. Monta natural: 25 vacas mestizas durante la estación de monta con 2 toros mestizos, uno de los cuales es portador de la translocación 1/29 (negro) y el otro es normal (gris).

dosis de semen de un mismo toro, lo cual aumenta las probabilidades de gametos portadores y desbalanceados (Figuras 3 y 4).

IV. EVALUACIÓN CITOGENÉTICA DE GANADO DE DOBLE PROPÓSITO

Mediante cultivo de sangre periférica se estimuló la proliferación de linfocitos, con mitógenos y se detuvo la mitosis con colchicina para obtener placas metafásicas. Los cromosomas fueron analizados mediante marcaje en bandejo G y C [4]. Estos marcajes cromosómicos permiten la identificación de los cromosomas homólogos y la individualización de los centrómeros respectivamente. Los reproductores provenían de 4 fincas que habían mantenido un programa de producción de animales de doble propósito *Bos taurus* x *Bos in-*

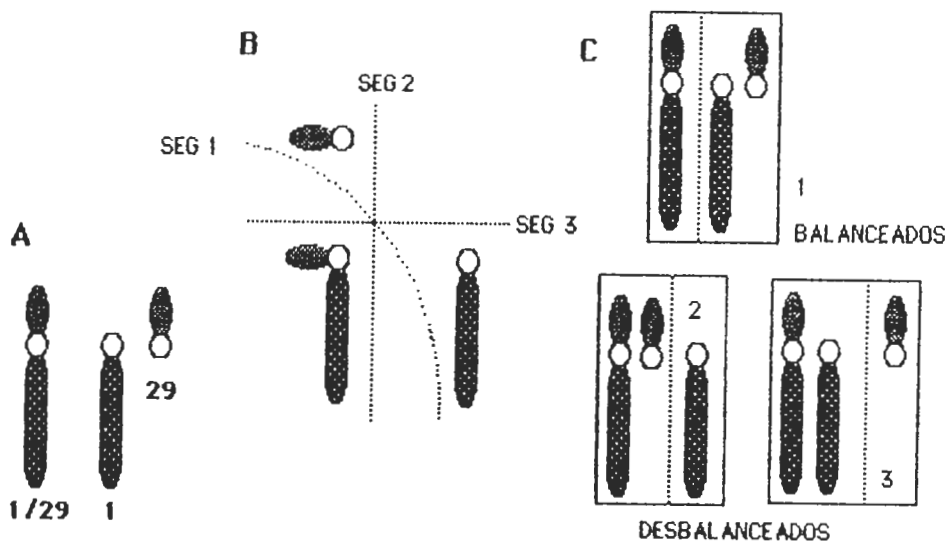


Figura 3. Representación esquemática de la segregación de los cromosomas durante la segunda división meiótica. A: cromosomas 1, 29 y 1/29 del espermatocito primario ($2n$) portador de la translocación. B: formación del heterotrivalente, con las posibles líneas de segregación (1) normal, (2) y (3) no-disyunción de los cromosomas 29 y 1, respectivamente. C: gametos formados como producto de cada tipo de segregación. (1) gametos balanceados, (2) y (3) gametos desbalanceados. [12]

dicus en cruzamientos 3/4 y 5/8. Dos de estas fincas (A y B) mantenían un riguroso control de la eficiencia reproductiva de sus sementales y vacas reproductoras, mediante pruebas de progenie y selección por características reproductivas y se utilizaba la inseminación artificial. En estas fincas se evaluaron 60 vacas y 30 toros. El resultado de este estudio reveló que los animales estaban libres de anomalías cromosómicas [22].

Los resultados obtenidos en las otras dos fincas (C y D) fueron totalmente diferentes. En dichas fincas no se controlaba la eficiencia reproductiva con rigurosidad, además se utilizaba la monta natural con 2 toros y 25 vacas durante la estación de monta. El número total de animales evaluados fué de 50 vacas y 30 toros. Se evidenció la presencia de 5 hembras portadoras de anomalías cromosómicas del tipo translocación 1/29, 4 de ellas en condición **heterocigótica** (Figura 1) y 1 de ellas en condición **homocigótica** (Figura 5), lo que da una incidencia de 10% de portadoras de la translocación en este reba-

MACHO	GAMETOS	ZIGOTO	GAMETOS	HEMERA

Figura 4. Estudio de la carga cromosómica de los cigotos resultantes de la fecundación de una vaca con cariotipo normal y un toro heterocigoto para la translocación 1/29 [3].

ño de hembras [16]. El hecho de haber encontrado una hembra homocigótica, es decir 58XX, indica que entre los machos debía estar presente la translocación, porque ambos gametos debieron haber aportado los cromosomas translocados (Figura 6). Efectivamente se encontró un 20 % de portadores de la translocación (6/30), lo que podría deberse a que la presión de selección, indiferente que no se apliquen pruebas de progenie y selección por eficiencia reproductiva en estas fincas, es más fuerte sobre las hembras que sobre los machos, en especial porque si no se analizan los cromosomas sería imposible detectar la presencia de esta anomalía en los machos. La figura 6 ilustra las posibles consecuencias de mantener en un rebaño tanto machos como hembras portadoras de esta anomalía cromosómica.



Figura 5. Placa metafásica de una vaca mestiza portadora de la translocación Robertsoniana 1/29 en condición homocigota ($2n=58$, XX, $t1/29$). Aumento de 1008.

→ : cromosomas sexuales

▼ : cromosomas translocados

V. ESTUDIO CITOGENETICO DE HEMBRAS FREEMARTIN

Cuatro hembras mestizas adultas estériles, provenientes de nacimientos gemelares heterosexuales fueron evaluadas citogenéticamente para establecer si su infertilidad era causada por problemas cromosómicos. Se realizó como ya se describió anteriormente, cultivo de sangre periférica, para obtener las placas metafásicas y analizar los cromosomas. Después de obtener la sangre de estos animales las 4 hembras fueron sacrificadas y sus órganos sexuales expuestos para su reconocimiento. Cabe destacar que la apariencia externa de las hembras era completamente normal. Los órganos internos se caracterizaron por una masculinización de las gónadas, un desarrollo retardado de los derivados de los conductos paramesonérficos y mesonérficos, es decir se reconocieron ovotestes, útero, vesículas seminales, conducto deferente, vagina, clítoris y vulva. Las 4 hembras presentaron cariotipo en mosaico 60XX/60XY en sus linfocitos (Figura 7). Al menos 100 placas metafásicas fueron analizadas de cada hembra. La proporción de células que presentaban 60XY fue variable de una hembra a la otra: 30, 38, 52 y 60 % respectivamente [22].

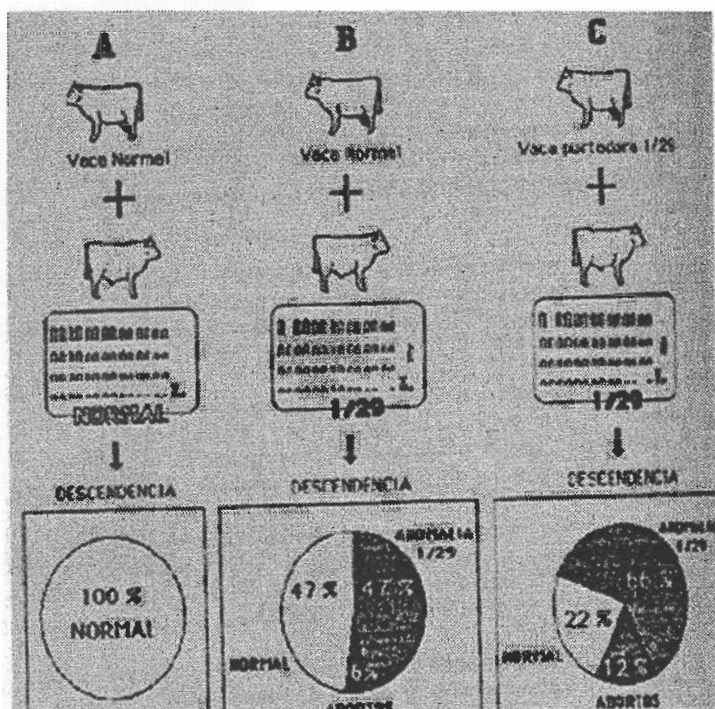


Figura 6. A. Apareamiento entre animales cromosómicamente normales, su descendencia es 100% normal. **B.** Apareamiento de una vaca normal con un toro de apariencia normal portador de la anomalía 1/29; de su descendencia, el 47% es normal, 47% es portadora de la anomalía y 6% es abortado. **C.** Apareamiento entre dos portadores de la anomalía 1/29, de su descendencia el 22% es normal, un 66% es portador de la anomalía 1/29 y el 12% es abortado.

El análisis cromosómico de estas 4 hembras demostró que la anastomosis vascular ocurrió durante el desarrollo fetal. El grado de masculinización del tracto reproductor femenino varía ampliamente en estos casos [9]. Se ha sugerido que no existe asociación entre el grado de anomalías en el tracto genital femenino y el porcentaje de células 60XY [22], habiéndose propuesto que la conexión vascular entre gemelos, podría provocar el intercambio de células portadoras del antígeno X-Y [1], lo que podría significar instrucciones para diferenciar y organizar la gónada femenina en testículo [19]. A pesar de las numerosas investigaciones realizadas durante este siglo, no ha sido posible identificar el o los factores que alteran la diferenciación del ovario.



Figura 7: Cariología en mosaico. Cariotipo superior: placa metafásica 60 XY (*Bos taurus*). Cariotipo inferior: 60 XX, (*Bos indicus*). Ambos cariotipos corresponden a placas metafásicas obtenidas de células de la misma vaca freemartin.

▶ : Cromosomas sexuales

Es altamente recomendable realizar un diagnóstico temprano de la cariología de hembras de nacimientos gemelares heterosexuales, de forma tal que no sea necesario esperar hasta su etapa adulta para verificar su fertilidad o esterilidad, aunque fenotípicamente la hembra sea normal.

VI. CONCLUSIONES

En este estudio se han analizado dos diferentes problemas que inciden sobre **la eficiencia reproductiva**, cuyas causas por ser cromosómicas no se pueden identificar si no se somete el animal al diagnóstico citogenético. La Biología Molecular ha desarrollado técnicas muy eficientes para diagnosticar problemas cromosómicos y genéticos, pero estas tecnologías no están al alcan-

ce de todos los Centros de Recría o de todas las fincas. El análisis cromosómico de los sementales y hembras reproductoras debería ser requisito para incluir a los animales en Programas de Producción, tal como se ha establecido en países europeos, los cuales no pueden exportar ni importar reproductores si no tienen un certificado de normalidad cromosómica.

En Venezuela desde 1987 es posible utilizar el diagnóstico citogenético pero es necesario tomar conciencia de la necesidad de verificar oportunamente la normalidad cromosómica de los reproductores, para no perder tiempo y dinero, utilizando animales que aún siendo fértiles contribuyen a reducir la eficiencia reproductiva, porque son portadores de problemas cromosómicos como la translocación 1/29.

VII. LITERATURA CITADA

- [1] Carlon, N. Rôle de l'antigène H-Y dans l'organogénèse des gonades chez l'homme et le mammifères. *Pathol. Biol.* 30: 49-60. 1982.
- [2] Dyrendahl, Y.; Gustavsson, I. Sexual functions, semen characteristics and fertility of bulls carrying the 1/29 chromosome translocation. *Hereditas* 90: 281-289. 1979.
- [3] Frank, M; Robert, J.M. La Pathologie cromosomique. Étude chez *Bos taurus* L. *Revue Med. Vet.* 132 (6): 405-411. 1981.
- [4] Ford, C.E.; Pollock, D.L.; Gustavsson, I. Proceedings of the First International Conference for the standarization of banded karyotype of domestics animals. University of Reading, Reading, England, 2-6 August, 1976. *Hereditas* 92: 145-162. 1980.
- [5] Gustavsson, I. Cytogenetics distribution and phenotipic effects of translocation in Swedish cattle. *Hereditas* 63: 68-169. 1969.
- [6] Gustavsson, I. Chromosomes evaluation and fertility. 10th. International Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination, University of Illinois, Urbana-Champaign, USA, June 10-14, 1984, 6: 1-7. 1984.
- [7] Gustavsson, I.; Rochborn, G. Chromosomes abnormality in three cases of lymphatic leukaemia in cattle. *Nature* 203: 990. 1964.
- [8] Iannuzzi, L.; Gallagher, D.S.; Liou, L.S.; Di Meo, G.P.; Ryan, A.M.; Sastry, K.N.; Womack, J.E. Clinical, Comparative and Mollecular Cytogenetics in Domestic Bovides. *Hereditas* 120: 283-286. 1994.
- [9] Horton, M.B.; Anderson, G.B.; Bon Durant, R.H.; Cupps, P.T. Freemartins in beef cattle twins induced by embryo transfer. *Theriogenology* 14 (6): 443-451. 1980.
- [10] Linares, T.; Plasse, D.; Burguera, M.; Ordoñez, J.; Ríos, J.; Verde, O.; González, M. Comportamiento productivo de *Bos taurus* y *Bos indicus* y sus cruces en el llano Venezolano. Eficiencia Reproductiva. *Mem. Asoc. Latinoam. Prod. Animal* 9: 289-301. 1974.

- [11] Linares, T. Caracteres reproductivos en *Bos taurus*, *Bos indicus* y sus cruces en el Llano Venezolano. I. Eficiencia Reproductiva en vacas de fundación, II. Pubertad de sus hijas. Trabajo de Ascenso, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Central de Venezuela. pp. 10-21. 1975.
- [12] Madriz, M.L. Análisis cromosómico del ganado criollo: Relación con la Eficiencia reproductiva. Trabajo especial de Grado. Universidad Simón Bolívar. Caracas. pp. 52-54. 1987.
- [13] Madriz, M.L.; Muñoz, M.G. Análisis Cromosómico del Ganado Criollo Venezolano. Acta Científica Venezolana 42: 266-269. 1991.
- [14] Muñoz, M.G.; Ocanto, D.; Madriz, M.L.; Medina R.; Vera O. Incidence of the 1/29 translocation in venezuelan creole bulls. Theriogenology 41(2): 379-382. 1994.
- [15] Muñoz, M.G.; Ocanto, D.; Medina R.; Duraes, M.I. Incidence of 1/29 translocation in Venezuelan Crossed Cows used in Reproductive Programs. Theriogenology 43 (6):1055-1060. 1995.
- [16] Muñoz, M.G. Optimización de la Producción de Ganado con los aportes de la Citogenética y la Biología Molecular. Mem. VI Congreso de Genética. Conferencia. Maracaibo. Venezuela. 1997 (en prensa)
- [17] Nel, N.D.; Harris, E.J.; Weiermans, S.J.E.; Meyer, E.H.H. A 1/29 chromosome translocation in Southern African Nguni cattle. Génét. Sél. Evol., 17, 293-302. 1985.
- [18] Ohno, S.; Truillo J.M.; Wachtel, S.S.; Koo G.C. Hormone like role H-Y antigen in bovine free-martin gonad. Nature 261: 597-598. 1976.
- [19] Pinheiro, L.E.L.; Ferrari, I.; Ferraz, J.B.S.; Lobo, R.B. High frequency of Robertsonian translocation in a Brazilian cattle breed. Rev. Bras. Genet. 4: 657-665. 1981.
- [20] Popescu, C.P., Tixier, M. L'incidence des anomalies chromosomiques chez les animaux de ferme et leurs conséquences économiques. Ann. Génét. 27: 69-72. 1984.
- [21] Popescu, P. Cytogenetique des mammiferes d'élevage. Ed.INRA, París, France. pp. 21-24. 1992.
- [22] Vera, O.; Bastidas, P.; Muñoz, M.G. Análisis cromosómico precoz y Manejo Reproductivo adecuado como herramientas para Mejorar la Producción de Ganado Bovino. Arch. Latinoam. Prod. Anim. 5: 524-526. 1997.
- [23] Vigier, B.; Locatelli, A.; Prepin, J.; Du Mesnil du Buisson, F.; Jost, A. Les premières manifestations du "freemartinisme" chez le fœtus de veau en dépendent pas su chimérisme chromosomiques XX/XY. C. R. Séanc. Acad.
- [24] Wachtel, S.S.; Hall, J.L.; Nuller, V.; Chaganti, R.S.K. Serum borne H-Y antigen in the fetal bovine freemartin. Cell 21: 917-926. 1980.
- [25] Wurster, D.H.; Benirschke, K. Chromosome studies in the superfamily Bovioidea. Chromosoma 25: 152-179. 1968.