

## CAPÍTULO XXVI

### POTENCIAL DE LAS BIOTECNOLOGIAS REPRODUCTIVAS EN EL FOMENTO Y MEJORAMIENTO DE LA GANADERÍA DE DOBLE PROPÓSITO

- I. INTRODUCCIÓN
- II. INSEMINACIÓN ARTIFICIAL
- III. TRANSPLANTE DE EMBRIONES
- IV. CONGELACIÓN DE EMBRIONES
- V. SEXAJE DE EMBRIONES
- VI. FERTILIZACIÓN *IN VITRO* DE ÓVULOS
- VII. SEXAJE DE SEMEN
- VIII. CLONACIÓN
- IX. LITERATURA CITADA

**Rumualdo González Fernández**

## I. INTRODUCCIÓN

Después de la puesta a punto de técnicas como la Inseminación Artificial (1945) y el Transplante de Embriones (1975) consideradas como biotecnologías de primera y segunda generación respectivamente, otras tecnologías vinculadas con la reproducción animal asociadas con las dos primeras como la fertilización *in vitro* de óvulos, la congelación de embriones, el sexaje de embriones, el sexaje de semen y la clonación se han venido progresivamente desarrollando para su aplicación en el mejoramiento genético, conservación de razas en vías de extinción y fomento de nuevas razas.

## II. INSEMINACIÓN ARTIFICIAL

La Inseminación Artificial (IA) continua siendo el método mas efectivo en el mejoramiento poblacional de rebaños de leche y carne. Los nuevos modelos de selección de toros permiten la utilización de animales con mayor potencial genético en la mejora de la concentración de sólidos de la leche, precocidad, facilidad de ordeño, conformación, etc., en la ganadería de leche. En ganado de carne, se utilizan toros para mejorar la facilidad de parto, ganancia de peso, mayor ternera de la carne con menos contenido de colesterol, un mayor rendimiento en canal y precocidad.

Igualmente, en ganaderías de doble propósito, el empleo de semen congelado proveniente de toros probados de razas lecheras para su cruce con razas cebuínas o viceversa, sigue siendo el método mas difundido para producir animales mestizos de doble propósito en el trópico. Las hembras 1/2, 3/8 ó 5/8 cebú ó de razas lecheras han demostrado ser los mestizajes mas utilizados por los criadores para la producción de leche en el trópico seco y húmedo. El empleo de semen de toros mestizos ha sido poco estudiado existiendo una fuerte demanda por los toros F1 (cebú x razas lecheras), los cuales están siendo evaluados como otra alternativa de apareamientos en programas genéticos en la ganadería de doble propósito.

## III. TRANSPLANTE DE EMBRIONES

Aun cuando el transplante de embriones (TE) ha venido siendo aplicado en ganado mestizo en nuestro país desde el comienzo de la década de los ochenta, la técnica no ha adquirido aún una amplia difusión debido entre otros factores al costo relativamente alto de los productos obtenidos y a la

poca receptividad por parte de los criadores. La técnica como tal ofrece la ventaja de multiplicar en forma acelerada la descendencia de las mejores vacas mestizas para la obtención principalmente de toretes mejorados. Aquellos toretes mestizos destacados por precocidad, adaptación y desarrollo testicular producto de T.E. son los mas indicados para evaluar, teniendo en cuenta como referencia además la producción de sus hermanas completas. Bancos genéticos de embriones congelados provenientes de vacas reconocidas por su descendencia al cruzar con determinados sementales facilitaría la creación de rebaños elite destinados a la producción de toretes superiores. Las vacas mestizas tienen un satisfactorio rendimiento de 6.3 embriones transferibles por cada donadora recolectada (Cuadro 1) [5].

**CUADRO 1. PRODUCCIÓN DE EMBRIONES EN VACAS MESTIZAS DE DOBLE PROPÓSITO [5]**

Donadora Recolectadas	158
Embriones Producidos	1.387
Embriones Transferibles	996 (71.8%)
Promedio de Embriones Transferibles/Donadora	6.3

Igualmente, razas criollas desarrolladas en el trópico a través de varios siglos de selección natural constituyen otra alternativa poco explorada en la ganadería de doble propósito. En Venezuela, la raza Criollo Limonero desarrollada mayormente en la zona norte del Estado Zulia, se ha caracterizado por su resistencia al medio ambiente y por ofrecer niveles aceptables de producción de leche. Un programa MOET se ha implementado para la conservación y mejoramiento de dicha raza, habiéndose recolectado y congelado un total de 253 embriones, creando de esta manera el primer banco de germoplasma Criollo Limonero (Cuadro 2) [4].

**CUADRO 2. PRODUCCIÓN DE EMBRIONES EN GANADO CRIOLLO LIMONERO [4]**

Donadoras	Huevos	Embriones	Promedio
Nº	Total	Transferibles	Embriones/Donadora
32	418	253(60.5%)	7.9

#### IV. CONGELACIÓN DE EMBRIONES

Actualmente los embriones bovinos pueden ser congelados en nitrógeno líquido con una tasa alta (>80%) de sobrevivencia post-congelación y una preñez satisfactoria (>45%) post-transplante. Los embriones bovinos congelados de vacas mestizas han demostrado una tasa de fertilidad similar que la obtenida utilizando embriones de razas *Bos-taurus* transplantados en novillas receptoras mestizas. (Cuadro 3) [3]. La nueva técnica de transplante directo de embriones congelados, aun cuando proporciona resultados de fertilidad menos consistentes, posee varias ventajas respecto a la manipulación de los embriones pre-implantación. Los embriones después de ser retirados del tanque de almacenamiento son descongelados rápidamente en agua a 20-30°C, y luego montados en la pistola para el transplante inmediato en receptoras que hayan exhibido celo natural o sincronizado una semana atrás.

**CUADRO 3 TASA DE PREÑEZ DE EMBRIONES CONGELADOS BOS TAURUSvs F1 (*Bos taurus* x *Bos indicus*) [3]**

Grupo Racial	Tasa de Preñez	
	Nº	%
<i>Bos taurus</i>	56/127	44.0
		NS
<i>Bos taurus</i> x <i>Bos indicus</i> (F1)	30/71	42.2

#### V. SEXAJE DE EMBRIONES

De los diferentes procedimientos que han sido investigados para la determinación del sexo de los embriones previo al transplante, destaca solamente un método comercial de sexaje mediante biopsia del embrión por medio de micromanipulación seguida de la determinación del cromosoma Y- específico de ADN utilizando una cadena de reacción de polimerasa. [1, 7, 11]. Pocas células requieren ser removidas sin deterioro del embrión y sin contaminación con espermatozoides accesorios unidos o presentes en la membrana pelúcida del embrión. Lo limitante de este método de sexaje, aún cuando es muy preciso, es que requiere de tiempo y gran destreza especialmente en la práctica para la biopsia del embrión. Además es necesario adicionar a esta operación el costo sobre cada embrión sexado. Los métodos que incluyen anticuerpos específicos del cromosoma Y (H-Y) para el sexaje de embriones son subjetivos y

comercialmente no existen antígenos para dicha determinación. A nivel de finca los embriones han sido sexados con alta eficiencia (Cuadro 4) [11], habiéndose obtenido una satisfactoria tasa de preñez post trasplante (Cuadro 5) [11].

**CUADRO 4. EFICIENCIA DEL SEXAJE DE EMBRIONES BOVINOS REALIZADOS A NIVEL DE FINCA [11]**

Tipo de Embriones	No.	SEXAJE		
		Efectivo	Cuestionable	No determinado
Frescos	1160	94.7%	2.2%	3.1%
Congelados	67	89.7%	4.0%	6.3%

Biopsia: Microcirugía

Test: ADN específico del cromosoma "Y"

Tiempo Biopsia 6 embriones: 1 hora.

Sexaje: 3.5 horas.

**CUADRO 5. TASA DE PREÑEZ EN EMBRIONES SEXADOS [11]**

Embriones Transplantados	Tasa dePreñez	
	Nº	%
833	377	46,2

## VI. FERTILIZACIÓN *IN VITRO* DE OVULOS

El acelerado desarrollo de la técnica de fertilización *in vitro* de óvulos para la producción de embriones, esta actualmente en condiciones de poder dar apertura a un gran mercado internacional de animales mestizos de doble propósito. Embriones F1 (cebú x razas lecheras) pueden ser fácil y eficientemente producidos. Los ovarios de vacas puras de razas lecheras sacrificadas constituyen una fuente económica y abundante de óvulos, que después de 24 horas de cultivo son fertilizados con semen de toros *Bos indicus*. Los embriones obtenidos continúan su desarrollo hasta una semana de edad siendo luego transplantados o almacenados en nitrógeno líquido para un uso futuro. Actualmente existe un gran potencial para la producción de ganaderías F1 (cebú

x razas lecheras) en la zona tropical a través de esta tecnología. Las vacas mestizas de doble propósito poseen igualmente un potencial importante para la aplicación de esta técnica FIV. Los rendimientos de óvulos para su posterior fertilidad y cultivo en el laboratorio han demostrado ser satisfactorios en este tipo de ganado (Cuadro 6) [5]. Asimismo, los óvulos pueden ser recolectados directamente de ovarios de animales vivos, por vía transvaginal para su posterior maduración y FIV. Las hembras pueden ser sometidas a una o dos sesiones semanales de recolección de óvulos durante un periodo prolongado sin mayores riesgos sobre la futura actividad reproductiva del animal. A través de este procedimiento, aquellas vacas valiosas aunque infértiles pueden continuar produciendo descendencia al colocar sus embriones producto de FIV en otras hembras.

**CUADRO 6. TASA DE RECOLECCIÓN DE OOCITOS DE OVARIOS DE VACAS MESTIZAS SACRIFICADAS [5]**

Nº Ovarios	Nº Oocitos	Categoría de Oocitos			Promedio Oocitos
		A	B	C	
100	1.280	724 (59.3%)	403 (33.0%)	92 (7.5%)	12.8

Oocitos A,B = Calidad Cultivables.

## VII. SEXAJE DEL SEMEN

Recientemente se han logrado grandes avances en el sexaje de semen a través de la técnica de citometría de flujo, habiéndose efectuado de manera exitosa las primeras inseminaciones con semen sexado en ganado bovino (Cuadro 7) [10]. El empleo comercial de semen sexado congelado va a producir cambios trascendentales en los esquemas tradicionales de la producción ganadera. La futura aplicación de semen sexado en los programas rutinarios de I.A. y su pronto empleo en el servicio de vacas superovuladas o para la FIV de óvulos, necesariamente debe mejorar la eficiencia y difusión de la tecnología del trasplante de embriones. Al respecto embriones F1 (cebú x razas lecheras) congelados producto de FIV con semen sexado va a constituir una práctica reproductiva común para el fomento de ganaderías de doble propósito.

**CUADRO 7. INSEMINACIÓN ARTIFICIAL DE NOVILLAS CON SEMEN SEXADO [10]**

Tipo de Semen	N	Tasa de Preñez		Relación del Sexo	
		N	%	N	%
Semen sexado	45	19	42	18	95 <sup>a</sup>
Semen fresco	28	15	54	8	53 <sup>b</sup>

a- b  $\leq$  0.02

## VIII. CLONACIÓN

Aun cuando la clonación requiere todavía de superar algunos escollos, ella tiene un gran futuro en el campo de la producción animal. Después del trascendental acontecimiento de clonación de la oveja Dolly [12], se han planteado una serie de interrogantes e incluso algunas propuestas de carácter bioético. La multiplicación futura del germoplasma completo de bovinos adultos puros ó mestizos destacados por sus altos rasgos de adaptación y producción deberá ofrecer una importante alternativa para la creación de rebaños semejantes y de alta eficiencia, especialmente de bovinos en el trópico.

## IX. LITERATURA CITADA

- [1] Bondioli, K. Embryo Sexing. A review of current techniques and their potential for commercial application in livestock production. *J. Animal Sci.* 70 (suppl 2): 491. 1992.
- [2] Cran, DG.; Johnson, L. A. The predetermination's of embryonic sex using flow cytometrically separated X and Y spermatozoa. *Human Reprod. Update* 2: 355-363. 1996.
- [3] González, R. Congelación, descongelación y transplante directo de embriones bovinos. Sem. Facultad Ciencias Veterinarias, Universidad del Zulia. Maracaibo, Venezuela. Mimeo. 25 pp. 1998.
- [4] González R., Velarde JC; Zambrano, S.; Este P. Producción y transplante de embriones congelados de bovinos Criollo Limonero. *Arch. Latinoam. Prod. Anim.* 5 (Supl.): 370-372. 1997.
- [5]

- González, R.; Soto, E.; Bohórquez, R. Producción y trasplante de embriones en ganado mestizo de doble propósito. Mem. II Jornadas Nacionales Reproducción Animal, Maracaibo, Venezuela. 1985.
- [6] González, R., Soto, E., Delgado, N., Portillo, G., De Ondiz, A., Velarde, J.C. Comparación de dos métodos de recolección de oocitos de ovarios de bovinos mestizos sacrificados. *Rev. Científica, FCV,-LUZ* 11: 2. 1992.
- [7] Herr, CM.; Reed, KC. Micromanipulation of bovine embryos for sex determination. *Theriogenology* 26: 265 (Abstr). 1991.
- [8] Johnson, LA. Isolation of X-and Y-bearing Sperm for sex separation. In: *Oxford Reviews of Reproductive Biology*. Ed. HM Charton. Oxford University Press, Oxford, K. 16pp 303-326. 1994.
- [9] Johnson, LA. Sex preselection by flow cytometric separation of X and Y chromosome bearing sperm based on DNA difference: a review. *Reprod. Fert. and Develop.* 7: 893-903. 1995.
- [10] Seidel, GE.; Herickhoff, LA.; Schenk, JL.; Doyle, SP.; Green, RD. Artificial insemination of heifers with cooled, unfrozen sexed semen. *Theriogenology* 49: 1 (Abstr). 1998.:
- [11] Thihier, M ; Nibart, M.. The sexing of bovine embryos in the field. *Theriogenology* 43: 71-80. 1995.
- [12] Wilmut, I.; Schnieke, AE., Mc Whir, J.; Kind, AJ.; Campbell, KHS. Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature* 385: 810-813, 1997.