

## Biotecnología reproductiva: Avances en ganado bovino

Salvador Romo García\*

En la última década, la reproducción en ganado bovino ha evolucionado de manera acelerada, marcando el inicio de una nueva etapa. Esta se caracteriza por el desarrollo de una serie de técnicas que contribuyen a aumentar, en forma rápida, la capacidad reproductiva y de mejoramiento genético del ganado bovino. En esta especie, las técnicas para la manipulación del proceso reproductivo que han recibido mayor atención y desarrollo en los últimos cinco años son:

1. Ovulación Múltiple y Transferencia Embrionaria
2. Congelación de Embriones
3. Producción de Gemelos
4. Producción de Embriones *in vitro*
5. Multiplicación de Embriones
  - a. Por medio de Bisección o División
  - b. Por medio de Clonación o Transferencia Nuclear
6. Sexado de Embriones
7. Sexado de Fetos
8. Transferencia de Genes.

La mayoría de estas técnicas se lleva a cabo en forma comercial en ganado bovino, con excepción de la Transferencia de Genes, aún en etapa experimental.<sup>1</sup>

La importancia de estas nuevas tecnologías está en la forma en que se puedan complementar unas con otras y en la posibilidad de que sean usadas comercialmente. Estas nuevas tecnologías, junto con la -Inserminación Artificial (IA) y un programa selectivo de cruzamientos, se pueden convertir en parte de un sistema en gran escala para la producción y comercialización de animales genéticamente superiores."

Muchos de estos adelantos tienen y tendrán un gran impacto en la producción de ganado bovino en todo el mundo; luego, es importante que el ganadero progresista conozca los aspectos más importantes y prácticos de dichas técnicas.

El objetivo de este artículo es presentar una breve revisión de los últimos adelantos en biotecnología reproductiva que contribuyen a mejorar la producción del ganado bovino. Se analizarán también aspectos como las ventajas y desventajas, aplicaciones prácticas, eficiencia, costos y disponibilidad comercial de cada técnica.

### I. Transferencia Embrionaria

Esta técnica, también conocida como Transplante de Embriones (TE), consiste en el proceso de colección de embriones de una madre biológica o genética (llamada donadora) y la colocación de los mismos en el útero de madres adoptivas (llamadas receptoras), en las que se lleva a término la gestación.

La TE consta de cuatro fases principales:

1. Ovulación Múltiple o Superovulación
2. Fertilización de los óvulos
3. Colección de los embriones
4. Transferencia de los embriones.

Cada fase consta de varios procedimientos que no se consideran en este artículo, pero que deben ser llevados a cabo de modo eficiente, para obtener resultados exitosos.

Existen muchas aplicaciones de la Transferencia Embrionaria en ganado bovino; entre las más comunes están:

1. Aumentar la cantidad de crías que pueden obtenerse de hembras genéticamente superiores
2. Propagar donadoras que físicamente no pueden reproducirse
3. Optimizar el uso de semen de gran valor
4. Transportar material genético con facilidad a través de grandes distancias y fronteras
5. Ayudar en la aclimatación de ciertas razas a diversos ambientes
6. Desarrollar un hato de manera rápida
7. Controlar la transmisión de enfermedades
8. Facilitar la comercialización de material genético
9. Diagnosticar fallas reproductivas en vacas donadoras
10. Auxiliar en pruebas de progenie.

A pesar de todos los beneficios que ofrece, también hay algunas desventajas que limitan el uso de la Transferencia Embrionaria, como las siguientes:

1. Es relativamente costosa y de baja eficiencia
2. Requiere de tiempo
3. Las donadoras y receptoras deben ser animales reproductivamente sanos
4. Las donadoras deben ser de calidad superior (la TE por sí misma no mejora la calidad genética)

\* Departamento de Reproducción, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México, D.F.

5. Puede crear una saturación del mercado (y por lo tanto disminuir los precios del ganado genéticamente superior)

Los resultados que se pueden obtener de un programa de Transferencia Embrionaria en ganado varían grandemente entre vacas, entre compañías y técnicos. Los factores importantes en el éxito de un programa de Transferencia de Embriones en cuanto a obtención de buenos porcentajes de preñez": 27. 35 son:

1. La calidad y el estado de desarrollo de los embriones
2. El manejo y el cuidado de las donadoras y receptoras
3. La adecuada sincronización entre donadoras y embriones
4. La habilidad técnica de la persona que transplanta los embriones.

En general, la proporción de vacas receptoras que tienen partos de TE es muy similar o ligeramente superior a la de vacas que tienen partos después de una sola inseminación." Los resultados que se obtienen con esta técnica se muestran en el Cuadro 1.

En general, la gestación y el desarrollo de las crías de TE no son diferentes de los de una población natural, como se ve en el Cuadro 2.

Esta técnica está disponible en forma comercial prácticamente en todo el mundo, pero existe una gran variación en los precios y en la forma en que éstos están estructurados.

Debido a lo anterior, es posible encontrar en el mercado uno o más de los precios y tipos de cobro que se muestran en el Cuadro 3.

La aplicación de la Transferencia Embrionaria como auxiliar en pruebas de progenie debe considerarse en forma separada y especial. La contribución potencial de la TE a los programas de mejoramiento genético de las razas de ganado, cuando se emplea como un método auxiliar en pruebas de progenie, ha sido enfatizada

Cuadro 1  
RESULTADOS QUE SE PUEDEN OBTENER  
DE UN PROGRAMA DE TRANSFERENCIA EMBRIONARIA\*

Variable	Respuesta
Superovulación	8 a 10 ovulaciones por donadora
Embriones colectados	7 a 10 por donadora
Fertilización	75-80%
Embriones fertilizados y de buena calidad	4 a 7 por donadora
Transferencia quirúrgica	60 a 80% de preñez
Transferencia no quirúrgica	50 a 70% de preñez
Preñez por colección	3a4
Colecciones por donadora por año	3a4
Crías por donadora por año	9 a 16

\*Adaptado de".', to.11."

Cuadro 2  
RESULTADOS DE GESTACIÓN Y DESARROLLO  
DE BECERROS PRODUCIDOS POR  
TRANSFERENCIA EMBRIONARIA\*

Etapas de desarrollo	Hallazgo
Entre 2 Y 3 meses de gestación	3.2% abortan
Después de 3 meses de gestación	97% llegan a término
Duración de la gestación	varía según la raza del embrión (la raza de la receptora tiene poca influencia)
Peso al parto	está influido principalmente por la raza del embrión
Proporción de sexos al parto	51 % son machos
Muertes desde el parto hasta el destete	9%
Aumento de anormalidades en las crías	0%

\*Adaptado de 17.26

por la reciente adopción de sistemas de Ovulación Múltiple y Transferencia Embrionaria (OMTE, por sus siglas en español; MOET, por sus siglas en inglés) en varios países.<sup>21</sup>

Tanto en ganado lechero como de carne, estas técnicas hacen posible multiplicar la cantidad de individuos en familias completamente emparentadas, hasta el punto en que la información de parientes colaterales (hermanos y medios hermanos) puede contribuir significativamente a predecir el valor genético de un animal junto con la información que se tiene sobre su madre."

Para establecer un programa OMTE, las hembras identificadas como donadoras se pueden agrupar en un solo hato (esquema tipo "núcleo") o pueden permanecer en sus hatos originales o en diversos centros dedicados a la Ovulación Múltiple y Transferencia Embrionaria (esquema "sin núcleo").

Los objetivos de un esquema OMTE son: a) Establecer un hato de ganado de calidad genética superior para producción de leche o carne y b) Obtener un rápido progreso genético en cuanto a eficiencia reproductiva.

Un programa OMTE permite grandes porcentajes de respuesta genética en ganado bovino, ovino y porcino, pero ofrece mayores beneficios en bovinos y ovinos debido a su menor eficiencia reproductiva natural y a su mayor intervalo entre generaciones." De esta forma se puede contribuir a obtener porcentajes de ganancia genética en forma más rápida; esto puede hacer que los bovinos y ovinos sean competitivos con los cerdos y aves."

Sin embargo, un sistema OMTE es muy costoso, y se usa principalmente para el mejoramiento de razas más que para la producción comercial. En Inglaterra se han iniciado dos hatos OMTE, uno para ganado lechero y otro para ganado de carne, y en Francia y Dinamarca se están desarrollando pruebas de progenie usando programas OMTE en vaquillas."

11. Congelación de Embriones

La congelación controlada, también conocida como criopreservación, es una técnica que actualmente está bien establecida y cada día se usa más. Mediante este procedimiento los embriones sufren un proceso de deshidratación al enfriarse lentamente en una solución que contiene una substancia crioprotectora, es decir, que protege contra las bajas temperaturas. La descongelación puede ser lenta o rápida, dependiendo del nivel de deshidratación que haya alcanzado el embrión. Cada paso, desde la preparación de la solución crioprotectora hasta la evaluación del embrión después de la descongelación, tiene que ser controlado con precisión y llevado a cabo con cuidado. Esto requiere de considerable habilidad y experiencia.

Recientemente se ha visto un aumento significativo en la facilidad con que se pueden congelar y descongelar los embriones del ganado bovino; asimismo, los porcentajes de supervivencia de embriones congelados mejoran continuamente. Sin embargo, los resultados pueden variar considerablemente entre donadoras y entre técnicos.

La eficiencia de la Congelación de Embriones (CE) ha mejorado enormemente, hasta el punto en que los porcentajes de preñez de embriones congelados deben de ser solamente 5 o 10% menores que los obtenidos con embriones frescos. Por ejemplo, en un reciente estudio de TE usando embriones congelados que fueron colectados y congelados en Estados Unidos y transplantados en Argentina, se obtuvieron excelentes porcentajes de preñez tanto en vaquillas (65%) como en vacas (45%), con un porcentaje general de 63%.<sup>22</sup>

Empero, aún hay mucha variación entre técnicos y entre animales. Por ejemplo, una publicación reciente indica que la mayoría de los porcentajes de preñez que se obtienen en condiciones de campo con frecuencia están por debajo del 50%, y que los embriones de algunas donadoras sobreviven mejor que los de otras.

Un mercado de exportación de embriones congelados puede tener gran éxito si factores como la calidad de los embriones, la selección de receptoras y la sincronización entre donadoras y receptoras se mantienen dentro de límites razonables.

La congelación parece ser esencial para facilitar el comercio internacional de ganado bovino en gran

escala. El objetivo de muchas compañías es poder colocar en el mercado internacional embriones congelados y sexados a un precio comparable al del semen congelado. Según algunos expertos, los embriones son el futuro del comercio genético.

La CE está disponible comercialmente en muchas compañías de TE. El precio de congelar embriones varía entre compañías y entre técnicos. En términos generales, los precios varían desde \$50\* por donadora hasta \$50 por embrión, con un máximo de \$250 a \$300 por donadora\*\*. Los precios de los embriones congelados varían de acuerdo a la calidad genética de la vaca donadora y al grado de calidad del embrión, fluctuando aproximadamente desde \$150 hasta \$1000 por embrión, pero la mayoría con un precio promedio de \$250 a \$300\*\*.

11.1. Producción de Gemelos

La producción de gemelos se hace de dos formas diferentes:

- 1. Se insemina una vaca receptora durante su estro natural y siete días después se le transplanta un embrión (IA+TE).
- 2. Se transplantan dos embriones a una receptora (2TE).

Para comparar los porcentajes de preñez, gestaciones gemelares y total de crías obtenidas con cada uno de estos procedimientos, se realizó un estudio en el que se transplantaron embriones en ambas formas. Combinando IA y TE se obtuvieron mayores porcentajes de preñez (67%), de gemelos (28%) y de crías (94%) que transplantando 2 embriones (42%, 21% y 63%, respectivamente). De esta forma, se comprueba que la producción de gemelos tiene un gran potencial para aumentar significativamente el porcentaje de crías obtenidas. Además de lo anterior, la cantidad total de kilos por becerro destetado por vaca fue de 72% mayor en vacas con gemelos.<sup>13</sup>

Sin embargo, existen efectos secundarios que limitan el uso de esta técnica, como:

- a. La condición conocida como "Freemartin", en la cual la becerro que nace gemela con un becerro es estéril en más del 90% de los casos.
- b. El elevado porcentaje de mortalidad asociado con los partos gemelares, no solamente durante la gestación, sino también durante el parto y el periodo posterior al parto.

Esta técnica se emplea comercialmente en Estados Unidos de América, pero bajo condiciones especiales se emplea en Irlanda, Escocia y Japón. En estos países utilizan embriones de razas productoras de carne, que son relativamente escasas, para transplantarlos a vacas de razas lecheras, las cuales abundan.

\* Todos los precios en este artículo se expresan en dólares americanos  
\*\* Dorn, C.G., Fuller, D.T. y Moreno, J.F., Comunicación personal, 1992

Cuadro 3  
ESTRUCTURA DE PRECIOS Y TIPOS DE COBRO EN PROGRAMAS DE TRANSFERENCIA EMBRIONARIA\*

Tipo de cobro	Precio (Dólares americanos)
Precio por superovulación y colección	\$150 a 300 por vaca
Precio por transferencia	\$ 75 a 150 por embrión
Precio por preñez	\$100 a 300 por preñez
Precio por receptora preñada	\$1,200 a 1,500 (incluyendo la vaca receptora)

\*Adaptado de Dorn, C.C. y Fuller, D.T. Comunicación personal. 1991 y 1992

#### IV. Producción de Embriones *in vitro*

El término *in vitro* se utiliza para aquellos procedimientos que se llevan a cabo afuera del organismo vivo; en este caso se refiere a una serie de manipulaciones que se realizan en condiciones de laboratorio. De esta forma, el concepto de producción de embriones *in vitro* se puede definir, en forma simple, como una técnica que hace posible que los óvulos no fertilizados se puedan madurar, fertilizar y desarrollar bajo condiciones de laboratorio.

La materia prima para esta técnica son óvulos no fertilizados y semen de toros seleccionados. Hay dos formas para obtener los óvulos, según el objetivo final de producción.

1. Cuando el objetivo es producir embriones de razas puras, se utilizan vacas donadoras de la raza deseada y por medio de un procedimiento quirúrgico se obtienen los óvulos directamente de los ovarios del animal en vivo. Este procedimiento se denomina "Aspiración Guiada por Ultrasonido"; en términos generales, se realiza de la siguiente forma: Por vía vaginal se introduce manualmente una sonda especial de un aparato de ultrasonido. Esta es una sonda modificada que ha sido adaptada para llevar en su interior una aguja hipodérmica, conectada a una bomba de vacío por medio de una manguera de plástico. A continuación, por vía rectal, se localiza un ovario y se manipula hasta ponerlo en contacto con la aguja. Una vez frente a uno de los ovarios, con la ayuda visual del aparato de ultrasonido, se inserta la aguja hipodérmica en el ovario, dirigiéndola hacia la superficie interna del mismo, donde se localizan los óvulos. Finalmente, se procede a aspirar los óvulos inmaduros utilizando la presión negativa de la bomba de vacío. Este método también puede usarse en combinación con ovulación múltiple, cuando se desean obtener óvulos maduros.

2. Cuando el objetivo es producir embriones de tipo comercial, se usan ovarios de vacas o vaquillas sacrificadas en el rastro. Los ovarios se transportan de inmediato al laboratorio, donde se procede a aspirar los óvulos con una aguja hipodérmica conectada a una bomba de vacío.

Obtenidos los óvulos, el siguiente paso es producir embriones. La producción de embriones *in vitro* se ha convertido en realidad debido al reciente desarrollo de la tecnología en tres áreas íntimamente relacionadas:

1. Maduración de óvulos *in vitro*. En la actualidad, el porcentaje de óvulos que se logran desarrollar *in vitro*, desde su obtención de los ovarios hasta la etapa de maduración previa a la fertilización, es de aproximadamente 45%.<sup>6</sup>

2. Fertilización *in vitro*. Esta técnica incluye un proceso para capacitar a los espermatozoides y posteriormente otro para fertilizar a los óvulos, todo esto completamente *in vitro*. En la actualidad, los porcentajes de fertilización que se obtienen en condiciones de laboratorio llegan a ser de hasta 70 u 80% en ganado bovino.<sup>7</sup>

3. Desarrollo de embriones *in vitro*. Recientemente, el uso de nuevos medios de cultivo ha mejorado el

desarrollo de los embriones bovinos hasta la etapa de blastocisto, lográndose porcentajes de gestación relativamente altos (50%) después de la transferencia,<sup>8</sup>

El resultado final son embriones de 7 días de edad, producidos totalmente en condiciones de laboratorio, sin la ayuda de la madre. El desarrollo de este tipo de sistemas ha hecho que la producción comercial de embriones *in vitro* sea una realidad.<sup>6</sup> La transferencia de embriones (producidos *in vitro*) para la producción de carne ya se lleva a cabo en forma comercial en países como Irlanda, Escocia y Japón, con el objetivo de producir gestaciones gemelares, debido al incentivo económico que tiene la producción de carne en esos países.<sup>9</sup>

La producción de embriones *in vitro* no se utiliza comercialmente en Estados Unidos para producir gemelos, pero sí para producir grandes cantidades de óvulos maduros que se emplean en las técnicas de Transferencia Nuclear (Clonación) y Transferencia de Genes.<sup>6,9,18</sup>

Aunque los resultados obtenidos son comparables con los resultados que se observan en un animal vivo, la principal ventaja de este método es que es mucho más económico.<sup>19</sup> El costo de producción de embriones de tipo comercial por este método es considerablemente bajo. En condiciones adecuadas y sin tomar en cuenta el costo del equipo, se pueden producir embriones *in vitro* a un costo de aproximadamente \$5 cada uno, con un precio de venta que varía entre \$50 y \$70\*.

#### V. Multiplicación de Embriones

La habilidad de producir muchas "copias" a partir de un solo individuo es algo que interesa grandemente a los investigadores y ganaderos, porque constituye una poderosa herramienta de selección y propagación.

Si se logran producir grandes cantidades de individuos genéticamente idénticos, se podrían usar como controles perfectos en investigaciones científicas; se eliminaría así la variación genética en las mismas. Esta técnica también es una forma de selección fenotípica, que puede permitir un rápido cambio en características específicas y muy seleccionadas, como la producción de carne o leche. Esta tecnología, combinada con la producción de embriones *in vitro*, podría utilizarse para producir grandes cantidades de embriones de alta calidad que después serían congelados o transplantados.<sup>20</sup>

A continuación se describen los dos métodos actuales de multiplicación de embriones:

##### A. Bisección o División de Embriones

La Bisección de Embriones (BE) es un procedimiento que da como resultado la producción de gemelos idénticos al dividir el embrión usando técnicas de microcirugía.

La cantidad de crías idénticas que se pueden producir por este método es limitada, pues si el embrión se

\* Moreno, J.F., Comunicación personal, 1992

divide en más de dos partes, disminuye grandemente la supervivencia de las partes resultantes.<sup>v 31</sup>

El método más sencillo y eficiente para producir gemelos idénticos es obtener embriones de 6 a 7 días de edad, cortarlos por la mitad y transplantar las dos mitades inmediatamente. Este procedimiento solamente toma unos 10 minutos por embrión.

Por este método se han obtenido porcentajes de preñez de 50% o más para cada "mitad", lo cual resulta en porcentajes netos de preñez que pueden exceder el 100% de los embriones originales. A partir de la división de 100 embriones se obtienen 200 "medios" embriones, y a partir de éstos, considerando un porcentaje de preñez de 50%, se obtendría una cantidad total de 100 crías. Debido a que sólo 50% de los embriones transplantados sobreviven la transferencia y producen gestaciones, y como éste es un proceso de selección al azar, de 100 crías obtenidas por medio de BE, puede esperarse que la mitad sean gemelos idénticos. Este método puede considerarse como una forma de clonación, porque hace posible la producción de individuos genéticamente idénticos.<sup>12</sup>

Gracias a esta técnica se pueden producir animales idénticos para mejorar la eficiencia de ciertas investigaciones; en forma comercial se usa en algunos casos para aumentar la cantidad de crías genéticamente valiosas.<sup>13</sup>

Otra aplicación de esta técnica es que permite que una de las "mitades" del embrión pueda utilizarse para sexarse y la otra para transplantarse.<sup>14</sup> Su mayor limitación es que los "medios" embriones no soportan bien la congelación, de manera que cuando sea necesario preservarlos, es preferible congelar los embriones íntegros y proceder a la bisección después de descongelarlos.<sup>15</sup>

#### B. Clonación de Embriones o Transferencia Nuclear

Por definición, un clon es un organismo que se ha derivado a partir de un organismo original (y que tiene su misma constitución genética) por medio de varios tipos de reproducción asexual.

La Clonación de Embriones (CE) bovinos ya es una realidad no solamente a nivel de investigación sino también en forma comercial. En forma resumida,<sup>16</sup> se lleva a cabo de la siguiente manera:

1. Utilizando técnicas de micromanipulación y microcirugía, se obtiene un blastómero (célula que se forma durante la división de un óvulo fertilizado) o núcleo de un embrión en etapa multicelular,
2. Por medio de micromanipulación, se transplanta uno de estos blastómeros o núcleos a un óvulo que ha sido enucleado (es decir, un óvulo al que se le ha quitado su núcleo original).
3. Una vez que el óvulo ha recibido su nuevo núcleo, se coloca en una cámara de fusión, en donde recibe una serie de estímulos eléctricos, con lo cual inicia su desarrollo hasta convertirse en embrión.

Un óvulo que ha sido madurado *in vitro* que posteriormente ha sido enucleado, tiene la habilidad de

reprogramar el nuevo núcleo que se le ha transplantado, y lo induce a continuar su desarrollo como si fuera un embrión recién fertilizado, desarrollándose después a una etapa multicelular.<sup>s 24</sup>

Posteriormente, un embrión que se ha desarrollado de esta forma puede usarse de nuevo (reciclado) como donador de núcleos; se produce así un número casi ilimitado de embriones idénticos.<sup>v 17</sup>

Colectivamente, entre Estados Unidos y Canadá se han producido varios cientos de gestaciones con este procedimiento, y también se han realizado reclusiones.<sup>18</sup> La mayor cantidad de becerros clonados a partir de un solo embrión es de 8<sup>6</sup> y se ha producido preñez a partir de embriones de una y de múltiples generaciones, es decir, reciclando los embriones sucesivamente.<sup>19</sup>

Todavía existe gran variabilidad de resultados en esta técnica. Los porcentajes de preñez con embriones obtenidos por Clonación, frescos y congelados, han variado en diversos estudios de 54%,<sup>19</sup> 11 a 33%<sup>20</sup> y 40 a 50%.<sup>35</sup>

En la actualidad, parece ser que sólo hay un laboratorio comercial en el mundo que ofrece CE.<sup>7</sup> Un ganadero puede enviar a este laboratorio un embrión de 5 días de edad para su clonación; después de una semana le será entregado un promedio de 6 a 10 clones, a un precio de \$100 cada uno\*.

Si la Transferencia Nuclear tiene éxito en el futuro, constituirá la primera oportunidad para producir grandes cantidades de animales idénticos para la producción de carne o leche, con la ventaja de que todas las crías obtenidas a partir de un mismo embrión serían uniformes y también del mismo sexo.<sup>21</sup> Sin embargo, aún se requiere de más investigación para aumentar la eficiencia de este procedimiento y para eliminar el problema del gigantismo fetal, que se ha encontrado en algunos becerros producidos por TN.<sup>22</sup>

## VI. Sexado de Embriones

En el pasado se usaron varios métodos para sexar embriones, pero con ninguno se lograron buenos resultados, pues eran ineficientes, poco exactos o sufrían gran porcentaje de mortalidad en los embriones sexados. Para que esta técnica sea útil, debe encontrarse un método que sea eficiente, de gran exactitud, rápido y que no dañe al embrión.<sup>23</sup>

En la actualidad existe un nuevo método con el que se están obteniendo excelentes resultados, se basa en el uso de ingeniería genética (ADN recombinante) para la identificación de fragmentos específicos de ADN (material genético) en los cromosomas del embrión.<sup>24</sup>

El procedimiento de sexado consiste en coleccionar varios blastómeros del embrión (haciendo una biopsia al embrión de 6 a 7 días de edad) y localizando en estas células las secuencias de ADN que son únicas del cromosoma "Y" (el cromosoma masculino). Esto se realiza gracias a la aplicación de dos técnicas ultramodernas.

\* Genmark, Inc. Comunicación personal, 1992

dernas: primero se lleva a cabo una reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés) para amplificar la muestra de ADN obtenida del embrión.<sup>1</sup> después, se utiliza una sonda específica de ADN marcada con isótopos radioactivos (ADN, Probe) para detectar las secuencias de ADN presentes en el cromosoma "Y".<sup>1</sup>

Este nuevo procedimiento tiene una exactitud de 99%;<sup>1</sup> se lleva a cabo en un lapso de 6 a 8 horas y, según el grado inicial de calidad de cada embrión, generalmente sobrevive más del 90% de los embriones que se someten a la biopsia".

En la actualidad existen varios tipos de sondas de ADN disponibles comercialmente para sexar embriones bovinos.<sup>1-v</sup> el precio por sexar cada embrión es de \$50\*\*.

## VII. Sexado de Fetos

Gracias a la técnica de ultrasonido ya es posible detectar el sexo de fetos bovinos cuando aún se encuentran dentro del útero.<sup>2</sup> Esta técnica consiste en la utilización de un moderno instrumento (tiempo-real, arreglo lineal) que emite y recibe ondas de sonido de alta frecuencia a través de una potente sonda o electrodo.

El principio básico de esta técnica, en términos generales, es el siguiente:

a. El instrumento de ultrasonido produce ondas sonoras de alta frecuencia que son emitidas por medio de la sonda.

b. Cuando la sonda se dirige hacia los tejidos internos del individuo, las ondas viajan hacia los mismos, rebotando en las diferentes superficies que encuentran a su paso.

c. Después de rebotar, las ondas regresan a su punto de origen y son captadas nuevamente por la sonda.

d. Por último, la sonda las regresa al instrumento de emisión, donde son convertidas en señales eléctricas que a su vez producen una imagen en una pantalla electrónica.

Como resultado, las imágenes que se observan en la pantalla son prácticamente una representación bidimensional de los órganos o tejidos que son examinados.

El procedimiento de diagnóstico del sexo es relativamente sencillo, pero para obtener buenos resultados se requiere de experiencia. Antes de iniciarlo, cada vaca recibe una dosis de anestesia epidural para disminuir las contracciones rectales durante el examen, el cual toma unos 10 a 15 minutos por vaca. La sonda se introduce por vía rectal en la vaca gestante y manualmente se coloca a manera de producir una imagen longitudinal que permita observar el aspecto lateral del feto. Luego, manipulando la sonda en la dirección adecuada, se acomoda hasta ver en la pantalla la región perineal del feto.

Así, es posible observar (e incluso fotografiar o videofilmar) en dicha pantalla las protuberancias del escroto y del prepucio en los fetos de sexo masculino, o la protuberancia de la vulva en los de sexo femenino.<sup>2</sup> También es posible calcular la edad del feto midiendo su longitud total con ayuda del mismo instrumento.<sup>2</sup>

Esta técnica se utiliza comercialmente, y con suficiente experiencia se puede obtener hasta un 100% de exactitud al diagnosticar el sexo fetal.<sup>2</sup> Una desventaja es que solamente produce resultados óptimos cuando se aplica en fetos con edad mínima de 60 días y máxima de 85 días.<sup>2</sup> Posiblemente su mayor desventaja es el alto costo del equipo de ultrasonido (un equipo completo cuesta aproximadamente \$13,000), lo cual hace que este tipo de diagnóstico sea relativamente costoso. Existen diferentes precios y tipos de cobro por este procedimiento, variando desde \$30 hasta \$60 por vaca, \$90 por hora, o bien un mínimo de \$250 por día de trabajo\*\*\*.

## VIII. Transferencia de Genes

La definición más sencilla de la Transferencia de Genes (TG) es: la alteración de la composición genética de un individuo al añadirle partículas de material genético (ADN) procedentes de otro individuo. Este procedimiento generalmente se lleva a cabo durante el desarrollo del embrión. Un individuo con una composición genética proveniente de dos o más individuos diferentes se conoce como "transgénico".

La principal utilidad de la TG es que proporciona una forma de crear nuevas razas o variedades de animales transgénicos en cuanto a genes útiles no presentes en su especie; también facilita la introducción de genes que existen en una raza o variedad, pero que se encuentran con poca frecuencia.<sup>3</sup>

En la producción de animales domésticos transgénicos no se han obtenido aún los resultados que ya se tienen en animales de laboratorio y en aves. En ganado bovino, con los métodos actuales de micromanipulación y microinyección de material genético, la eficiencia total de este proceso es muy baja (menos de 1%); debido a esto se están estudiando otros métodos para hacer esta técnica más eficiente en el futuro. Los porcentajes de eficiencia de cada fase del proceso, así como la eficiencia total del mismo, se muestran en el Cuadro 4.

\*\*\* Wideman, D. Comunicación personal, 1992

Cuadro 4  
PORCENTAJES DE EFICIENCIA DE LA TRANSFERENCIA DE GENES EN ANIMALES DOMESTICOS\*

Sobreviven la microinyección	75%
Se desarrollan después de la Transferencia de Genes	10%
Incorporan el material genético extraño	30%
Expresan de alguna manera el cambio genético	50%
<u>Transmiten el cambio genético a su descendencia</u>	<u>75%</u>
Eficiencia total	Menos de 1%

\* Adaptado de Kraerner, D.C. Comunicación personal, 1991

\* Westhusin, M.M. Comunicación personal, 1992

\*\* Genmark, Inc. Comunicación personal, 1992

Algunos investigadores piensan que antes de producir una gran cantidad de animales transgénicos, es necesario saber cuáles son los genes que se deben introducir en dichos animales. Primero sería necesario identificar, aislar y conocer completamente los genes que controlan características productivas de importancia, por ejemplo los que controlan el crecimiento, la adaptación al medio, la composición de la carne o de la leche, la resistencia a las enfermedades y la reproducción.

La identificación de genes será una realidad cuando avancen más los estudios actuales para trazar un mapa del genoma de los animales domésticos. En ganado bovino, afortunadamente ya se tienen algunos resultados preliminares y se continúan realizando estudios en esta área en la Universidad de Texas A&M.<sup>34</sup>

La Transferencia de Genes aún está en una etapa experimental; a la fecha, sólo se han producido unos cuantos embriones y becerros transgénicos en Estados Unidos y Canadá.<sup>35</sup> Sin embargo, actualmente se evalúa un sistema para producir grandes cantidades de ganado bovino con estas características.<sup>36</sup>

## Conclusiones

Los expertos aseguran que en el futuro se tendrán que crear razas de ganado bovino a la medida de las características del clima y de la producción de alimentos (granos y forrajes) de cada área geográfica en particular. Probablemente se necesitarán razas nuevas, creadas a partir de cruzamientos seleccionados genéticamente para adaptarse a cada tipo de ambiente. También se anticipa que aumentará la demanda de animales seleccionados exclusivamente con base en su tamaño y producción de carne magra o con poca grasa. Por lo tanto, se necesitan nuevas técnicas que mejoren la eficiencia de producción.

La TE es una parte esencial del desarrollo de las nuevas biotecnologías reproductivas y puede contribuir a lograr altos niveles de respuesta genética. Sin embargo, se necesita más investigación para mejorar la eficiencia de dichas técnicas. Si se mejora la eficiencia, se pueden reducir los costos, haciendo que estos procedimientos sean competitivos y rentables, lo que permitiría cambios más rápidos y dramáticos en la ganadería.

Aplicando estos conceptos al caso de México, en esta época de grandes cambios y adelantos científicos tal vez sea posible realizar un cambio más, un esfuerzo conjunto que permita usar estas biotecnologías en beneficio de la ganadería. Es factible que los ganaderos, investigadores e instituciones se unan para dar al país la superioridad genética que la ganadería nacional merece y necesita.

## Abstract

During the last decade the reproduction of cattle has shown a rapid evolution. The development of new techniques has contributed to increase the capacity for

reproductive and genetic improvement in cattle. The present review deals with the most modern techniques regarding the manipulation of the reproductive process. It also discusses summarized information such as advantages and disadvantages, practical applications, efficiency, costs and commercial availability of every technique.

## Literatura citada

1. Bondioli, K.R., Ellis, S.B., Pryor, J.H., Williams, M.W. and Harpold, M.M.: The use of male-specific chromosomal DNA fragments to determine the sex of bovine preimplantation embryos. *Theriogenology*, 31: 95-104 (1989).
2. Bondioli, K.R., Westhusin, M.M. and Looney, C.R.: Production of identical bovine offspring by nuclear transfer. *Theriogenology*, 33: 165-175 (1990).
3. Carnahan, D.L.: Cost accounting applied: The embryo transfer products. *Embryo Transfer*, 1: 4 (1986).
4. Drost, M.: Embryo transfer. In: *Veterinary Obstetrics and Genital Diseases*. 3rd ed. Edited by: Roberts, S.J., 927-954. Roberts, S.J., Ann Arbor, Michigan, 1986.
5. Ellis, S.B., Bondioli, K.R., Williams, M.E., Pryor, J.H. and Harpold, M.M.: Sex determination of bovine embryos using male-specific DNA probes. *Theriogenology*, 29: 242 (1988).
6. First, N.L.: New animal breeding techniques and their application. *Reprod. Fert.*, 41 (Suppl.): 3-14 (1990).
7. Genmark Inc.: Genmark profile. *Genmark*, 1: 2 (1992).
8. Gibson, J.P. and Smith, C.: The incorporation of biotechnology into animal breeding strategies. In: *Animal Biotechnology*. Edited by: Babiuk, L.A., Phillips, J.P., Moo-Young, M., 203-231. Pergamon, Elmsford, New York, 1989.
9. Gordon, I. and Lu, K.H.: Production of embryos *in vitro* and its impact on livestock production. *Theriogenology*, 33: 77-87 (1990).
10. Hasler, J.F., McCauley, A.D., Lathrop, W.F. and Foote, R.H.: Effect of donor-embryo-recipient interactions on pregnancy rate in a large scale bovine embryo transfer program. *Theriogenology*, 27: 139-168 (1987).
11. Henschen, T.: Surgical embryo transfer. *Embryo Transfer*, 1: 5-6 (1986).
12. Herr, C., Holl, N.A., Matthaell, K.I. and Reed, K.C.: Sex of progeny that developed from bovine embryos sexed with a rapid Y chromosome detection assay. *Theriogenology*, 33: 247 (1990).
13. Johnson, W.H., Etherington, W.G., Rose, E.P., Wilton, J.W. and Savage, N.C.: The production of twins in beef cattle utilizing embryo transfer technology. *Theriogenology*, 31: 206 (1989).
14. Kraemer, D.C.: Current status, advantages and potential applications of embryo transfer in relation to animals and/or species preservation in North America. *International Animal Movement Symposium*. Montreal, Canada. 1987. 63-73. *International Embryo Transfer Society*. Fort Collins, Colorado (1987).
15. Lehn-jensen, H. and Willadsen, S.M.: Deep-freezing of cow 'half' and 'quarter' embryos. *Theriogenology*, 19: 49 (1983).
16. Leonard, M., Kirszenbaum, M., Cotinot, C., Chesne, P., Heyman, Y., Stinnakre, M.G., Bishop, C., Delouis, C., Vaiman, M. and Fellous, M.: Sexing bovine embryos using chromosome specific DNA probes. *Theriogenology*, 27: 248 (1987).
17. Mapletoft, R.J.: The technology of embryo transfer. *International Animal Movement Symposium*. Montreal, Canada. 1987. 2-39. *International Embryo Transfer Society*. Fort Collins, Colorado (1987).
18. Marek, D.E., Prior, J.H., Whitesell, T.H. and Looney, C.R.: Nuclear transplantation in the bovine: Effect of donor embryo age on subsequent embryo production. *Theriogenology*, 33: 283 (1990).
19. Massey, J.M.: Animal production in the year 2000 AD. *Reprod. Fert.*, 41 (Suppl.): 99-208 (1990).

20. Massip, A., Zwalm van der, P. and Ectors, F.: Recent progress in cryopreservation of cattle embryos. *Theriogenology*, 27: 69-79 (1987).
21. McGuirk, B.: The relevance of MOET programmes to developing countries. *Theriogenology*, 31: 29-39 (1989).
22. Munar, C.J. and Hasler, J.F.: Results of the first frozen bovine embryos exported from the USA to Argentina. *Theriogenology*, 31: 230 (1989).
23. Niemann, H.: Cryopreservation of bovine embryos in the field. *Embryo Transfer Newsletter*, 8: 5-9 (1990).
24. Robl, J.M. and Stice, S.L.: Prospects for the commercial doning of animals by nuclear transplantation. *Theriogenology*, 31: 75-84 (1989).
25. Rowe, R.F.: Nonsurgical embryo transfer. *Embryo Transfer*, 1: 5-6 (1986).
26. Seidel, G.E. jr., King, K.K. and Elsdon, R.P.: Normality of embryo transfer calves. Symposium of the Application of Egg and Embryo Technologies to Domestic Animals. Copenhagen, Denmark. 1987. 10-11. T. Greve. Copenhagen, Denmark (1987).
27. Seidel, G.E. jr. and Seidel, S.M.: Analysis of applications of embryo transfer in developing countries. *Theriogenology*, 31: 3-16 (1989).
28. Smith, C.: Applications of embryo transfer in animal breeding. *Theriogenology*, 29: 203-212. (1988).
29. Suzuki, T., Yamamoto, M., Ooe, M., Sakata, A., Matsuoka, M., Nishikata, Y. and Okamoto, K.: Effect of sucrose concentration used for one-step dilution upon *in vitro* and *in vivo* survival of bovine embryos refrigerated in glycerol and 1, 2-propanediol. *Theriogenology*, 34: 1051-1057 (1990).
30. Voelkel, S.A. and Hu, Y.X.: Direct transfer of frozen-thawed bovine embryos. *Theriogenology*, 37: 23-35 (1992).
31. Voelkel, S.A., Rorie, R.W., McFarland, C.W. and Godke, R.A.: An attempt to produce quarter embryos from non-surgically recovered bovine blastocysts. *Theriogenology*, 25: 207 (1986).
32. Wideman, D., Dorn, C.G. and Kraemer, D.C.: Sex detection of the bovine fetus using linear array real-time ultrasonography. *Theriogenology*, 31: 272 (1989).
33. Wolfe, B.A. and Kraemer, D.C.: Methods in bovine nuclear transfer. *Theriogenology*, 37: 5-15 (1992).
34. Womack, J.E.: Gene mapping in the cow. In: Advances in Veterinary Science and Comparative Medicine. Vol. 34. Edited by: McFeely, R.A., 251-271. Academic Press, New York, 1990.
35. Woolliams, J.A. and Wilmut, I.: Embryo manipulation in cattle breeding and production. *Anim. Prod.*, 48: 3-30 (1989).