

Implicaciones de la biotecnología reproductiva en la producción animal

Implications of reproductive biotechnology in the animal production

Rodrigo Urrego Álvarez, Zoot, MSc; Giovanni Restrepo, MV, Zoo, cMSc^{1,2}

Resumen

Frente a un exponencial aumento de la población mundial y a unas marcadas deficiencias nutricionales en muchas partes del mundo, la biotecnología constituye una herramienta que podría desarrollar o mejorar aquellos procesos relacionadas con la producción agropecuaria y así generar una suficiente cantidad de alimento para suplir las necesidades de una población en constante crecimiento. Por lo tanto, el objetivo de ésta revisión es darle una mirada a la evolución de las principales biotecnologías aplicadas a la reproducción animal y su implicación en la producción pecuaria. La inseminación artificial (IA) es una de las tecnologías de reproducción asistida de mayor importancia y a nivel pecuario es la que más impacto ha tenido, su éxito se basa en que es simple, económica y eficaz. La industria de la Transferencia de Embriones (TE) bovina fue establecida en Estados Unidos (EU) en los inicios de los años 70, aproximadamente 80 años después de la primera transferencia de embriones exitosa reportada en mamíferos. Aunque un número nuevo de tecnologías han sido adoptadas dentro de la industria de la TE en estas últimas décadas, el procedimiento básico de superovulación de donadoras en vacas ha padecido unas muy pequeñas mejoras en estos últimos 20 años. La Producción in vitro de embriones (PIVE) comprende tres pasos que son: 1) la maduración in vitro de los oocitos (MIV) obtenidos de ovarios por medio de aspiración o punción folicular, 2) la fertilización in-vitro (FIV) de los oocitos madurados y 3) el cultivo in-vitro de los embriones. La PIVE es una técnica bastante atractiva ya que ha posibilitado la disminución de los costos en la producción de embriones para transferir, el diagnóstico embrionario, la clonación de células embrionarias y somáticas, la producción de vacas transgénicas e igualmente, ha posibilitado profundizar mucho más sobre los mecanismos de fertilización y embriogénesis. Y por último, las aplicaciones biotecnológicas de animales modificados genéticamente y producidos por clonación abren una gama de posibilidades que incluye: la producción de fármacos, la producción de órganos y tejidos aprovechables para humanos (xenotransplantes), erradicación de enfermedades, el estudio de enfermedades humanas y un aumento en la producción animal.

Abstract

As opposed to an exponential increase of the world-wide population and to noticeable nutritional deficiencies in many parts of the world, biotechnology is a technological tool adapted to generate a sufficient amount of food to fill the necessities of a population in constant growth. Therefore, the objective of this review is to give him to a glance to the evolution of the main biotechnologies applied to the animal reproduction and its implication in cattle production. Artificial insemination is one of the assisted reproductive technologies of

^{1,2} Grupo de Biotecnología Animal. Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín.
E-mail: raurrego@unalmed.edu.co

greater importance and at animal production level it is the one that more impact has had, its success is based on that is simple, economic and successful. A commercially viable cattle transfer embryo (TE) industry was established in the United States during the early 70, approximately 80 years after the first successful embryo transfer was reported in a mammal. Although a number of new technologies have been adopted within the ET industry in the last decade, the basic procedure of superovulation of donor cattle has undergone little improvement over the last 20 years. The in vitro production of embryos (IVP) includes three steps that are: 1) the in vitro maturation of the oocytes (IVM) obtained of ovaries by means of aspiration or follicular puncture, 2) the in vitro fertilization (IVF) of matured oocytes and 3) the in vitro culture of the embryos (IVC). The IVP is a quite attractive technique since it makes possible the reduction of the costs in the production of embryos to transfer, The embryo diagnostic, the clonation of embryonic cells and somatic, the production of transgenics cows and also, has made possible to on the mechanisms of fertilization and embryogenesis. At last, the biotechnological applications of animals genetically modified and produced by cloning opens a range of possibilities that includes: drug production, production of organs and xenotransplantation, elimination of diseases, the study of human diseases and an increase in animal production.

Palabras claves

Inseminación artificial, transferencia de embriones, producción in vitro de embriones, clonación, animales transgénicos.

Key words

Artificial insemination, embryo transfer, in vitro embryo production, cloning, transgenic animal.

Introducción

Indiscutiblemente, vivimos en los tiempos en que la ciencia y la tecnología avanzan de una forma abrupta. En 1950, el mundo tenía alrededor de 2.500 millones de habitantes, para 1990 se tenían aproximadamente 5.300 millones y para el año 2000 ya éramos más de 6.000 millones de habitantes ⁽⁶²⁾. Igualmente, el promedio de vida de la población mundial ha aumentado; para el medioevo, el promedio de vida estaba en 30 años, para el siglo XVIII en 40 años, para los años 50 del siglo pasado este aumentó a 60 años en los hombres y 64 años en las mujeres, y en la actualidad, en términos generales, se calcula que el promedio de vida para los hombres es de 80 años y para las mujeres de 83 años ⁽⁵²⁾. Tales aumentos obedecen básicamente a los adelantos que se han hecho en ciencia y

tecnología, los cuales han permitido un substancial incremento en nuestra calidad de vida al disponer de antibióticos, mejor atención en el parto, cirugías para enmendar órganos dañados, mejores condiciones sanitarias y un mejor entendimiento de las enfermedades ⁽⁶²⁾.

Frente a este exponencial aumento de la población mundial y a unas marcadas deficiencias nutricionales en muchas partes del mundo, se han realizado esfuerzos para mejorar la eficiencia de la producción animal y potenciar la calidad y cantidad de sus productos –carne, leche y sus derivados, principalmente ⁽⁴⁰⁾. Para tal caso, la biotecnología se ha constituido como una herramienta tecnológica

adecuada para generar una suficiente cantidad de alimento para suplir las necesidades de una población en constante crecimiento. Los procedimientos biotecnológicos desarrollados son utilizados para aumentar la eficiencia en la producción animal, para la preservación de recursos genéticos, para el mejoramiento de la calidad de los productos y como estrategia para el desarrollo de nuevos productos de origen animal; de esta forma, en el campo de la reproducción animal, la biotecnología ha permitido mejorar los índices productivos de las empresas pecuarias⁽⁶⁰⁾. Por ende, en esta revisión se dará una mirada a la evolución de la biotecnología aplicada a la reproducción animal estableciendo una importante escala de aplicaciones respecto a la productividad bovina.

Inseminación artificial.

El mejoramiento genético observado en el ganado, particularmente en el sector lechero se ha dado básicamente sobre dos procesos; uno, el uso de toros de alto mérito genético y dos, una crianza selectiva de terneros de alto mérito genético utilizados como reemplazos. Para este fin, la inseminación artificial (IA) ha sido utilizada como el principal vehículo para dispersar rápidamente genes de valor dentro de la población y ha sido el método escogido por los granjeros lecheros alrededor del mundo para mejorar la calidad genética de sus hatos. Este constante nivel de progreso genético en el ganado lechero, ha estado determinado tanto por la selección como por el avance en la tecnología del semen y a la rápida aceptación de la IA para establecer genes de interés productivo en las poblaciones lecheras^{17, 24}. En los países con una alta producción de leche, está bien generalizada la idea de que la IA es una simple, exitosa y económica metodología para establecer genes de interés en las poblaciones en comparación con otras formas como la monta natural y las biotecnologías con embriones⁽⁶⁵⁾.

La historia reciente de la IA ha mostrado que su uso ha sido de un enorme beneficio económico sobre el mejoramiento en la producción de leche, la reducción de genes letales y el control de patologías de transmisión venérea^(16, 67). Las bases de la selección con profundas implicaciones sobre la producción lechera fueron establecidas en la década de los 50⁽⁴⁸⁾, momento en que el presentó un significativo desarrollo en las biotecnologías para almacenar semen. El mejoramiento en los procesos de criopreservación de semen hizo que la IA fuese más accesible a los productores, lo que permitió que en los años 60 la industria lechera mejorara su valor de cría por el reemplazo del stock genético a través del uso de esta biotecnología⁽⁷⁾. Las principales ventajas que posee la IA para tener una gran aceptación dentro de los productores son: el bajo costo del semen, el bajo costo de la aplicación de este y el éxito que garantiza el proceso⁽⁶⁵⁾.

Sin embargo, los avances en algunos parámetros productivos facilitados por la accesibilidad a tecnologías como la IA, es posible que puedan conducir al retroceso en otros parámetros con un componente fenotípico altamente influenciado por el ambiente productivo. Por ejemplo, en la figura 1 se evidencia como el mejoramiento en la calidad de la leche en la industria lechera de Nueva Zelanda ha sido muy exitoso. Aunque, es evidente la correlación negativa que existe entre los parámetros productivos y reproductivos^(13, 32) y se ha podido establecer que una selección continuada para mejorar parámetros productivos causa una disminución en la fertilidad^(13, 35, 45). Aún existe la controversia entre si la causa fundamental de la reducción de la fertilidad es verdaderamente genética o es una consecuencia de las típicas prácticas de manejo para el ganado de alta producción⁽¹⁹⁾. Se ha mostrado que la fertilidad de las novillas no disminuye sobre el tiempo y los datos implican que alguna forma de interacción del genotipo con el ambiente (manejo) es la causal de la disminución de la fertilidad en las vacas lecheras adultas⁽⁴⁹⁾.

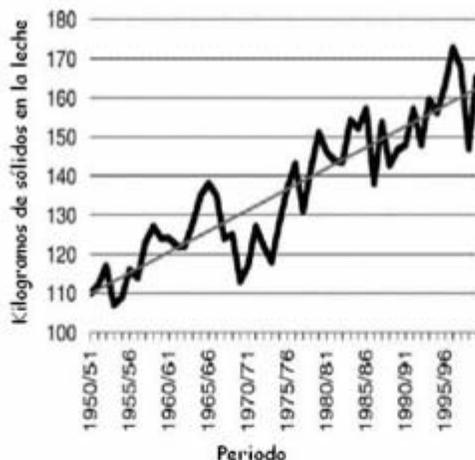


Figura 1. Cambios en la producción de sólidos de la leche en las últimas cinco décadas en Nueva Zelanda. Las figuras son representativas al periodo de una progenie (adaptado de Anon 2001).

Ahora bien, para cuantificar el relativo beneficio de la IA como mecanismo de dispersar genes se han considerado generalmente los siguientes criterios: las tasas de preñez para la IA versus la monta natural, los costos de mantenimiento de los toros versus un programa de IA, los riesgos asociados con la monta natural y el valor de la ganancia genética. Respecto al primer ítem, las tasas de preñez, se ha encontrado que una combinación de mejores tiempos para la IA y un potencial efecto estimulador de la presencia de un toro para la detección de calores contribuyen a una alta tasa de concepción^(50, 56).

Para el costo de mantenimiento de los toros, tenemos que la IA involucra unos costos adicionales asociados con la detección de estros, mantenimiento del semen y la inseminación propiamente; pero a pesar de esto, los programas de IA tiene un menor costo que la monta natural como se refleja en la tabla 1.

Tabla 1. Costo relativo de la monta natural vs IA

	Monta natural	IA
Ayudas para la detección de calores ^a		\$1778
Inseminación artificial ^b		\$8224
Mantenimiento ^c	\$10000	\$3750
Pastoreo	\$7195	\$1512
Total	\$17195	\$15284

Datos de Anon (1)

^a El costo de un detector de calor marca Kamar[®] es de NZ\$1.58

^b El costo de la IA es de NZ\$ 11.30 incluyendo el semen y la técnica de inseminación.

^c El costo de mantenimiento de un toro es de NZ\$250 para un periodo de 3- 6 semanas.

Con respecto a la monta natural, los principales riesgos son: infertilidad en el toro dominante, cojeras en los toros y daños en las vacas, así como el daño de cercas y otras propiedades, el potencial peligro para los trabajadores de la finca y la introducción de venéreas como la Campilobacteriosis, tricomoniasis y enfermedades no venéreas como la leptospirosis, BVD, IBR y TB⁽⁶⁵⁾. Con relación al último criterio, el valor de la ganancia genética, tenemos el ejemplo del Reino Unido donde en la última década se ha visto un aumento en la producción de leche de aproximadamente 3.7%, mientras que en Canadá, la producción de leche ha aumentado en 3.4%. Los datos obtenidos en estos países sugieren que el 50% del aumento en la producción es atribuible al mejoramiento genético sólo a través del uso de la IA y el resto es atribuido al mejoramiento de factores ambientales como la salud, el sitio de pastoreo, la nutrición y procesos administrativos^(57, 58).

Pero la pregunta a responder ahora es ¿cuál es el futuro de la IA?. Tenemos que la identificación de genes implicados en la producción ha permitido que compañías de crianza artificial utilicen estos beneficios como blancos de selección para sus toros a través de marcadores específicos. Por lo tanto, lo que le espera a la IA es su combinación con nuevas tecnologías para dispersar genes de una forma mucho más eficiente⁽⁶⁵⁾. Por ejemplo, en estos últimos años se ha comenzado a trabajar en la IA con espermatozoides sexados y aunque se haya podido desarrollar métodos seguros para el sexaje de estos, su mayor desventaja es que el proceso es altamente costoso. Las aplicaciones comerciales de este procedimiento como una aplicación rutinaria en los programas de IA aún no son viables^(55, 64). Otro campo en el que se desarrollará la IA, es en la criopreservación del semen, ya que el descongelamiento de las células implica cambios en el volumen, peroxidación lipídica de las membranas y daños en la permeabilidad selectiva de la membrana, lo cual afecta la viabilidad de los espermatozoides en un 50%. Por esta razón, se ha sugerido desarrollar estrategias alternativas como la vitrificación para el almacenamiento en término largo de los espermatozoides bovinos^(34, 36).

El futuro de la IA continúa siendo promisorio y enseña a las nuevas tecnologías que debe prevalecer

un bajo costo para la diseminación de las características deseadas. En todos los casos, lo principal continúa siendo una aplicación simple, la alta probabilidad de éxito y el nivel económico de la tecnología adoptada⁽⁶⁵⁾.

Transferencia de embriones

Si con la IA se busca explotar en gran medida el potencial genético de un macho, con la transferencia de embriones (TE) se puede multiplicar al máximo la capacidad genética de la hembra⁽⁴¹⁾. La moderna industria de la TE ha sido el resultado de pioneros esfuerzos de dos grupos de trabajo: los científicos, que inicialmente desarrollaron los procedimientos y técnicas de la TE y después, los usuarios comerciales quienes modificaron la técnica, haciéndola práctica y aprovechable para la industria ganadera⁽³⁰⁾.

Se sabe bien que la primera IA la hizo el fisiólogo italiano Lazzaro Spallanzani en 1780, pero se conoce poco acerca de la primera TE exitosa. En 1890 el inglés Walter Heape transfirió exitosamente dos embriones de cuatro células de conejos Angora⁽³¹⁾. Durante el siglo XX, en la década de los años 20, hubo un gran entendimiento de la relación entre la pituitaria y los ovarios, permitiendo un significativo avance en las tecnologías reproductivas. El desarrollo de técnicas para la superovulación y sincronización de estros, también ayudó en los años 30 y 40 al desarrollo de la TE. En 1951, se reportó la primera TE exitosa en vacas, resultado de una transferencia quirúrgica de un embrión de cinco días⁽⁷⁰⁾. Desafortunadamente, muchos de los miembros del equipo responsable de esta primera transferencia exitosa en bovinos pasaron luego a trabajar en la IA, la cual se desarrollaba por esos días⁽⁴⁾. El uso comercial de la TE en vacas comenzó en Norteamérica al inicio de los años 70⁽³⁰⁾. Inicialmente, todos los embriones fueron recuperados y transferidos por métodos quirúrgicos^(21, 51).

Si comparamos el desarrollo de la IA con el desarrollo de la TE, observaremos que la TE está básicamente en un nivel estático en muchas partes del mundo, y es probable que la causa sea su relativo alto costo y su baja eficiencia⁽²⁸⁾. Datos compilados por un programa de TE de la empresa EM

Tran Inc, comparan la producción de embriones de donadoras superovuladas para los años de 1979 y 1999 (tabla 2). Claramente se observa que no hay un cambio en la producción de embriones por donadora entre los dos periodos evaluados ⁽²⁹⁾, lo que nos lleva a concluir que en los últimos 25 años no se ha realizado un mejoramiento significativo en la técnica de superovulación de vacas, lo que implica que la respuesta a dichos tratamientos sea muy variable, de forma que no se puede obtener mejoramiento en las tasas de obtención de embriones ⁽³⁰⁾.

Tabla 2. Número de embriones transferidos recuperados de vacas donadoras superovuladas en la empresa Em Tran, Inc, en dos periodos con un espacio de tiempo de 20 años.

Año	# Donadoras	Ganado de carne (%)	Ganado de leche (%)	# embriones	# Promedio de embriones/donadora
1979	248	2.4	97.6	1143	4.6
1999	1485	69.1	30.9	7135	4.8

(Fuente: Hasler, 2003)

El aumento de la tasa reproductiva de la hembra bovina tiene suma relevancia por las siguientes aplicaciones: aumento del progreso genético en la producción de leche y carne a través del aumento de la intensidad de selección de las madres de toros, aumento de la eficiencia de los programas de núcleos de producción, rápida multiplicación de razas o mutaciones exóticas de valor productivo, aumento de la tasa de mellizos, rápidas y mejores posibilidades para llevar a cabo programas de cruzamiento con razas lecheras y de carne, posibilidad de llevar a cabo la prueba de la descendencia de vacas y la prueba de hermanas enteras en las familias de las vacas, acortamiento del intervalo generacional, determinación y control del sexo, estimación del efecto materno, facilidad de la importación y exportación del material genético y desarrollo de las condiciones adecuadas para otras técnicas reproductivas en marco de la micromanipulación de embriones ⁽¹¹⁾.

Ahora bien, un pequeño número de compañías comerciales de TE vienen ofreciendo como parte de sus servicios la producción *in vitro* de embriones bovinos (PIVE). Los oocitos inmaduros pueden ser obtenidos por ultrasonografía guiada por ecógrafo u ovum pick up (OPU), o por simple aspiración de ovarios de vacas de matadero. Varios programas, algunos de los más notables en Italia ⁽³⁷⁾, Japón ⁽²⁹⁾ y Australia ⁽⁶⁶⁾, se han especializado en la producción *in vitro* de embriones de vacas después de su sacrificio.

La pregunta ahora es ¿cómo mejorar la TE convencional? El nivel de éxito de la superovulación representa un significativo obstáculo para un crecimiento futuro de la TE. En promedio, los embriones producidos por vaca ovulada no superan los seis y aproximadamente el 20% de las vacas donadoras superovuladas no responden al tratamiento. Sumado a esto, la superovulación es un procedimiento costoso e ineficiente. El alto costo de las prostaglandinas e

implantes de progesterona y la mano de obra involucrada en las múltiples inyecciones, la detección de estros y la inseminación son factores significativos que aumentan los costos³⁰. Por ende, en la medida en que se mejoren los protocolos de superovulación mejorarán las tasas de preñez en la TE.

A partir de la década de los 80, el perfeccionamiento y la difusión de las técnicas de IA y TE en los programas de mejoramiento animal, como una demanda en los sistemas de producción más eficientes, condujeron al desarrollo de técnicas de selección del sexo, mediante el sexado de espermatozoides y embriones preimplantatorios de las especies de interés zootécnico⁽¹⁴⁾. La selección del sexo tiene un valor económico significativo en la producción de leche y de carne, en los cuales la productividad de los sistemas son favorecidos por la progenie de uno de los dos sexos⁽¹⁴⁾. En Nueva Zelanda, Australia, Holanda, Canadá, Francia, El Reino Unido, Japón y los EU se viene aplicando ya esta nueva tecnología reproductiva, la cual combinada con la producción *in vitro* de embriones en la ruta hembra-macho en el caso de Nueva Zelanda, genera un incremento del 16% en la ganancia genética anual y en términos económicos; esto significa para la industria lechera de este país, más de ochocientos mil dólares de ingreso neto adicional por año⁽⁶⁶⁾.

Producción *in vitro* de embriones

Básicamente, la producción *in vitro* de embriones (PIVE) comprende tres pasos que son: 1) la maduración *in vitro* de los oocitos (MIV) obtenidos de ovarios por medio de aspiración o punción folicular, 2) la fertilización *in vitro* (FIV) de los oocitos madurados y 3) el cultivo *in vitro* de los embriones. La transformación de la técnica de producción de embriones en el laboratorio, fundamentalmente aplicada solo en los laboratorios de investigación básica, a una tecnología de aplicación industrial, constituye el hito tecnológico más importante y de mayor impacto potencial en la ganadería, desde la aparición de la inseminación

artificial⁽⁶⁶⁾. La PIVE es una técnica bastante atractiva ya que ha posibilitado la disminución de los costos en la producción de embriones para transferir, el diagnóstico embrionario, la clonación de células embrionarias y somáticas, la producción de vacas transgénicas e igualmente, ha posibilitado profundizar mucho más sobre los mecanismos de fertilización y embriogénesis⁽³³⁾.

Entre los hallazgos más relevantes para el desarrollo de la MIV y la FIV podríamos mencionar el aporte al estudio de la maduración *in vitro* de oocitos realizado por Pincus y Enzmann en 1935; ellos comprobaron que al sacar los oocitos inmaduros del líquido folicular, el cual ejerce un efecto inhibitorio sobre la maduración y al ponerlos en medio de cultivo, se observaba la reanudación de la meiosis⁽⁴⁴⁾. En el caso de la FIV se incluye el descubrimiento en conejos de la necesidad de capacitar los espermatozoides^(3, 15), la prueba definitiva de la fertilización *in vitro* en conejos⁽¹⁶⁾, el nacimiento del primer humano fertilizado *in vitro* en 1978 como resultado del trabajo de Edwards, Steptoe y colaboradores⁽⁶¹⁾, el primer nacimiento por fertilización *in vitro* de un ternero⁽¹⁰⁾, el descubrimiento de que 39°C es la temperatura óptima para la MIV, FIV y el cultivo de los embriones bovinos⁽³⁸⁾ y el desarrollo de métodos para la capacitación de semen bovino, así como el uso de la heparina⁽⁴²⁾. En el desarrollo del cultivo *in vitro* de embriones podemos mencionar el primer cultivo de un embrión mamífero por Brachet en 1912⁽⁹⁾, el cual usando plasma sanguíneo cultivó embriones por 7 días hasta el estado de blastocisto; lo cual fue seguido de un crucial y definitivo descubrimiento hecho por Whitten en 1957⁽⁶⁹⁾, quien adicionó lactato como fuente de energía al cultivo de embriones que poseía bicarbonato de sodio y albúmina, mejorando ostensiblemente las tasas de blastocistos de ratón obtenidas hasta el momento. Posteriormente, se descubrió el efecto de la temperatura óptima para el cultivo, además del hallazgo que muestra que los embriones tienden a desarrollarse mejor en una fase de gas con una concentración de oxígeno inferior al 20%^(25, 63).

Después de realizar un proceso de MIV de oocitos bovinos, aproximadamente el 90% de los oocitos inmaduros llegan a metafase y expulsan el primer

cuerpo polar, aproximadamente el 70-80% quedan fertilizados y se dividen hasta el estado de dos células. Sin embargo, sólo alrededor del 30-40% de los embriones llegan al estado de blastocisto^(26, 39). Esto sugiere que dentro de la PIVE, el cultivo post-fertilización, el cual es el período más largo, es determinante en la producción de blastocistos. Aunque los experimentos sugieren que los eventos que ocurren antes de la ovulación determinan si el oocito llega o no hasta el estado de blastocisto, el ambiente en el cual el embrión se desarrolla entre el estado de cigoto y blastocisto determina la calidad del embrión⁽²²⁾. Los datos indican que las condiciones de cultivo post-fertilización en el período de desarrollo *in vitro*, tienen un gran efecto sobre la calidad de los blastocistos, alterando la expresión del ARNm. El patrón aberrante detectado en los embriones producidos *in Vitro*, comparado con los embriones producidos *in vivo*, pueden explicar su reducida calidad en términos de viabilidad post-vitrificación⁽⁴⁷⁾.

Las condiciones de cultivo durante los diferentes pasos en la PIVE, pueden afectar las tasas de desarrollo, pero el relativo bajo nivel de eficiencia manifestado en el 60-90% de oocitos inmaduros que no logran llegar hasta el estado de blastocisto se debe, básicamente, a la calidad intrínseca del oocito⁽³⁹⁾. Debido a la importancia que tiene la maduración del oocito en la PIVE⁽⁵⁹⁾, se ha hecho una clasificación artificial haciendo distinciones funcionales en tres aspectos de la maduración de los oocitos: uno, la maduración nuclear, la cual refleja la modificación del estado de cromatina, la cual pasa de la fase de diplotene de la profase I (vesícula germinal) al estado de metafase II; dos, la maduración citoplasmática, que comprende todos los cambios en la distribución y organización de organelas individuales de vesícula germinal al estado de metafase II; tres, la maduración molecular, la cual hace referencia a un legado de instrucciones acumuladas durante el estado de vesícula germinal y que controla tanto la progresión

nuclear, como la citoplasmática. Este tercer aspecto, involucra la acumulación de ARNm específicos, lo que hace que la transcripción sea requerida para la acumulación de este material. Después de iniciada la maduración, la transcripción se detiene por unas horas, lo que permite postular que los oocitos obtenidos de folículos diferenciados o competentes contienen una suficiente cantidad de ARNm acumulado. Algunos ARNm maternos específicos, pueden ser requeridos para la progresión del embrión durante la transición cigótica materno⁽³⁹⁾.

De esta forma, el cuello de botella dentro de la PIVE son los bajos porcentajes de blastocistos producidos debido básicamente a problemas en la maduración de los oocitos. Actualmente, se asume que la maduración folicular y la maduración del oocito son dos fenómenos que parecen estar desacoplados⁽⁶⁾. Alterando el desarrollo folicular con tratamientos hormonales se produce una gran cohorte de folículos saludables, pero la maduración del oocito puede estar afectada, dando como resultado una población de Complejos Cumulos Ovocitos (CCOs) que aparentemente son saludables, pero son incompetentes para el desarrollo embrionario^(5, 20, 27). La población de folículos es claramente forzada en la fase de crecimiento folicular por la administración de la hormona foliculo estimulante (FSH), de manera que el folículo no provee un ambiente ideal, en el cual se adquiera un desarrollo competente⁽⁶⁾. Los resultados mostrados por Blondin y compañía en el 2002 son bastante revolucionarios ya que nunca antes se había presentado unas tasas tan altas en la PIVE a partir oocitos obtenidos por punción folicular; estos autores demuestran que un protocolo estándar de superestimulación con FSH, seguido por un período de 48 horas sin suministrar FSH, más la administración final de hormona luteinizante (LH), es suficiente para crear unas condiciones óptimas *in vivo* para que los oocitos adquieran la competencia y se logren unas altas tasas de blastocistos (ver figura 2).

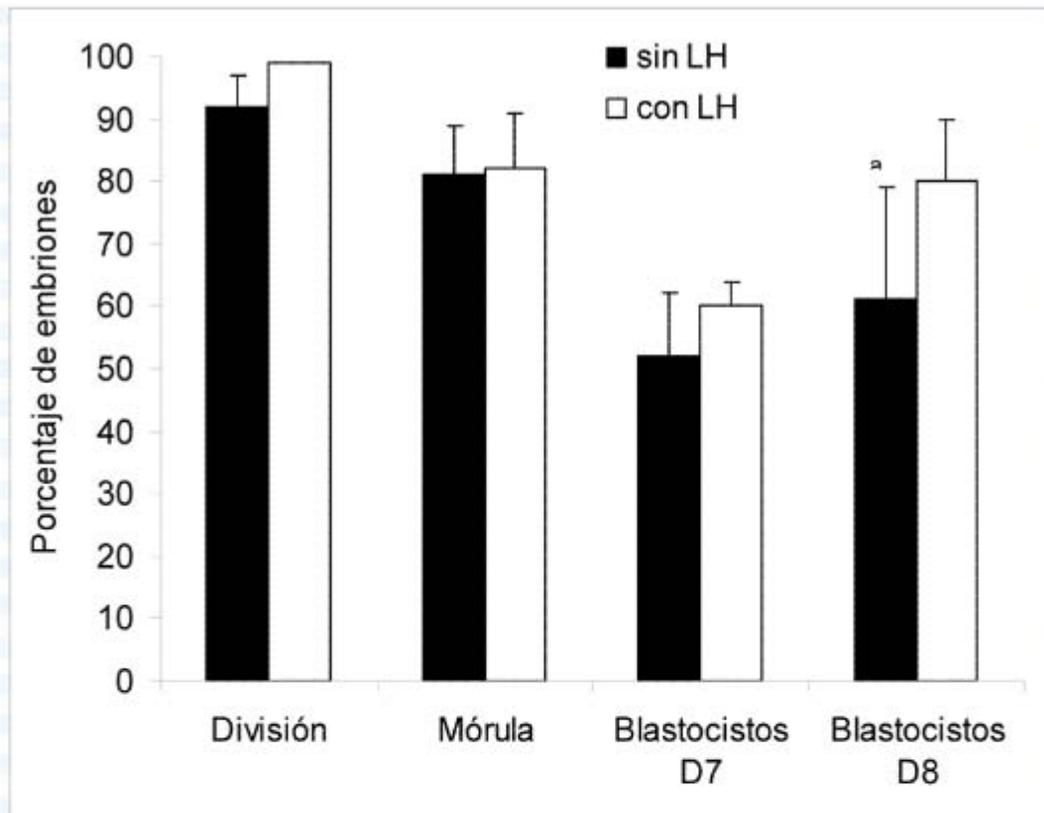


Figura 2. Tasas de división, de mórulas y de blastocistos (día 7 y 8) formados después de fertilizar oocitos procedentes de folículos de 5 mm de diámetro. Los animales fueron superestimulados con seis inyecciones de FSH con un periodo de 48h sin suministrar FSH con o sin inyección de LH 6h antes de la aspiración folicular. No hay diferencia estadística significativa ($p < 0.08$). (Fuente Blondin et al 2002)

Clonación y animales transgénicos

Las aplicaciones biotecnológicas de animales modificados genéticamente y producidos por clonación abre una gama de posibilidades que incluye: la producción de fármacos, la producción

de órganos y tejidos aprovechables para humanos (xenotransplantes), erradicación de enfermedades, el estudio de enfermedades humanas y un aumento en la producción animal⁽⁴³⁾.

La producción de proteínas para el tratamiento de enfermedades es difícil y altamente compleja. Sin embargo, esto es ahora posible por la inserción de un gen humano, expresando una proteína médicamente importante dentro del genoma del animal. La producción del primer animal transgénico por transferencia nuclear fue reportada en 1997⁽⁵⁴⁾. La expresión del gen humano que codifica para el factor IX de coagulación fue introducido a fibroblastos fetales de ovino⁽⁵⁴⁾, el gen tuvo un alto nivel de expresión en la glándula mamaria ya que fue ubicado en los genes promotores de la leche, de manera que la proteína es expresada en la leche. La técnica no sólo está limitada a ovejas, también se ha logrado en vacas^(2, 18) y cerdos⁽⁸⁾.

El número de pacientes que requieren el trasplante de un órgano, es muy superior a los órganos donados, por lo que se deben buscar fuentes alternativas. Por ejemplo, en el caso del Reino Unido para el año de 1997 había 5.500 personas requiriendo un órgano y sólo se llevaron a cabo, no más de 2000 operaciones⁽⁶⁸⁾. Miles de pacientes mueren cada año por no tener un órgano adecuado para que se les trasplante⁽⁴³⁾. Los cerdos son la especie más favorable por la similitud fisiológica y el tamaño de los órganos, aunque todavía existe el riesgo de infección y rechazo por el cruce de especies. El objetivo es hacer modificaciones genéticas para crear órganos de cerdos que no sean rechazados por el sistema inmune de los humanos. La alfa (1,3)-galactosa se encuentra sobre la superficie de las células porcinas y ha sido identificado como el mayor blanco disparador de la respuesta inmune en los humanos⁽⁵³⁾. Se ha planteado que por medio de modificaciones genéticas se produzca una membrana celular humana en las células de los cerdos por medio de la supresión y adición de genes adecuados. Quedarían en el aire sin embargo varias preguntas: ¿será que el cerdo es capaz de sobrevivir con la supresión de algunos de sus genes y la adición de otros que no son innatos de él?, ¿será que los órganos de los cerdos funcionan y responden apropiadamente a las

señales químicas y hormonales del cuerpo humano?⁽⁴³⁾.

En la producción pecuaria, los animales pueden tener un alto mérito genético y comercial por la resistencia a enfermedades, la calidad de la carne, la producción de leche, la tasa de crecimiento, la producción de lana, y la fecundidad⁷¹. La clonación de animales puede mejorar la industria pecuaria en dos niveles, uno, multiplicando el número de animales de alto valor genético y dos, insertando genes de cualidades positivas⁽⁴⁶⁾. En la actualidad muchos grupos de investigación en todo el mundo tratan de mejorar el proceso de transferencia nuclear, con el fin de permitir que la producción de animales clónicos y transgénicos, tenga un costo-beneficio positivo⁽⁴³⁾.

Conclusión

Estamos en la era de la biotecnología, por el gran potencial y los grandes avances que se vienen logrando en esta área. Sin lugar a dudas estamos frente a una de las etapas más apasionantes en el desarrollo de técnicas reproductivas. Lo que hagamos o dejemos de hacer ubicará a Colombia como país generador de tecnología, o como permanente importador de tecnología. La biotecnología reproductiva aplicada a la producción animal tiene el importante papel de aumentar los genotipos superiores dentro de las poblaciones. El futuro de todas estas biotecnologías es bastante promisorio. Por su bajo costo, la IA continúa siendo la mejor opción para diseminar genes de características deseadas. Lo que conlleva a que las otras biotecnologías reproductivas, como la transferencia de embriones, la producción *in vitro* de embriones, el sexaje, la clonación y la modificación genética de animales, tengan como objetivo fundamental llegar a ser tecnologías de fácil aplicación, con una posibilidad de éxito alta y un costo-beneficio positivo para poder ser adoptada por los productores.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Anon (LIC). 2001. Artificial breeding vs natural mating comparisons. Proceedings of the New Zeland Large Herds Conference, Taupo vol. 32, 83p.
2. ARAT, S.; RZUCIDLO J.; GIBBONS, J.; MIYOSH, K. and STICE, S. 2001. Production of transgenic bovine embryos by transfer of transfected granulosa cells into enucleated oocytes. *Mol. Reprod. Dev.* 60:20-26.
3. AUSTIN, C. 1951. Observations on the penetration of sperm into the mammalian egg. *Aust. J. Biol. Sci. Ser. B.* 4:581-596.
4. BETTERIDGE, K. 2000. Reflections on the golden anniversary of the first embryo transfer to produce a calf. *Theriogenology*, 53:3-10.
5. BLONDIN, P.; GUILBAULT, L. A.; COENEN, K.; SIRARD, M. A. 1996. Superovulation can reduce the developmental competence of bovine oocytes. *Theriogenology*, 46:1191-1203.
6. BLONDIN, P.; BOUSQUET, D.; TWAGIRAMUNGU, H.; BARNES, F. and SIRARD M. A. 2002. Manipulation of follicular developmental to produce developmentally competent bovine oocytes. *Biology of Reproduction*, 66:38-43.
7. BONADONNA, T; SUCCI, G. 1980. Artificial insemination in the world. En: *Proc 9th In Congr. Anim Artif Insem*, 5:655-657.
8. BONDIOLI, K.; RAMSOONDAR, J.; WILLIAMS, B.; COSTA, C.; FODOR, W. Cloned pigs generated from cultured skin fibroblasts derived from a H-transferase transgenic boar. *Mol. Reprod. Dev.* 2001; 60:189-195.
9. BRACHET, A. 1912. Développement in vitro de blastodermes et jeunes embryons de mammifères. *C.R. Acad. Sci.* 155:1191-1193.
10. BRACKETT, B. G.; BOUSQUET, D.; BOICE, M. L.; DONAWICK, W. J.; EVANS, J.F.; DRESSEL, M. A. 1982. Normal development following in vitro fertilization in the cow. *Biol. Reprod.* 27:147-158.
11. BREM, G. Aplicaciones de la transferencia de embriones. En: *Biología de la Reproducción*. Ed. Gustavo Palma. 2001. p. 479-487.
12. CAMPOS, M. S.; WILCOX, C.J.; HEAD, H.; WEBB, D. W. and HAVEN J. 1994. Effects on production of milking three times daily on first lactation holsteins and jerseys in Florida. *J. Dairy Sc.*; 77:770-773.
13. CAMPOS, J. C. 1999. Melhoramento Genético Aplicado à Producao Animal, FEP-MVZ Editora. Belo Horizonte, 331-334p.
14. CANTERELLI, L.; VERA, F. 2001. Selección del sexo en mamíferos. En: *Biología de la Reproducción*. Ed. Gustavo Palma. p. 317-345.

15. CHANG, M. C. 1951. The fertilizing capacity of spermatozoa deposited into the fallopian tubes. *Nature*, 168:697-698.
16. _____. 1959. Fertilization of rabbit ova in vitro. *Nature*, 184:466-467.
17. CHUPIN, D.; THIBIER, M. 1995. Survey of the present status of the use of artificial insemination in developed countries. *World Anim Rev.*, 82:58-68.
18. CIBELLI, J.; STICE, S.; GOLUEKE, P.; KANE, J.; JERRY, J.; BLACKWELL, C.; DE LEÓN, P. and ROBL, J. 1998. Cloned Transgenic Calves Produced from Nonquiescent Fetal Fibroblasts. *Science*, 280:1256-1258.
19. CORREA, H. J. 2000. Relación producción-reproducción en hatos de alto potencial genético y propuestas nutricionales para mejorarla. Documento sin publicar. Universidad Nacional de Colombia. Medellín.
20. DE LOOS, F., BEVERS, M. M.; DIELMANN S. J. 1991. Follicular and oocyte maturation in cows treated for superovulation. *Theriogenology*, 35:527-535.
21. DZIUK, P. J.; DONKER, F. D.; NICHOLS, J. P and N, J. E. 1958. Problems associated with the transfer of ova between cattle. *Univ. Minn. Agric. Exp. Stat. Tech. Bull.*, 222:1-75.
22. FAIR, T.; LONERGAN, P.; BOLAND, M. 2001. The acquisition of developmental competence in bovine oocytes. *Animal science and Production. Faculty of Agriculture Research Report*, 1:30-35.
23. FOOTE R. H.; HENDERSON C. R.; BRATTON R. W. 1956. Testing bulls in artificial insemination centers for lethals, type and production. *Proc. 3rd Int Congr Anim Rep*, 3: 49-53.
24. FOOTE R. H. *Tracin 50 years of research*. Foote RH editor. Artificial insemination to cloning. Cornell university Resource center. p7.
25. FUKUI Y.; MCGOWAN L.; JAMES R.; PUGH P.; TERVIT H. 1991. Factors affecting the in-vitro development to blastocysts of bovine oocytes matured and fertilized in vitro. *J. Reprod. Fertil*, 92:125-131.
26. FUNAHASHI H.; CANTLEY T.; DAY B. 1997. Preincubation of cumulus-oocytes complex before exposure to gonadotrophins improves the developmental competence of porcine embryos matured and fertilized in vitro. *Theriogenology*, 47:679-86.
27. GOODHAND K. L.; WATT R. G.; STAINES M. E.; HUTCHINSON J.; BROADBENT P. J. 2000. In vivo recovery and in vitro embryo production from bovine oocyte donors treated with progestagen, estradiol and FSH. *Anim Reprod Sci.*, 63:145-158.
28. HASLER J. F. 1992. Current status and potential of embryo transfer and reproductive technology in dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 75:2857-2879.
29. _____. 1998. The current status of oocyte recovery, in vitro embryo production, and embryo transfer in domestic animals, with an emphasis on the bovine. *J. Anim. Sci.*, 76:52-74.

30. _____, 2003. The current status and future of commercial embryo transfer in cattle. *Anim Reproduc. Scie.*, 79:245-264.
31. HEAPE W. 1891. Preliminary note on the transplantation and growth of mammalian ova within a uterine foster-mother. *Proc. Roy. Soc. Lond.*, 48:457-458.
32. HERMÁS S, C. W. YOUNG C. W. and RUST J. 1987. Effects of mild inbreeding on productive and reproductive performance of Guernsey cattle. *J Dairy Sci.* 70.
33. HOSHI H. 2003. In vitro production of bovine embryo and their application for embryo transfer. *Theriogenology*, 59:675-685.
34. JEYENDRAN R.; HUNTER A.; Graham E. F. 1983. Alteration of seminal proteins during freeze-drying of bull semen. *J. Dairy Sci.*, 63:887-891.
35. KADARMIDEEN H.; THOMPSON R. and SIMM G. Linear and threshold model genetic parameter estimates for disease, fertility and production traits in UK dairy cattle. *Anim. Sci.* 71: 411-419.
36. LARSON E. V.; GRAHAM E. F. 1976. Freeze-drying of spermatozoa. *Dev. Biol. Stand.*, 36:343-348.
37. LAZZARI G.; GALLI C. 1996. In vitro embryo production and its application to cattle breeding. Proceedings of the 12th Scientific Meeting of the AETE, Lyon, France, p. 73-82.
38. LENZ R. W.; BALL G. D.; LEIBFRIED M. L.; Ax R. L.; FIRST N. L. 1983. In vitro maturation and fertilization of bovine oocytes are temperature-dependent processes. *Biol. Reprod.*, 29:173-179.
39. LONERGAN P.; RIZOS D.; WARD F.; BOLAND M. 2001. Factors influencing oocyte and embryo quality in cattle. *Reprod. Nutr. Dev.*, 41:427-437.
40. NEETHLING K. 1994. How to develop creative breakthroughs. South African Society of Animal Science Annual Conference. Warmbad; SA.
41. PALMA G.; BREAM G. Transferencia de Embriones y biotecnología de la reproducción en la especie bovina. Ed. Hemisferio Sur S.A. Buenos Aires Argentina. 1993.
42. PARRISH J. J.; KROGENEAS A.; SUSKO-PARRISH L. Bovine in vitro fertilization with frozen-thawed semen. *Theriogenology* 1986; 25:591-600.
43. PATERSON L.; DESOUSA P.; RITCHIE W.; KING T.; WILMUT I. Application of reproductive biotechnology in animals: implications and potenciales applications of reproductive cloning. *Animal Reproduction Science.* 2003; 79:137-143.
44. PINCUS G.; ENZMANN E. V. The comparative behaviour of mammalian eggs in vivo and in vitro. I. The activation of ovarian eggs. *J. Exp. Med.* 1935; 62:655-676.
45. PRYCE J.; NIELSEN B.; VEERKAMP R.; SIMM G. Genotype and feeding system effects and interactions for health and fertility traits in dairy cattle. *Livestock Production Science.* 1999; 57:193-201.

46. PURSEL V. G.; PINKERT C.; MILLER K. F.; BOLT D.; CAMBELL R.; PALMITER R.; BRINSTER R.; HAMMER R. Genetic engineering of livestock. *Science*. 1989; 244:1281-1288.
47. RIZOS D.; LONERGAN P.; BOLAND M.; ARROYO-GARCÍA R.; PINTADO B.; FUENTE J. Analysis of Differential Messenger RNA Expression Between Bovine Blastocysts Produced in Different Culture Systems: Implications for Blastocyst Quality. *Biology of Reproduction*. 2002; 66:589-595.
48. ROBERTSON A.; REDEL J. The use of progeny testing with artificial insemination in dairy cattle. *J Genetic*. 1950; 50:21-31.
49. ROBINSON J. The conference in perspective. Fertility in the high production dairy cow. *British Society Occasional Publication N° 26*. Galway, Ireland. 2001; 1: 277-282.
50. RODRIGUEZ R.; RIVERA M. Fertility of beef cattle females with mating stimuli around insemination. *Anim Reprod Sci*. 1999; 54:221-6.
51. ROWSON L.; DOWLING D. An apparatus for the extraction of fertilized eggs from the living cow. *Vet. Rec*. 1949; 61:191.
52. SAGAN C. El mundo y sus demonios. La ciencia como una luz en la oscuridad. 1ed, España. Editorial Planeta 1997. 493p
53. SANDRIN M. S.; VAUGHAN P.; DABKOWSKI I. F.; MCKENZIE. Anti-Pig IgM Antibodies in Human Serum React Predominantly with Gal(α 1-3)Gal Epitopes *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 90 (1993); P. 11391-11395.
54. SCHIEKE A.; KIND A.; RITCHIE W.; MYCOCK K.; SCOTT A.; RITCHIE M.; WILMUT I.; COLMAN A.; and CAMPBELL K. Human Factor IX Transgenic Sheep Produced by Transfer of Nuclei from Transfected Fetal Fibroblasts. *Science*. 1997; 278:2130-2133.
55. SHANNON P.; VISHWANATH R. The effect of optimal and suboptimal concentrations of sperm on the fertility of fresh and frozen bovine sperm and a theoretical model to explain the fertility differences. *Anim Reproduc Sci*. 1995; 39:1-10.
56. SHIPKA M.; ELLIS L. Effects of bull exposure on post partum ovarian activity of dairy cows. *Anim Reprod Sci*. 1999; 54: 237-44.
57. SIMM G.; VEERKAMP R.; PERSAUD P. The economic performance of dairy cows of different predicts genetics merit for milk solids production. *Anim Prod*. 1994; 58: 313-320.
58. SIMM, G.; OLDHAM J.; COFFEY M. Fertility in the high producing dairy cow. *British Society Occasional Publication N° 26*. Galway, Ireland. 2001; 1: 1-18.
59. SIRARD M. A. Resumption of meiosis: mechanism involved in meiotic progression and its relation with developmental competence. *Theriogenology*. 2001; 55: 1241-54.
60. SMIDT D.; NIEMAN H. Biotechnology in Genetics and Reproduction. *Livestock Production Science*. 1999; 59:207-221.

61. STEPTOE P. Establishing pregnancies by replacing human embryos grown in culture. Leroy, F., Finn, C.A., Psychoyos, A., Hubinont, P.O. (Eds.), *Blastocyst-Endometrium Relationships*, Vol 7. 1980; 7:324-336.
62. SUZUKI D.; KNUDTSON P. *Genética: conflictos entre la ingeniería genética y los valores humanos*. 1ed, España, Editorial Tecnos. 1991. 338p
63. TAKAHASHI M.; KEICHO K.; TAKAHASHI H.; OGAWA H.; SCHULTZ M.; OKANO A. Effect of oxidative stress on development and DNA damage in *in vitro* cultured bovine embryos by comet assay. *Theriogenology* 2000; 54:137-145.
64. VISHWANATH R.; SHANNON P. Store of bovine semen in liquid and frozen state. *Anim Reproduc Sci.* 2000; 62:23-53.
65. VISHWANATH R. Artificial insemination: the state of the art. *Theriogenology*. 2003; 59:571-584.
66. VIVANCO W. Mejoramiento Genético Bovino a Través de Tecnologías Reproductivas de Avanzada. III Seminario Internacional. *Competitividad en Leche y Carne*. 2002; vol1:227-247.
67. WATSON P. F. Artificial insemination and preservation of semen. Laming GE, Editor. *Marshall's Physiology of Reproduction*. Edinburgh: Churchill Livingstone. 1990; 747-869.
68. WEISS R. "Commentary: Transgenic pigs and virus adaptation." *Nature*. 1998; 391: 327-328.
69. WHITTEN W. K. Culture of tubal ova. *Nature*. 1957; 179:1081-1082.
70. WILLETT E. L.; BLACK W. G.; CASIDA L. E.; STONE W. H.; BUCKNER P. J. Successful transplantation of a fertilized bovine ovum. *Science*. (New York). 1951; 113: 247.
71. WOOLLIAMS J. A.; WILMUT I. New advances. in cloning and their potential impact on genetic. variation in livestock. *Anim. Sci.* 1999; 68:245-256.