

Transferencia de Embriones en Ovinos

La transferencia de embriones es una biotecnología aplicada para el incremento de la producción animal y la conservación e intercambio de material genético a nivel mundial. Se presentan las metodologías y avances logrados en el desarrollo de la transferencia embrionaria en la especie ovina, que tienden a incrementar la eficiencia reproductiva de esta técnica.

Dr. Alejandro Gibbons
Ing. Agr. Marcela
INTA Bariloche, Río Negro

El trasplante de embriones es un método de reproducción artificial basado en la transferencia de embriones producidos por una hembra donante (madre genética superior) a hembras receptoras (madres portadoras) que lo gestan hasta su nacimiento. La producción de embriones ha sido propuesta como una metodología tendiente a la preservación de especies en peligro de extinción, que brinda la posibilidad de disponer de bancos genéticos para su conservación y un reaseguro sanitario para evitar la transmisión de enfermedades. A su vez, el incremento en la eficiencia de la producción y congelamiento de embriones podrá ser utilizado para constituir rebaños con el mínimo riesgo de ser portadores de enfermedades y permitir una amplia difusión mundial de animales con alto mérito genético. Los tratamientos hormonales para inducir la ovulación múltiple (OM) y la

transferencia de embriones (TE) permiten utilizar de manera intensiva a las hembras genéticamente superiores, en forma similar al aprovechamiento que se realiza con los machos por medio de la inseminación artificial. Sin embargo, la TE en ovinos, debido a su alto costo, se encuentra limitada en su implementación. Por lo tanto, es necesario lograr maximizar la producción y sobrevivencia de los embriones, y reducir los costos en la obtención de varias crias de importante valor genético.

En la actualidad, las investigaciones están orientadas al estudio en la reducción de la alta variabilidad reproductiva de la TE, especialmente, en lo que se refiere a la respuesta individual a los tratamientos para la OM, fertilización, factores embrionarios y maternos de las ovejas receptoras.



Búsqueda y selección embrionaria.

• Tabla 1. Valores medios de cuerpos lúteos, huevos y embriones obtenidos, porcentajes de huevos obtenidos e índice de fertilización en ovejas Merino superovuladas con FSHp e inseminadas con semen congelado a las 42 hs o 55 hs del retiro de las esponjas intravaginales con progestágenos.

Tiempo de inseminación	Nº de ovejas	Cuerpos lúteos	Huevos obtenidos	Embriones obtenidos	Huevos obtenidos (%)	Índice (*) de fertilización
IA 42 hs	11	11,8±1,4 ^d	7,6±1,0	5,3±1,1	64,4±6,8 ^a	70,2% ±14,4 ^a
IA 55hs	12	9,7±2,8 ^d	5,8±1,5	4,6±1,3	59,8±8,8 ^a	80,0% ±12,1 ^a

Dentro de cada columna valores con letras iguales indican grupos homogéneos ($P > 0.05$)

(*) total de embriones obtenidos/total de huevos obtenidos x 100

En un principio, en los tratamientos hormonales para la OM, se recomendaba la aplicación de gonadotrofina coriónica equina (eCG) en dosis de 1000 a 2000 UI, aplicadas a las 24 ó 48 horas previas a la finalización de un tratamiento progestacional, mediante esponjas intravaginales. Este tratamiento producía una baja eficiencia en la obtención de embriones, debido a una alta incidencia de folículos no ovulatorios ya la alteración en la maduración de los ovocitos.

La disponibilidad comercial de la hormona folículo estimulante (Fsh) ha permitido su empleo en la TE, en dosis constantes o decrecientes (16 a 21 mg Armour, según razas), aplicadas hacia el final del tratamiento progestacional. Su superioridad con respecto a la eCG se ha evidenciado en el incremento del número de ovulaciones, ovocitos fertilizados y en la calidad embrionaria. Este tratamiento, ampliamente utilizado en la TE, permite la obtención de 5-7 embriones transferibles/oveja donante y 3-4 corderos nacidos/oveja donante. En 1994, en la Estación Experimental Agropecuaria Bariloche del INTA, se realizó un trabajo experimental de OM en ovejas Merino tratadas con Fsh. Se determinaron los valores medios de cuerpos lúteos, huevos recolectados, embriones obtenidos e índice de fertilización con semen congelado a las 42 ó 55 horas de finalizado el tratamiento progestacional (Tabla 1).

Los diversos protocolos de tratamientos hormonales, mediante gonadotrofinas, para inducir la OM, no han podido disminuir la amplia variabilidad que se presenta en el número de ovulaciones entre animales, debido a factores genéticos, nutricionales o estacionales. Sobre la base de estudios rea-

lizados mediante ecografía o endoscopia ovárica, se ha evidenciado el efecto negativo de la presencia de folículos mayores a 6 mm de diámetro y la ventaja de la presencia de folículos de 2 a 3 mm de diámetro, al comienzo del tratamiento de OM. Para reducir la variabilidad en la respuesta ovulatoria, así como para lograr un mayor número de corderos nacidos por oveja donante (incremento en un 50%), se recomendó la utilización de antagonistas de la GnRH (hormona liberadora de gonadotrofinas) durante el tratamiento progestacional, de manera de provocar una inhibición temporaria del crecimiento folicular, hasta que se provoca la ovulación múltiple mediante gonadotrofinas. La aplicación de la inseminación artificial laparoscópica, independiente de la tasa de ovulación, permite obtener un alto porcentaje de fertilización con respecto a la inseminación vaginal. En Francia, en la raza Lacaune, se ha empleado este tratamiento con resultados promisorios y se logró un mayor número de ovejas multiovladas (>5 ovulaciones) con más de 10 embriones transferibles / oveja donante y 7 corderos / oveja donante.

La recolección embrionaria mediante la técnica quirúrgica es el método más utilizado en la especie ovina. Se realiza en el día sexto posterior al inicio del estro, mediante la aplicación de un flujo de arrastre (20 cc), inyectando una solución salina (PBS) con suplementación proteica, en proximal del cuerno uterino y recuperando los embriones mediante una sonda ubicada en la luz uterina de la unión útero-tubárica. Esta técnica reduce las recuperaciones embrionarias

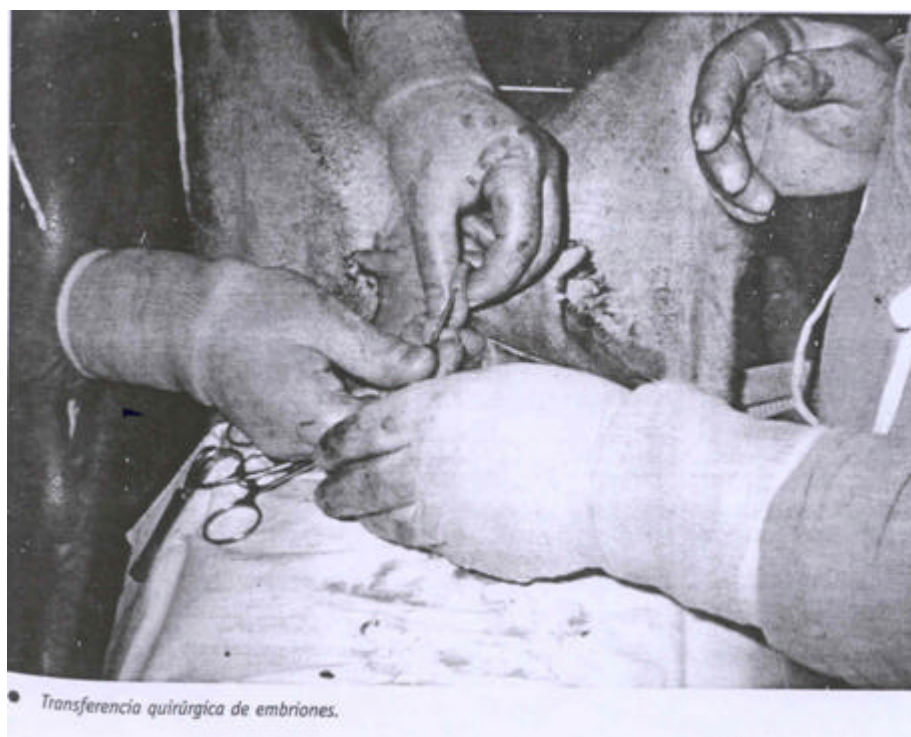
sucesivas debido a las adherencias posquirúrgicas. La utilización de un equipo de laparoscopia permite reducir estos inconvenientes, si bien la recuperación embrionaria por tratamiento de OM es menor. En el INTA Bariloche, se realizaron, a partir de 1990, los primeros estudios sobre la TE en ovinos de raza Merino. Se llevó a cabo un estudio comparativo de la recuperación y transferencia de embriones realizada en forma quirúrgica y por laparoscopia, que brindó información de referencia para el desarrollo de la técnica de TE en la Patagonia.

A partir de la obtención de los embriones, se realiza una evaluación y selección de los embriones con mayor posibilidad de alcanzar su desarrollo final. Se debe tener en consideración que la calidad de los embriones es un factor relevante para lograr un alta eficiencia reproductiva. Por lo tanto, es muy importante realizar una correcta evaluación.

Esta se realiza en forma subjetiva bajo lupa, y se analiza la integridad y el grado de desarrollo embrionario. Los embriones que presentan un retraso de 48 horas o superior se deben eliminar. El embrión debe ser esférico y con los contornos de células perfectamente visibles. La presencia de algunas células

separadas en el espacio perivitelino no constituye un motivo de rechazo, siempre que la mayoría de los blastómeros formen una masa esférica sin opacidad.

La siembra de embriones requiere de hembras receptoras, sincronizadas en su ciclo estral, en coincidencia con la edad del embrión que les es transferido. En referencia a la edad de las hembras receptoras se ha determinado una mayor eficiencia cuando se emplean hembras jóvenes. Para incrementar la sobrevivencia embrionaria, se recomienda transferir dos embriones por receptora lo más rápido posible y no superar las dos horas entre la recuperación y la siembra. La transferencia se realiza en el tercio superior del cuerno uterino, próximo a la unión utero-tubárica. Es recomendable realizar una observación laparoscópica de los ovarios para determinar si el desarrollo del cuerpo lúteo se corresponde con el día del ciclo estral y rechazar las receptoras con quistes foliculares. Las técnicas de siembra utilizadas son la quirúrgica, bajo control endoscópico y semiendoscópica. Esta última es más rápida, se emplea el laparoscopia para localizar el cuerno uterino y la siembra se realiza en el exterior de la cavidad abdominal.



Por último cabe consignar la importancia del congelamiento de embriones para su comercialización nacional o internacional y la creación de bancos de embriones.

La experiencia adquirida por el Grupo de Reproducción del INTA Bariloche en la técnica de transferencia embrionaria permitió la realización de cursos de entrenamiento en TE en ovinos, en los cuales han participado profesionales de distintas partes del país y del exterior, la publicación de material de

difusión, y también el intercambio científico en el medio profesional. Nuevos avances de la investigación en la transferencia embrionaria podrán ser empleados para la optimización en la producción y conservación de embriones, que posibiliten el intercambio genético mundial con bajo riesgo sanitario y permitan ampliar el conocimiento para el desarrollo de las futuras biotecnologías.

Bibliografía

Baril, G. Brebion, P. Chesné, P. 1993. *Manue de formation pour La transplantation embryonnaire chez la brebis et la chevre. FAO 115: 1014-1099.*

Cognie, Y. 2003. *Current status of embryo technologies in sheep and goat. Theriogenology 59:171-188.*

González, R. García Vinent, J.C. Gibbons, A. Cueto, M., 1991. *I. Laparoscopic embryo transfer in Merino sheep in Patagonja (Argentina). II. Embryo recovery after superovulation treatment in Merino sheep and Angora gotas in Patagonia (Argentina). XXIV World Veterinary Congress. Río de Janeiro. P 5.45. P 5.46.*

Witerberger-Torrés, S. Sevellec, C. 1987. *Atlas du développement embryonnaire precose chez les ovin. INRA Publ., Versailles, 51p.*

Wolff; M. Gibbons, A. Cueto, M. Willems, P. Arrigo, J. 1994. *Results of artificial insemination with frozen semen in Merino ewes multiovulated with FSHp. IV WorLd Merino Conference. Montevideo. Uruguay. 269p.*