Historia de la aplicación de biotecnologías reproductivas en la cría del búfalo en Colombia

Jesús Alfredo Berdugo Gutiérrez¹ Corporación Universitaria Remington

Resumen

a ganadería en el mundo ha adquirido la responsabilidad de producir un alimento para los millones de seres humanos que habitan el planeta. Este alimento, que se visualiza en forma de carne y de leche, debe tener unos requisitos mínimos: ser producido en cantidad suficiente para cubrir las necesidades de las personas y tener la calidad necesaria para cumplir su función nutritiva. Los productores o ganaderos deben mejorar la comida de los animales, aumentar el número de animales por unidad de área, trabajar la parte sanitaria y, finalmente, usar la reproducción como un elemento de la producción. Para ello, se han desarrollado las biotecnologías reproductivas que combinan los avances en genética, en biología celular y en biofísica, para intervenir el hecho fundamental de la permanencia de los seres vivos en la naturaleza: la reproducción. En este documento nos dedicaremos a revisarlas en una especie animal, el búfalo, que está trabajando por mejorar el primer requisito y cumple con creces el segundo: carne y leche de excelente calidad nutricional.

Palabras clave: Reproducción, búfalo, inseminación, embrión.

The history of reproductive biotechnologies in buffalo breeding in Colombia

Abstract

Cattle industry has taken on the responsibility of producing food for the millions of humans living on the planet. This food, in the form of meat and milk, must meet minimum requirements: produce

¹ Magister en Genética Humana de la Universidad Nacional de Colombia. Coordinador Grupo de Investigación en Medicina Veterinaria (GINVER). Profesor Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Corporación Universitaria Remington. Correo electrónico: jesus.berdugo@remington.edu.co

sufficient quantities to meet the needs of people and provide the required quality standards to fulfill its nutritional function. Farmers and ranchers should improve the food of animals, increase the number of animals per unit area, care for health conditions, and use reproduction as an aspect of production. To this end, reproductive biotechnologies have been developed by combining advances in genetics, cell biology, and biophysics in order to intervene the fundamental fact of the permanence of living beings in nature: reproduction. This articlewill review the use of these technologies in an animal species: buffaloes, which is working to improve the first requirement and struggles to meet the second one: meat and milk of excellent nutritional value.

Keywords: Reproduction, buffalo, insemination, embryo.

Contexto de la ganadería bufalina colombiana

El éxito de la ganadería depende en gran proporción de la existencia de animales capaces de producir carne o leche de manera eficiente en diferentes condiciones medioambientales. Nuestro país ha desarrollado estrategias tendientes al establecimiento de una ganadería eficiente, competitiva y sostenible. El proceso se inició hace algunos años con el desarrollo del programa de erradicación de enfermedades, como la fiebre aftosa, la brucelosis y la tuberculosis. Posteriormente, aparecieron otros programas, como el sistema de identificación nacional. A los ganaderos se les incentivó a buscar mercados por fuera del país donde fuera posible exportar y a transformar sus productos.

En nuestro país, más del 40% de la tierra dedicada a la ganadería está ubicada en tierras bajas e inundables, algunas de ellas con proporciones importantes de arvenses (malezas), que impiden la aplicación al 100% de los modelos clásicos de producción. En estos sitios, el búfalo empieza a ocupar un lugar preponderante, pues puede vivir en el medio ambiente mojado, pudiendo a veces comer bajo el agua (eso sí, querido lector, tenga en cuenta que el búfalo no un pescado); es capaz de comer muchas plantas o forrajes; gracias a que tiene muchas bacterias y hongos dentro de su organismo, las transforma eficientemente en carne y leche; puede desplazarse por largos trayectos sin afectar su capacidad productiva y, más aún, puede cargar o tirar una carreta; en fin, es un animal que se enferma poco y tiene un gran eficiencia reproductiva.

La calidad de su carne y leche es excepcional: su proporción de grasa (8%) y de proteína (5%) la convierte en una materia prima invaluable para la industria láctea. El mejor y más famoso ejemplo se tiene en

Italia, con la industria del queso mozzarella. Su carne, con 26% de proteína y el nivel más bajo de calorías entre las carnes disponibles en el mercado (131 kilocalorías por 100 gramos), se convierte en una excelente opción para quienes necesiten una dieta sana y balanceada.

En Colombia para 2011 teníamos alrededor de 200.000 búfalos repartidos por todo el país, especialmente en Antioquia y Córdoba, que representan cerca del 1% del total del hato nacional. Los bufalistas que ordeñan producen alrededor de 15.000 litros al día y los que no lo hacen venden sus machos cebados a los frigoríficos de las ciudades cercanas a los sitios donde están sus explotaciones.

Biotecnologías reproductivas en los búfalos de agua

Desde el año 2000 los ganaderos entendieron y decidieron tener búfalos cada día mejores, esto es, más productivos y de un fenotipo homogéneo (de características similares; léase: *más bonitos*). Esta fue una de las motivaciones con que la Asociación Colombiana de Criadores de Búfalos iniciara el programa de registro y control genealógico abriendo libros para la raza Murrah, un tipo de búfalo que se ha llamado Colombiano, y con que las universidades propusieran proyectos de investigación para dar a los ganaderos herramientas de mejoramiento. Hablaremos entonces de mejoramiento, de inseminación artificial y de transferencia de embriones.

Inseminación artificial

En 1976 se obtuvieron las primeras crías de búfalo por inseminación artificial, pero pasaron muchos años, muchas experiencias desagradables y poco exitosas hasta que en 2002 se volvieron a realizar programas de inseminación artificial (IA) a tiempo fijo. La IA a tiempo fijo es una técnica en que mediante el uso de medicamentos se manipula el ciclo de las vacas y se decide a criterio del veterinario el momento en que el semen se deposita en la hembra. Queda implícito que en esa época ya había en el país disponibilidad de semen congelado de búfalo: de las razas Murrah y Mediterráneo. Es de anotar que las madres de los búfalos utilizados en la IA producían más de 10 litros de leche al día y eso se ajustaba a la forma de criar búfalos que teníamos en el país. Se escogían como reproductores los hijos de las mejores búfalas. Para los criadores, búfalas de más de 10 litros de leche al día era increíble. No importó mucho que no se tuvieran pruebas de progenie o que los reproductores no fueran cien por ciento puros.

Desde aquellos trabajos pioneros y hasta la fecha los resultados no han variado mucho; mantenemos un promedio de 30% de preñez, lo que en términos prácticos significa que para una cría de IA necesitamos inseminar tres búfalas. Cabe anotar que hasta un 70%, según informes de ciertos trabajos. Se aprendió que los protocolos con progestágenos no funcionaban bien en las búfalas y que la estación reproductiva marcaba definitivamente el éxito de los programas. Entendimos que los animales tienen épocas fértiles y no fértiles; los resultados eran del 5% y del 36%, respectivamente.

Con el pobre resultado de la IA en mente y con la constante queja de los criadores, teníamos que buscar alguna alternativa para incrementar las tasas de preñez. Nos pareció la más fácil hacer la inseminación cuando la búfala naturalmente entrara en celo. Empezamos a mirar los factores: la estación, la detección de los celos, la definición del momento de la inseminación y, finalmente, el encaje de ese programa en el trabajo corriente del hato.

Entre los años 2003 y 2005 se aumentó la disponibilidad de semen por la importación y posterior congelación de semen de reproductores de Brasil.

Se decidió en 2007 hacer los programas en ciclo natural; se incluyó el uso de calentadores, machos operados que ayudan a mostrar el celo de las búfalas (se les practicó la remoción del epidídimo); se consideró beneficioso para la IA que el macho salte la búfala, pues el salto y la eyaculación facilitan el transporte del espermatozoide hacia la trompa. Finalmente, se

decidió que la inseminación se debía hacer 12 horas después que el macho dejara de montar las hembra. Para esta época llegó semen de mejores reproductores Murrah y Mediterráneos, algunos ya con pruebas de progenie.

Con el programa con celo natural, se aumentaron las tasas de preñez casi al doble; la tasa de preñez ahora es del 75%. Un problema grande del programa es la baja de tasa de detección de celo: 56%, pese a tener hasta 5 calentadores en un lote de 60 animales. Nuestro programa quedó organizado de forma tal que luego de treinta días posparto las búfalas entran al programa de IA: allí permanecen por 60 días, tiempo en que tienen la oportunidad de presentar celo hasta dos veces o repetir. Posteriormente salen del programa y van a los reproductores.

En 2009 se decidió inseminar buvillas (que son hembras jóvenes para su primer parto). El principal problema hasta ese momento era pasar el catéter, pero fue solucionado mediante una palpación exhaustiva del mismo: se incluyó en el programa solamente aquellas que mostraban un cérvix más grueso, que nos permitía fijarlo para pasar la pistola de la IA. Se preparó 1 calentador por cada 10 buvillas y se hizo un lote inicial de 40; en un período de dos meses fueron inseminadas 28, de las cuales quedaron preñadas 20, para una tasa de preñez del 71%.

Uno de los problemas más grandes para la continuidad de los programas de inseminación es la estacionalidad. Recientemente Baruselli (1996) informó resultados alentadores para IA a tiempo fijo fuera de estación mediante el uso de progestágenos. En 2009 se aplicaron los protocolos sugeridos con 35 animales que habían parido más de una vez, entre 60 y 150 días abiertos se les indujo a ovular mediante la introducción de un implante de norgestomet en la oreja y una inyección de valerato de estradiol y norgestomet (Crestar); 7 días después fue retirado el implante e inyectadas con 2 cc de Estrumate; los animales fueron inseminados a tiempo fijo 60 horas después de retirar el implante. De los 35 animales, se obtuvieron 12 prefieces (34,5 %).

Transferencia de embriones

En 2006, Flórez y colaboradores informaron de su experiencia en el uso de los protocolos de múltiple ovulación y transferencia de embriones en búfalas en la costa norte de Colombia. Ellos realizaron dos series

de 5 búfalas cada una: en la primera serie obtuvieron 4 embriones transferibles de 17 estructuras encontradas; a los 35 días fueron observados preñadas 3 búfalas, pero de ellas solo quedó una preñada, que parió una hembra. En una segunda serie con 5 búfalas, mejoraron la tasa de fertilización, llegando a 85,14%: se obtuvieron 6 embriones que fueron transferidos para obtenerse una preñez; en resumen, 10 búfalas para 2 preñeces. Esta es la única experiencia documentada sobre transferencia de embriones convencionales en el país; otros colegas han intentado aplicar la técnica con resultados desalentadores.

A fines de 2008, para ofrecer a los programas de cría de búfalos otra alternativa, se pensó en aplicar la técnica de producción de embriones *in vitro*. Según ella, los óvulos deben retirarse de la hembra, ser llevados al laboratorio fertilizados y a los siete días, cuando ya son un embrión, se transfieren a receptoras. Inicialmente, las búfalas fueron aspiradas en diferentes épocas del año; se muestra a continuación nuestros resultados: en febrero se obtuvieron 9,2 oocitos por búfala, 6,2 viables con un rango de 4 hasta 13; en abril fueron 4,0 oocitos por búfala y viables 1,3. Esto nos muestra claramente el efecto de la estación en la producción de oocitos. En relación con la obtención de embriones, se pasó de 0 en la primera a 20%.

Experiencia exitosa

A continuación se presenta nuestra primera experiencia exitosa. Se realizó en Pueblo Nuevo, Córdoba, con animales multíparos con 90 días posparto, peso de 530 kg y condición corporal de 3,5 promedio. Las búfalas fueron aspiradas mediante el uso de una aguja calibre 16, acondicionada a una sonda transvaginal guiada con ultrasonido en un ecógrafo Aloka. Los oocitos fueron transportados al laboratorio por medio de TCM 199-Hepes, madurados por 24 horas e inseminados con espermatozoides móviles separados por gradientes de Percoll de pajillas de semen congelado-descongelado de reproductores Mediterráneo. Los embriones fueron transferidos el octavo día post-aspiración: se utilizó la técnica no quirúrgica transcervical en el cuerno ipsilateral al cuerpo lúteo. Las receptoras fueron sincronizadas tras utilizarse el protocolo Ovysynch, contando como el momento de la ovulación 16 horas después de la última invección de GnRH. Fueron transferidos 16 embriones a 10 receptoras y se confirmó la preñez en una de ellas a los 40 días post-transferencia. Los resultados mostraban por primera vez una preñez obtenida por este procedimiento con embriones frescos y, aunque numéricamente son bajos, si se compara con la literatura, explicitan que en el país existe la experiencia en los procesos de captación, maduración y fertilización de los oocitos, además de las condiciones de cultivo que permiten la obtención de los embriones.

A fines de 2009, terminando la estación reproductiva se tuvo la primera experiencia de transferencia de embriones congelados, que fueron obtenidos por fertilización in vitro y congelados en Glicerol. Para la transferencia se escogieron 82 receptoras, entre buvillas y búfalas de primer parto, que fueron sincronizadas con el protocolo combinado de Progesterona-Prostaglandina-GnRh, evaluados los cuerpos lúteos por ecografía previo a la transferencia al cuerno ipsilateral, la cual se hizo el quinto día posterior al momento definido como de celo de la receptora. Cuando los embriones estuvieron en medio de cultivo sin crioprotector fueron montados en pajillas de 0,25 ml previo a la transferencia. De este trabajo se obtuvieron 32 preñeces, en el día veintisieteavo pos-transferencia. A la fecha hay nacidos por esta metodología 19 animales.

Sobre los programas de inseminación artificial con ciclo natural tenemos muy claro que cuanto menos intervengamos el ciclo estral de la búfala, la probabilidad de éxito en términos de preñez será mayor. Esta observación nos lleva a plantear si uno podría hacer programas de transferencia de embriones con celo natural, una vez estandarizadas las técnicas de congelación de embriones para transferencia directa. Siempre he pensado que la gran diferencia, al menos por ahora, entre criar búfalos y vacas es que debemos mirarlos con atención, aprender a ver todo lo que nos muestran, para poder lograr los máximos reproductivos que ellos naturalmente poseen.

A modo de conclusión

Se ha mostrado que en los últimos diez años los criadores de búfalo colombianos han empezado a aplicar las más modernas tecnologías reproductivas existentes sobre la cría del búfalo de agua. Nos falta empezar a mirar con atención el contexto productivo en que vamos a aplicarlas, con el fin de determinar cuáles son los animales de mejor calidad y que se ajusten al fenotipo deseado para así poder decidir sobre su multiplicación. Muy pronto tendremos a nuestra disposición información sobre nuestras madres y potenciales reproductores, muchos de ellos hijos de animales obtenidos por IA, que nos señalarán el futuro derrotero.

Referencias bibliográficas

FLÓREZ MACHADO, Eduardo *et ál.* (2006). «Transferencia de embriones en búfalos en Colombia». En: Memorias III Simposio de Búfalos de las Américas. Medellín, septiembre, pp. 152-154.

Hernández, Carlos *et ál.* (2009). «Aspiración folicular guiada por ultrasonido (OPU) y producción de embriones in vitro en búfalas de agua (*Bubalus bubalis*) en el trópico bajo colombiano». En: *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, Vol. 22, N° 3, pp. 567-567.

JARAMILLO, G. (2000). Personal Communication.

Baruselli, Pietro Sampaio (1996). «Reprodução de bubalinos». En: Anais: I Simpósio Brasileiro de Bubalinocultura. Cruz das Almas, p. 117-153.

Perera, M. A. et ál. (1977). «Synchronisation of Oestrus and Fertility in Buffaloes Using a Prostaglandin Analogue». En: <u>Veterinary Rec</u>ord, Vol. 101, N° 26-27, pp. 520-521.

Campanile, Giuseppe *et ál.* (2005). «Embryonic Mortality in Buffaloes Synchronized and Mated by AI During the Seasonal Decline in Reproductive Function». En: *Theriogenology*, Vol. 63, N° 8, pp. 2.334-2.340.

Ahmad, K. y Chaudhry, R. A. (1980). «Cryopreservation of buffalo semen». En: *Veterynary Record*, Vol. 106, N° 9, pp. 199-201.

ZICARRELLI, L. *et ál.* (1997). «Effects of Using Vasectomized Bulls in Artificial Insemination Practice on the Reproductive Efficiency of Italian Buffalo Cows». En: *Animal Reproduction Science*, Vol. 47, N° 3, pp. 171-180.



Artículo recibido 15-10-2012 Aprobado 18-11-2012