

## FR 17. PRODUCCIÓN Y TRANSPLANTE DE EMBRIONES CONGELADOS DE BOVINOS CRIOLLO LIMONERO

R. González<sup>1,4</sup>, J. C. Velarde<sup>2</sup>, S. Zambrano<sup>3</sup> y P. Esté<sup>4</sup>

La Universidad del Zulia (LUZ). <sup>1</sup>Facultad de Ciencias Veterinarias. <sup>2</sup>Venezolana de Inseminación Artificial y Transplante de Embriones, C.A. (VIATECA). <sup>3</sup>Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias (FONAIAP). <sup>4</sup>Corporación de Desarrollo de la Región Zuliana (CORPOZULIA).

### Abstract

#### Production and transfer of frozen bovine embryos from criollo limonero cattle

The venezuelan criollo limonero cattle came originally from the hispanic bovine breeds brought to America during the colonial times. This breed is characterized for its great adaptation to the extreme warm tropical conditions, high fertility and milk production. The largest population of this breed is located in the north-western region of Maracaibo Lake on the Limon and Guasare river banks in the Mara county of Zulia state. An official program (CORFONLUZ)\* of multiovulation and embryo transfer (MOET) is being conducted with the objectives of increasing their genetic value. Up to now a total of 253 (60.5 %) transferable embryos have been produced from which 222 (87.7 %) were frozen to build a genetic bank. From 70 thawed and evaluated embryos 60 (85.7 %) were considered good to be transferred to crossbred (Cebu x dairy breeds) recipients. From the first 37 embryos transferred, 18 (48.6 %) resulted in pregnancy and the rest are waiting for pregnancy diagnosis. This preliminary pregnancy rate (48.6 %) is considered satisfactory and clearly shows the advantage of these embryo cryopreservation technologies to warrant the genetic future of this breed considered a venezuelan patrimony.

**Palabras claves:** Embriones congelados, bovinos, Criollo limonero.

**Key words:** Frozen embryos, bovines, Criollo limonero.

### Introducción

El Criollo Limonero es una raza venezolana originaria de bovinos hispanos traídos a la América durante la colonia la cual se caracteriza por su gran resistencia a las condiciones climáticas del bosque seco tropical, destacándose además por su fertilidad y temperamento lechero. La mayor concentración de estos bovinos se encuentra ubicada en el nor-oeste del Lago de Maracaibo y más específicamente en las márgenes de los ríos Limón y Guasare del Distrito Mara del Estado Zulia.

Un programa oficial de multiovulación y transplante de embriones (MOET) se está realizando con el propósito de incrementar y mejorar el Criollo Limonero que por su reducida población existe la tendencia a su desaparición.

El presente estudio tiene como objetivo principal dar a conocer los resultados de producción y fertilidad postransplante de embriones congelados de esta raza de ganado.

### Materiales y métodos

Un total de 32 vacas multiparas Criollo Limonero élite conformaron inicialmente el plantel de donadoras, siendo superovuladas mediante un régimen decreciente de 2.5, 2.0, 1.0, 1.0, mL x 2 de Folltropin (Vetrepharm, Canada), durante 4 días. El tececer día del tratamiento fueron aplicados 22.5 mg de Luprostiol (Prosolvín, Intervet, Holanda) para inducir el celo. Los animales fueron servidos a las 0, 12 y 24 horas después de detectado el celo, empleando semen de toros Criollo Limonero. Una semana después de la inseminación las donadoras fueron recolectadas utilizando 1000 mL de solución Fosfato-buffer-salino modificado (PBSM), suplementado con 0.04 % de suero albúmina bovina (BSA), fracción V, antibióticos y antimicóticos (anti-anti). Los huevos recolectados fueron clasificados en: embriones transferibles (ET), embriones no transferibles (ENT) y óvulos no fecundados (ONF) (Linder y Wright, 1983).

Para la congelación de los embriones se empleó una solución de 1.5 M de Etilenglicol, 0.4 % BSA y 0.1 M Sucrosa (Voelkel y Xu, 1995). Los embriones fueron expuestos en Etilenglicol durante 10 minutos y envasados en pajuelas de 0.25 ml. Los embriones fueron colocados en la cámara de congelación a -6 °C durante 10 minutos. La cristalización fue inducida a los 2 minutos seguido de una segunda fase de enfriamiento hasta -32 °C (0.5 °C/min.) y final sumersión en nitrógeno líquido. La descongelación de los embriones fue realizada exponiendo

\*Convenio CORPOZULIA - FONAIAP - LUZ

las pajuelas a la intemperie durante 10 seg y luego sumergidas 10 seg más en agua a 37 °C. Las pajueals fueron secadas y su contenido fue vertido en una placa de Petri (35 x 10 mm) conteniendo 2.0 mL de medio de mantenimiento (PBSM, 0.4 % BSA, anti-anti) durante 5 min. Los embriones después de su evaluación morfológica fueron envasados en pajuelas de 0.25 mL y transferidos no quirúrgicamente empleando la pistola miniturizada francesa (IMV, Cassou). Los embriones fueron depositados en el cuerno ipsilateral al cuerpo lúteo de receptoras mestizas (cebú x razas lecheras) una semana después del celo previamente sincronizado con prostaglandina F2a. El diagnóstico de preñez fue realizado por palpación rectal 40-50 días postransplante.

### Resultados y discusión

De 64 superovulaciones practicadas en 32 donadoras se obtuvo un total de 418 huevos de los cuales 253 (60.5 %), 122 (29.1 %) y 43 (10.2 %) fueron clasificados como ET, ENT y ONF respectivamente, (cuadro1).

**Cuadro 1. Relación de producción de huevos/embriones.**

Donadoras n	Huevos total	Embriones transferibles	Embriones no transferibles	Ovulos no fecundados
32	418	253 (60.5 %)	122 (29.1 %)	43 (10.2 %).

De los 253 embriones transferibles, 222 (87.7 %) fueron congelados para conformar de esta manera el primer banco genético de embriones Criollo Limonero en el país. Hasta el presente un total de 70 embriones han sido descongelados de los cuales 60 (85.7 %) fueron considerados normales, siendo transferidos en receptoras mestizas. De los primeros 37 embriones se obtuvieron 18 (48.6 %) preñeces quedando en espera de diagnóstico 23 transplantes (cuadro 2).

**Cuadro 2. Congelación y transplante de embriones.**

Embriones recolectados	Embriones congelados	Embriones descong.	Embriones transplantados	Tasa preñez	Espera diagnóst.
253	222/253 (87 %)	70	60/70 (85.7 %)	18/37 (48.6 %)	23

El total de 253 (60.5 %) embriones transferibles recolectados además de constituir una importante cantidad de embriones sirve para garantizar la perpetuidad del Criollo Limonero ya que 222 (87.7 %) de estos embriones fueron congelados. La tasa obtenida de 60 % de embriones transferibles coincide con la reportada por otros autores en otras razas *Bos taurus* y latitudes diferentes (González *et al.*, 1990). Adicionalmente estos datos sirven para corroborar una vez más la alta eficiencia reproductiva que caracteriza esta raza de ganado ya que el índice de fertilidad de los huevos recolectados resultó de 89.6 %. Una tasa preliminar de preñez de 48.6 % obtenida con embriones congelados es satisfactoria encontrándose dentro de los parámetros reportados por otros autores en clima tropical (Megahed, 1995). Este índice de preñez sirve de marco de referencia sobre el potencial que ofrece esta tecnología reproductiva para acelerar el proceso de mejoramiento y difusión del Criollo Limonero.

### Conclusiones

Este trabajo sirvió para demostrar el potencial del transplante de embriones como herramienta efectiva de difusión y mejoramiento genético del Criollo limonero.

La recolección de 253 embriones transferibles representa una fuente importante de material genético de los cuales 222 (87.7 %) fueron congelados para constituir el primer banco genético de germoplasma Criollo Limonero.

Una tasa de 48.6 % de preñez obtenida con embriones congelados es considerada como satisfactoria en nuestro medio ambiente tropical.

### Literatura citada

- González. A., J. G. Lussier, T. D. Garruthers, B. B. Murphy and R. J. Mapletoft. 1990. Superovulation of beef heifers with Folltropin: A new FSH preparation containing reduced LH activity. *Theriogenology* 33: 519-599
- Lange H. 1995. Cryopreservation of bovine embryos and demi-embryos using ethylene glicol for direct transfer after thawing. *Theriogenology*, 258.
- Linder G. M. and R. W. Wright, Jr. 1983. Bovine embryo morphology evaluation. *Theriogenology*, 20:407-416.
- Megahed G. A. 1995. The influence of season and embryo stage on pregnancy rate of frozen-thawed cow embryos. *Indian Vet. J.* 72: 146-149.
- Voelkel S. A. and Y. X. Xu. 1992. Direct transfer of frozen-thawed bovine embryos. *Theriogenology*. 37: 23-37.