



**BIOTECNOLOGÍAS DE REPRODUCCIÓN ANIMAL CON POSIBILIDAD DE
APLICACIÓN PARA OPTIMIZAR EL POTENCIAL REPRODUCTIVO Y
PRODUCTIVO DE LOS ANIMALES. UNA REVISIÓN
ANIMAL BIOTECHNOLOGIES PLAY WITH POSSIBILITY OF
IMPLEMENTATION TO OPTIMIZE THE REPRODUCTIVE AND PRODUCTIVE
POTENTIAL OF ANIMALS. A REVIEW**

Alejandro Córdova Izquierdo^{1*}, Claudio Gustavo Ruiz Lang¹, Víctor Xolalpa Campos¹, Mary S. Córdova Jiménez² y Cristian A. Córdova Jiménez³

¹Departamento de Producción Agrícola y Animal. Cuerpo Académico: Salud y Bienestar Animal. Área de Investigación: Ecodesarrollo de la Producción Animal. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco, México. ²Laboratorios Brovel, S.A. de C.V. México. ³Becario CONACyT-México. Facultad de Veterinaria. Universidad de León, España.
correspondencia con el autor: * acordova@correo.xoc.uam.mx

RESUMEN

Las biotecnologías de reproducción animal, representan una oportunidad para optimizar el potencial reproductivo y productivo de los animales. El objetivo de este trabajo es presentar una breve revisión de las biotecnologías de reproducción animal con posibilidad futura de aplicación para optimizar el potencial reproductivo y productivo de los animales, tales como: fecundación in vitro, clonación y transgénesis.

Palabras clave: Biotecnologías de reproducción animal. Fecundación in vitro. Clonación. Transgénesis.

ABSTRACT

Animal reproductive biotechnology, represents an opportunity to optimize the potential reproductive and productive animals. The aim of this paper is a brief review of biotechnology in animal reproduction with future possibility of application to optimize the

potential reproductive and productive animals, such as in vitro fertilization, cloning and transgenesis.

Key words: Biotechnology of animal reproduction. In vitro fertilization. Cloning. Transgenesis

INTRODUCCIÓN

El constante aumento en el desarrollo demográfico mundial, que probablemente llegue a los 12,000 millones de personas en las próximas décadas, es motivo de inquietud en la Comunidad Científica Internacional, en relación al potencial reproductivo y productivo de los animales para transformar alimentos de alta calidad nutritiva para el consumo humano; por otro lado, los adelantos tan espectaculares en áreas como la informática, la electrónica, las telecomunicaciones y biología molecular, entre otras, han motivado, en los últimos años, a los países, tanto desarrollados como a los que están en vías de desarrollo a interesarse cada vez más en biotecnologías de Reproducción Asistida aplicadas a la Producción Animal, con posibilidad de aplicación en producción animal con el fin de aprovechar el potencial biológico de los animales a un ritmo mucho más rápido que lo alcanzado por la reproducción y producción animal convencional (Smith y Niemann, 1999; Baldassarre, 2005; Melo *et al.*, 2007; Robledo *et al.*, 2009; Ruiz *et al.*, 2010; Vázquez, 2010) mediante aplicación de conocimientos actuales en fecundación *in vitro*, clonación y transgénesis, en esta revisión, se hace una breve descripción de estas biotecnologías.

FECUNDACIÓN *IN VITRO*

La fecundación *in vitro* (FIV), es un instrumento valioso en el campo de la investigación científica y ofrece una nueva área de biotecnología práctica en la reproducción animal asistida, como prueba de fertilidad en los animales reproductores y mejor aprovechamiento del potencial biológico que poseen, tanto las hembras como los machos de los animales de granja.

La Historia de la FIV en mamíferos, se remonta a 120 años, en 1878 Schenk, fecundó *in vitro* ovocitos de coneja, con espermatozoides homólogos (Shamsuddin *et al.*, 1996). Sin embargo, la tecnología actual de la FIV, se inició hace 40 años (1959) cuando Chang observó a través del microscopio por primera vez este fenómeno en gametos de conejo. Desde entonces, esta biotecnología, ha contribuido de manera definitiva, al estudio de la reproducción en animales y en los seres humanos.

La FIV, posee numerosas aplicaciones en el ámbito de la producción animal, preservación de especies en vías de extinción y supone un sistema modelo para el estudio de interacciones celulares y moleculares de la fecundación de los mamíferos (Wassarman, 1994 y 1995; Berger, 1996; Guasch *et al.*, 2005). Además, puede ser aplicada para resolver problemas de fertilidad humana.

Sin embargo, en un principio, la FIV se orientó principalmente al estudio de factores involucrados en la fecundación, capacitación espermática, maduración del ovocito, mecanismo íntimo de la interacción entre gametos, así como al estudio de señales que intervienen en procesos de desarrollo y diferenciación del embrión (Whittingham, 1968; Edwards *et al.*, 1969; Miyamoto y Chang, 1973; Toyoda y Chang, 1974; Niwa y Chang, 1975), los cuales en la actualidad, han tomado gran importancia, tanto en animales como en humanos.

Hoy en día, la FIV se aplica de forma rutinaria en casi todas especies de mamíferos, para valorar la capacidad fecundante de los espermatozoides, lo que permite clasificar y seleccionar a los mejores reproductores en función de la calidad de su material germinal (Baker y Polge, 1976; Rath, 1991; Ocampo *et al.*, 1994; Töpfer-Peterson, 1996; Córdoba, 1994; Córdoba *et al.*, 1997; Roca *et al.*, 1997; Telfer, 1998; Córdoba, 1999; Córdoba *et al.*, 2001).

Los elementos que intervienen para el éxito de la FIV son: el espermatozoide, capacitación espermática, el ovocito, cultivo *in vitro* de los ovocitos, volumen del medio, tiempo de cocultivo y la valoración de los resultados de la FIV (Córdoba, 1999).

En la actualidad, la FIV es una excelente técnica de laboratorio que puede ser utilizada como prueba de fertilidad en machos reproductores, ya que las pruebas convencionales de análisis seminal no muestran buena correlación con los resultados de fertilidad obtenidos en condiciones de campo (Martínez *et al.*, 1996; Larsson y Rodríguez-Martínez, 2000). Además, en las dos últimas décadas, esta técnica ha puesto énfasis en la producción de embriones de animales de granja, estando en vanguardia el ganado bovino, ovino y porcino (Galli *et al.*, 2001; Gandolfi, 2001; Robledo *et al.*, 2009) y cada vez más en otras especies de interés económico; se espera que esta biotecnología, en un futuro no muy lejano, pueda permitir aprovechar mejor el potencial biológico de los animales de importancia económica y de esta manera contribuir a su aplicación en mejora de la producción animal internacional.

Con lo que respecta a su aplicación en humanos, ya existen instituciones de salud públicas y privadas en todo el mundo que ofrecen el servicio de FIV y técnicas relacionadas

para resolver problemas de fertilidad en individuos que lo soliciten; de tal manera que la FIV, en humanos es ya una realidad (Ménézo *et al.*, 2000; Guasch *et al.*, 2005).

CLONACIÓN

La clonación es la obtención de genes, población celular o individuos idénticos a partir de un solo individuo o progenitor a través de reproducción asexual, sin la participación de ambos progenitores o gametos -femenino y masculino- realizada por el hombre en el laboratorio, cuyos antecedentes datan de 1938. Sin embargo, es hasta la década de los 90 cuando adquiere dimensiones extraordinarias como biotecnología de reproducción animal asistida en animales de granja con importancia económica (Prather y First, 1990; Merchant-Larios, 1998; Villalpando y Sánchez, 1998; Betthausen *et al.*, 2000; Westhusin *et al.*, 2001; Chuaire *et al.*, 2004).

En la actualidad, esta biotecnología, está siendo utilizada como una técnica de laboratorio para producir principalmente animales idénticos, mediante tres métodos que a continuación se describen brevemente:

1. **Por partición embrionaria:** Es una técnica relativamente simple y sencilla, los primeros que la realizaron fueron Spermán y Zalkember en 1919, empleando embriones de anfibios, los cuales fueron divididos en dos con la ayuda de un cabello humano (Merchant-Larios, 1998; Villalpando y Sánchez, 1998). En la actualidad ha sido difundida y utilizada con embriones de animales de granja, conocida como clonación por bipartición de embriones.
2. **Por trasplante de núcleos de células embrionarias a ovocitos enucleados:** La información genética del ovocito es sustituida por la del embrión. Se realiza a partir de embriones en sus primeros estadios de desarrollo -4 a 32 células- se separan éstas. Por otra parte, se obtienen ovocitos a los cuales se les retira el núcleo y después se les introducen las células embrionarias y se incuban, mediante estimulación eléctrica, se induce la fusión celular para dar origen a cigotos con el material genético de los embriones (clonación embrionaria).
3. **Por trasplante nuclear de células somáticas adultas a ovocitos enucleados:** Los primeros intentos se hicieron empleando para ello animales no mamíferos. Fue en hasta 1997, cuando se reportó por primera vez el nacimiento de un mamífero producto de la clonación a partir de células adultas, empleando células de tejido mamario procedente de una oveja adulta; el clon o producto obtenido fue bautizado con el nombre de Dolly en honor a una cantante Estadounidense de

música country que llevaba ese nombre, cuyos pechos eran extremadamente grandes. Este hallazgo, realizado en el Instituto Roslin de Edimburgo, Escocia por un grupo de investigadores encabezado por Ian Wilmut, ha mostrado que las células adultas poseen la capacidad de reprogramarse e iniciar el crecimiento de un nuevo individuo (Merchant-Larios, 1998; Villalpando y Sánchez, 1998) y ha sentado las bases de la clonación en mamíferos empleando esta metodología con algunos resultados exitosos en animales de granja (Betthausen *et al.*, 2000; Westhusin *et al.*, 2001).

TRANSGÉNESIS

La transgénesis se refiere a la obtención de animales, cuyo material genético (ADN) ha sido modificado, con la introducción de uno o más genes extraños y que son capaces de transmitir esa modificación a su descendencia. Esta biotecnología es uno de los últimos avances de las biotecnologías de reproducción animal asistida con posibilidad de aplicación en producción animal con el fin de mejorar el potencial reproductivo y productivo de los animales; su aplicación está llevándose a cabo en los siguientes tipos de animales, con resultados alentadores, tales como conejos, bovinos, cerdos, ovinos, caprinos; incluso aves y peces (Pintado y Gutiérrez, 1996 y 1998; Murray *et al.*, 1999; Wall, 1999; Piedrahita, 2000; Niemann y Kues, 2000).

Esta biotecnología, está siendo aplicada básicamente mediante la utilización de tres metodologías (Pintado y Gutiérrez, 1996 y 1998; Murray *et al.*, 1999), cuya descripción breve se presenta a continuación:

1. **Microinyección al embrión:** Se basa principalmente en la introducción de genes en el ADN de embriones en sus primeros estadios de desarrollo, su aplicación es fundamentalmente igual en todos los tipos de animales, con algunas particularidades principalmente debidas al alto contenido de grasa en el citoplasma de algunos embriones como los de cerdo, lo cual impiden la microinyección; sin embargo, es la metodología usada internacionalmente.
2. **Uso de vectores virales o bacterianos:** Está basada en el uso de virus o bacterias genéticamente modificados que sirven como transportadores para introducir a al gen (s) en el interior del embrión. Aunque su uso puede estar limitado a ciertos tipos de laboratorios con características específicas en su control higiénico-sanitario, en la actualidad, toma importancia en las industrias y organizaciones ganaderas donde la producción de aminoácidos es importante; ya que ciertas bacterias como la *E. coli*

pueden ser capaces de elaborar ciertos aminoácidos que los mamíferos han perdido la capacidad de producirlos (Biomédicas, 2001).

3. **Utilización de líneas celulares:** Esta metodología, se basa en la utilización de diferentes tipos de líneas celulares como: células embrionarias totipotentes –cuyo potencial biológico genético de desarrollo apenas se inicia- obtenidas de embriones en los primeros estadios de desarrollo; células germinales primordiales; espermatogonias y espermatozoides. Los dos primeros tipos de líneas celulares, han sido utilizadas en producción de animales transgénicos; las últimas, aún presentan una posibilidad para el futuro (Pintado y Gutiérrez, 1998).

En la actualidad, la microinyección de ADN y la transferencia nuclear son metodologías que ya presentan una posibilidad para producir animales de granja exitosamente (Murray *et al.*, 1999).

El uso y aplicaciones de animales transgénicos en las ciencias biológicas y especialmente en las Ciencia Veterinarias, son diversos. A continuación se presentan algunas de las áreas en las que se ha puesto énfasis, en los últimos años:

- Estudio molecular del desarrollo embrionario temprano y su regulación.
- Aumento en la eficiencia de la producción animal.
- Mejores estrategias en el diagnóstico y tratamiento de enfermedades de animales y humanos.
- Estudio de la función de genes específicos como la resistencia a enfermedades, tanto en animales como en el hombre.
- Producción de animales transgénicos (animales biorreactores), principalmente cerdos capaces de ser donantes de órganos para su implante a seres humanos, actualmente conocido como el xenotransplante, con el fin de corregir patologías que pueden presentar órganos vitales como riñones, hígado, corazón, entre otros (Pintado y Gutiérrez, 1998; Wall, 1999; Niemann y Kues, 2000; Piedrahita, 2000).

El estado actual del arte de la producción de animales de granja transgénicos, relativamente no ha cambiado desde hace un poco más de dos décadas, sin embargo, los avances tecnológicos en el desarrollo de métodos para la maduración *in vitro* de ovocitos, FIV y subsecuente producción de embriones podrían beneficiar al desarrollo de la biotecnología de la producción de animales transgénicos de granja.

El principal factor limitante en la producción de mamíferos transgénicos es la velocidad a la cual el ADN microinyectado es integrado dentro del genoma receptor. A la fecha, no se ha

investigado sobre el mecanismo responsable de tal integración. Una vez que el mecanismo (s) de integración sea conocido, podrá ser posible el desarrollo de técnicas para aumentar la velocidad de incorporación del transgen y de este modo obtener eficiencias significativas en la velocidad a la cual los mamíferos transgénicos pueden ser producidos (Murray *et al.*, 1999; Kornerup *et al.*, 2002).

A continuación se presentan las principales limitantes científicas que en la actualidad, presenta la transgénesis, con el fin de mejorar la eficiencia reproductiva y productiva de los animales de granja:

- Conocimiento referente a la base genética de los factores limitantes de los rasgos productivos.
- Identificación de tejido y secuencias regulatorias específicas para el uso en la construcción de genes, expresión de vectores y genes receptores.
- Establecimientos de metodologías modelos para aumentar la eficiencia en la producción de animales transgénicos.

La combinación de los avances recientes en biotecnologías de reproducción animal asistida, como las antes mencionadas, con los conocimientos disponibles en las áreas de la informática, electrónica y biología molecular, abren un horizonte prometedor para una nueva era en la optimización del potencial biológico de los animales, en relación al rendimiento reproductivo y productivo de las especies de mamíferos domésticos en beneficio de la humanidad.

BIBLIOGRAFÍA

- Axel Kornerup Hansen, Kirsten Dahl, Dorte Bratbo Sørensen, Ejvind Kemp y Svend Kirkeby. 2002. Xenotransplantation – State of the Art. Acta vet. scand. 2002, Suppl. 99: 7-12.
- Baker, R.D. y Polge, C. 1976. Fertilization in swine and cattle. Review article. Can. J. Anim. Sci., 56: 105-119.
- Baldassarre, H. 2005. Reproducción asistida en la especie caprina: inseminación artificial a clonación. Rev Bras Reprod Anim, Belo Horizonte, v.31, n.2, p.274-282,
- Berger, T. 1996. Fertilization in ungulates. Anim. Reprod. Sci., 42: 351-360.
- Bethausen, J.; Forsberg, E.; Augenstein, M.; Childs, L.; Eilertsen, K.; Enos, J.; Forsythe, T.; Golueke, P.; Jurgella, G.; Koppang, R.; Lesmeister, T.; Mallon, K.; Mell, G.; Misica, P.; Pace, M.; Pfister-Genskow, M.; Strelchenko, N.; Voelker, G.; Watt, S.; Thompson,

- S.; and Bishop, MC. 2000. Production of cooled pigs from *in vitro* systems. *Nature Biotech.*, 18: 1055-1059.
- Biomedicas.unam.mx/html/period97/sep11.html. Transgénesis: un camino para recuperar capacidades perdidas en la evolución. 2001.
- Córdoba, I.A. 1994. Capacidad fertilizante *in vitro* del semen porcino descongelado. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. CBS. México.
- Córdoba, A., Ducolomb, Y., Jiménez, Y., Casas, E., Bonilla, E. and Betancourt, M. 1997. *In vitro* fertilizing capacity of frozen-thawed boar semen. *Theriogenology*. 47: 1309-1317.
- Córdoba, A. 1999. Respuesta del semen congelado de verraco en la fecundación *in vitro*. Tesis Doctoral. Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense de Madrid, España.
- Córdoba, A., Pérez, JF., Lleo, B., García, C. and Martín Rillo, S. 2001. *In vitro* fertilizing capacity of deep frozen boar semen packaged in 0.5 and 5 ml straws. *Reprod. Dom. Anim.* 36: 199-202.
- Eduardo, O.Melo; Aurea, M.O; Canavessi Mauricio y M. Franco Rodolfo Rumpf. 2007. Animal transgenesis: state of the art and applications. *J. Appl. Genet.* 48(1): 47-61.
- E. Guasch, M. Ardoy, C. Cuadrado, P. González Gancedo, A. González, F. Gilsanz. 2005. Comparación de cuatro técnicas anestésicas para fecundación *in vitro*. *Rev. Esp. Anestesiol. Reanim.* 52: 9-18.
- Edwards, R.; Bavister, B. y Steptoe, P. 1969. Early stages of fertilization *in vitro* in human oocytes matured of *in vitro*. *Nature*, 22: 1632.
- Galli, C.; Crotti, G.; Notari, C.; Turimni, P.; Duchi, R. and Lazzari, G. 2001. Embryo production by ovum pick up from live donors. *Theriogenology*, 55: 1341-1357.
- Gandolfi, F. 2001. The mammalian oocyte: from basic biology to biotechnology through assisted reproduction. *Theriogenology*, 55: 1192.
- Larsson, B. and Rodríguez-Martínez, H. 2000. Can we use *in vitro* fertilization tests to predict semen fertility. *Anima. Reprod. Sci.*, 60-61: 327-336.
- Lilian Chuaire, Magda Carolina Sánchez y María Liliana Franco. 2004. Clonación animal: Avances y perspectivas. *Colombia Médica* 35: 101-11.
- Martínez, E.; Vázquez, J.M. y Roca, J. 1996. Fecundación *in vitro* en la especie porcina. En: *Nuevas Técnicas de Reproducción Asistida Aplicada a la Reproducción Animal*. Coord. Garde, L.B.J. y Gallego, M.L. Ediciones de la Universidad de Castilla-La Mancha. Cuenca. pp: 139-159.
- Ménézo, Y.J.R.; Veiga, A. And Pouly J.L. 2000. Assisted reproductive technology (art) in humans: Facts and uncertainties. *Theriogenology*, 53: 599-610.

- Merchant-Larios, H. 1998. Bases biológicas de la clonación. Nueva opción reproductiva?. TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas, 1(1): 30-37.
- Niemann H. And Kues, W.A. 2000. Transgenic livestock: premises and promises. Anim. Prod. Sci., 60-61: 227-293.
- Miyamoto, H. y Chang, M.C. 1973. Fertilization of rat eggs *in vitro*. Biol. Reprod., 9: 384-393.
- Niwa, K. y Chang, M.C. 1975. Effect of pretreatment of rat spermatozoa with high concentrations of NaCl on sperm capacitation and fertilization of eggs *in vitro*. Biol. Reprod., 13: 187-189.
- Ocampo, M.B.; Ocampo, L.C.; Ryu, I.S.; Mori, T.; Ueda, J. Y Kanagawa, H. 1994. Effects of culture time, ovarian activity, cumulus cells and sera the nuclear and cytoplasmic maturation of pig oocytes *in vitro*. Anim. Reprod. Sci., 34: 135-146.
- Piedrahita, J.A. 2000. Targeted modification of the domestic genome. Theriogenology, 53: 105-116.
- Murray, J.D.; Anderson, G.B. and Oberbaver, A.M. 1999. Transgenic farm animals. En Edit. Murray, J.D. Trnasgenic animals in Agriculture. CABI, USA: 1-17.
- Pintado, S. B. Y Gutiérrez, A.A. 1996. Biotecnología, transgénesis y producción animal. En: Coord. Garde, L.B.J. y Gallego, M.L. Nuevas Técnicas de Reproducción Asistida Aplicada a la Reproducción Animal. Ediciones de la Universidad de Castilla-La Mancha. Cuenca. pp: 139-159.
- Pintado, B. Y Gutiérrez-Adan, A. 1998. Obtención, aplicaciones y prospectiva de los cerdos transgénicos. Tratado de Ganado Porcino. Porci Aula Veterinaria, 45: 15-33.
- Shamsuddin, M.; Niwa, K.; Larsson, B. y Rodriguez-Martinez. 1996. *In vitro* maturation and fertilization of bovine oocytes. Reprod. Dom. Anim; 31: 613-622.
- Smith, D. and Niemann, H. 1999. Biotechnology in genetics and reproduction. Livestock Production Science, 59: 207-221.
- Rath,D. 1991. *In vitro* fertilization (IVF) in pigs. Reprod. Dom. Anim. Suppl. 1: pp 199-211.
- J.M. Robledo Verduzco; J. Herrera-Camacho; M. Cajero-Juárez; M.C. Navarro-Maldonado y A. García-Valladares. 2009. Evaluación de dos medios de maduración *in vitro* para la producción de embriones ovinos. Tropical and Subtropical Agroecosystems 10: 95 – 99.
- J. Ruiz, JE Correaa y M Martínez .2010. Vitricación de ovocitos bovinos y su uso en el desarrollo partenogénico de embriones. Arch Med Vet 42: 79-83.
- Roca, J.; Martínez, E.A.; Vázquez, J.M.; Matás, C.; Lucas, X. y Blanco, O. 1997. Penetrabilidad de ovocitos de cerda madurados *in vitro*. Arch. Reprod. Anim., 3: 6-11.

- Telfer, E.E. 1998. *In vitro* models for oocyte development. *Theriogenology*, 49: 451-460.
- Töpfer-Petersen, E. 1996. Molecular mechanism of fertilization in the pig. *Reprod. Dom. Anim.*, 31: 93-100.
- Toyoda, Y. y Chang, M.C. 1974. Fertilization of rat eggs in vitro by epididymal spermatozoa and the development of eggs following transfer. *J. Reprod. Fert.*, 36: 9-22.
- Vázquez Rojas, J.M. 2010. Horizontes en biotecnología de la reproducción animal. Discurso de ingreso. Academia de Ciencias de la Región de Murcia, España: 1-94.
- Villalpando, A.A. y Sánchez, G.P. 1998. *Rev. Salud. Milit.Méx.*, 52(4): 220-224.
- Wall, R.J. 1999. Biotechnology for the production of modified and innovative animal products: transgenic livestock bioreactors. *Livestock Animal Production*, 59: 243-255.
- Wassarman, P.M. 1994. Gamete interactions during mammalian fertilization. *Theriogenology*, 41: 31-44.
- Wassarman, P.M. 1995. Mammalian fertilization: egg and sperm (glyco) proteins that support gamete adhesion. *Am. J. Reprod. Im.*, 33: 253-258.
- Whittingham, D.G. 1968. Fertilization of mouse eggs *in vitro*. *Nature*, 220: 592-593.
- Westhusin, M.E.; Long, C.R.; Shin, T.; Hill, J.R.; Looney, C.; Pryor, J.H. and Piedrahita, J.A. 2001. Cloning to reproduce desired genotypes. *Theriogenology*, 55: 35-49.