

“Calidad embrional en bovinos de carne en función de dos tratamientos hormonales”

Cruz Lucas A., Gianella Rocío, Pereda María B., Romanutti Agustín

Tutoras: Dra. Balzarini Mónica

Dra. Peña Malavera Andrea Natalia



“Calidad embrional en bovinos de carne en función de dos tratamientos hormonales”

Cruz Lucas A., Gianella Rocío, Pereda María B., Romanutti Agustín

Tutores: Dra. Balzarini Mónica

Dra. Peña Malavera, Andrea Natalia

RESUMEN

Se modelizó la relación entre cantidad y calidades de embriones pertenecientes a dos razas británicas (*Aberdeen Angus* y *Limousin*) y una raza cruce (*Brangus*) ya que la problemática a tratar se basa en la baja calidad de los embriones para transferencia en bovinos de producción de carne. Se utilizaron dos protocolos hormonales (*rFSH* y *SRF*) estimulantes de la foliculogénesis en un total de 26 vacas adultas.

Los datos fueron analizados con el modelo lineal generalizado y mixto bajo distribución *Poisson* para la variable cantidad de embriones de calidad superior (Gr 1). Los resultados mostraron que los tratamientos hormonales presentan diferencia significativa en la calidad de los embriones (Gr 1) según sea la raza en cuestión. Pudiendo concluir que la hormona *rFSH* generó mayor respuesta en las razas puras, mientras que la *SRF* 0,5 tuvo mejor respuesta en la raza *Brangus*.

Palabras Clave: *Aberdeen Angus- Limousin, Raza Cruza Brangus, Protocolo Hormonal.*

CONTENIDOS

I.OBJETIVOS

II.INTRODUCCION

II.I- Transferencia de embriones.

II.II-Superovulación.

II.III-Calidad embrional.

III.MATERIALES Y METODOS

III.I-Descripción de la información.

III.II-Análisis Estadístico.

IV.RESULTADOS Y DISCUSION

IV.I-Estadística Descriptiva.

IV.II-Modelos Generalizados y Mixtos.

IV.III-Análisis Multivariado.

V.CONCLUSION

VI.REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

INDICE DE TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1: Pruebas de hipótesis secuenciales para los efectos fijos. ...Pág.11

Fig. 1: Estructura embrional. 1. Zona pelúcida, 2. Masa celular, 3. Espacio perivitelino. ... Pág. 7

Fig. 2: Estadios embrionales. 1. Mórula compacta, 2. Infertilizados, 3. Mórulas tempranas, 4. Infertilizado. ...Pág. 8

Fig. 3: Gráfico de barras apiladas. Acción de rFSH sobre las distintas razas en la obtención de diferentes calidades de embriones. ...Pág. 10

Fig. 4: Gráfico de barras apiladas. Acción de SRF sobre las distintas razas en la obtención de distintos grados de embriones. ...Pág. 11

Fig. 5: Gráfico de barras. Test LSD Fisher para comprobación de hipótesis. Test LSD de Fisher. ... Pág. 12

Fig. 6: Gráfico de barras. Cantidad de Embriones Calidad Superior con tratamiento hormonal = rFSH 60 ug y SRF 0,5 para las razas AA (*Aberdeen Angus*), *Limousin* y *Brangus*. ... Pág. 13

Fig. 7: Correlación entre las distintas hormonas y las diferentes razas. ...Pág. 14

Fig. 8: Análisis de conglomerados para las razas *Brangus*, *Limousin* y *Aberdeen Angus*. ...Pág. 14

I- OBJETIVOS

I.I- OBJETIVO GENERAL

Contribuir a la mejora de las biotecnologías reproductivas en bovinos para producción de carne.

I.II- OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Cuantificar la cantidad y calidad de embriones Grado 1 (Superior) en tres razas para producción de carne.
- Evaluar la incidencia de dos protocolos hormonales en la producción de embriones de calidad superior en razas bovinas para carne.

II- INTRODUCCION

En los últimos tiempos la población mundial ha crecido en gran medida demandando productos de mayor calidad con atributos muy diferentes a los que generaciones pasadas ofrecían a los mercados. Por lo anteriormente enunciado, es que relacionamos dicha situación con la producción de bovinos para carne y la gran especialización que demanda el mercado en todos los eslabones de la cadena productiva.

El mejoramiento de las biotecnologías reproductivas, como es el caso de la transferencia embrional ha tomado gran relevancia en la producción pecuaria en general, gracias a los grandes avances científicos- tecnológicos hoy en día podemos reproducir individuos de gran mérito genético-productivo en un laboratorio y luego mediante especialistas llevarlos a nuestros campos logrando la mejora continua de nuestros sistemas (Cabodevila, 1997).

Este gran aporte de la ciencia y de la tecnología por supuesto está relacionado a una especialización y capacitación constante del personal, algo muy solicitado en evaluación de calidad embrional. Además, nos permite obtener resultados óptimos tanto productivos, reproductivos y económicos ya que la mano de obra especializada infiere relativamente en baja cantidad en los costos pero en gran medida en los resultados esperados.

La clasificación y evaluación de los embriones requiere de habilidad y experiencia por parte de técnicos y profesionales que comienzan a trabajar con esta biotecnología reproductiva.

II.I- Transferencia de embriones

Dicho proceso consiste en la recolección de los embriones concebidos de una vaca donante y transferidos a otra receptora, para que ésta última sirva como madre sustituta durante el periodo gestacional.

El proceso básicamente consiste en:

- Tratar con hormonas a una hembra donante para inducirle una superovulación.
- Fecundar estos óvulos mediante inseminación artificial.
- Extraer los embriones del útero.
- Trasplantar cada uno de los embriones viables a una hembra receptora, que se encuentra sincronizada en su ciclo estral con hembras donantes.

II.II- Superovulación

Para lograr la ovulación múltiple en las hembras donantes de embriones transferibles se utilizará un protocolo hormonal a base de:

- *rFsh*: hormona producida por la hipófisis que interviene en el desarrollo y crecimiento folicular
- *SRF*: es una variante de la FSH pero de liberación lenta.

II.III- Calidad Embrional

Los embriones se buscan con microscopio en medio de conservación dentro una caja de Petri para su posterior clasificación. El técnico puede contar las células del embrión sin dificultad hasta que este tiene 16 células, luego de esto, las células se dividen asincrónicamente e identificarlas se hace un poco difícil. Cuando las células comienzan a adherirse entre ellas y comienzan a perder su forma esférica el embrión recibe el nombre de **mórula**.

La zona pelúcida se observa como una estructura transparente que rodea a las células. Entre la zona pelúcida y las células existe un espacio llamado **espacio peri vitelino**. Este espacio peri vitelino es identificable hasta que el embrión se encuentra en estado de **blastocisto**.



Fig. 1: Estructura embrional 1. Zona pelúcida; 2. Masa celular; 3. Espacio perivitelino.

En un lavado convencional los embriones son colectados entre los días 6 y 8, osea entre mórula y blastocisto. Los estadios del embrión son los siguientes:

- **Estado 1:** Infertilizado
- **Estado 2:** de 2 a 16 células
- **Estado 3:** Mórula temprana
- **Estado 4:** Mórula
- **Estado 5:** Blastocisto temprano
- **Estado 6:** Blastocisto
- **Estado 7:** Blastocisto expandido
- **Estado 8:** Blastocisto eclosionado
- **Estado 9:** Blastocisto eclosionado en expansión

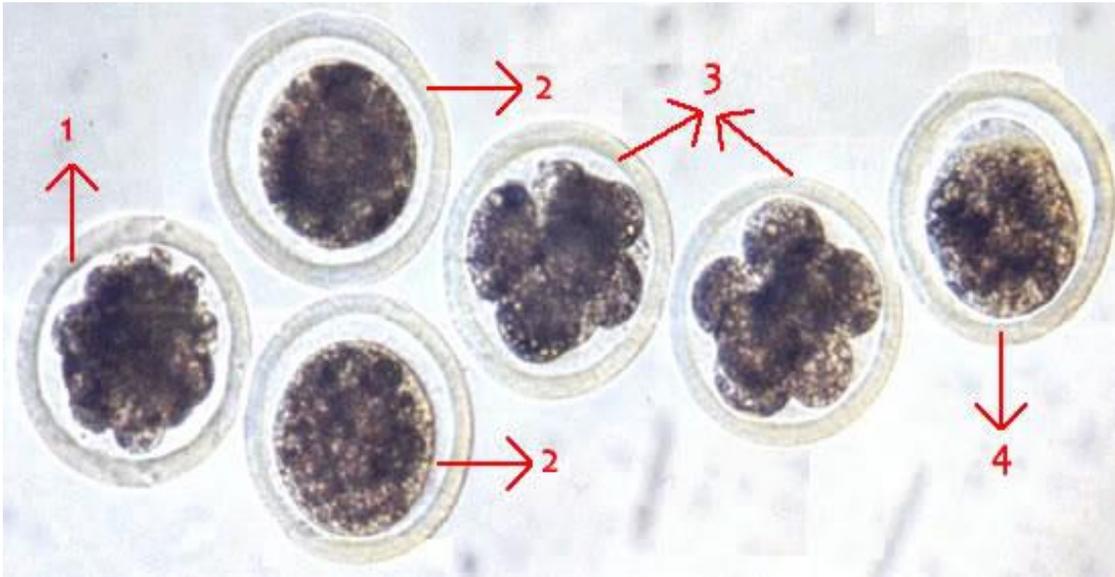


Fig.2: Estadios embrionales 1. Mórula compacta, 2. Infertilizados, 3. Mórulas tempranas, 4. Infertilizado.

En la imagen anterior en la mórula compacta no podemos diferenciar bien las células mientras que en las mórulas tempranas sí. Los no fertilizados los identificamos porque su interior es un óvalo bien delimitado y al observarlo detenidamente vemos que éste interior está compuesto no por bordes (segmentos) sino por gránulos (estructura de puntillismo).

La evaluación se realiza de acuerdo a sus características morfológicas. Estas características son subjetivas y pueden variar de un técnico a otro. Las características que debemos tener en cuenta para calificar un embrión son:

1. Forma del embrión
2. Color y textura de la masa celular
3. Diferencia de tamaño entre las blastómeras
4. Número y nivel de compactación de las blastómeras
5. Tamaño del espacio perivitelino
6. Presencia de blastómeras sueltas o separadas
7. Presencia o ausencia de vesículas
8. Forma y estado de la zona pelúcida

De acuerdo a los criterios mencionados, obtenemos las distintas calidades de embriones:

Calidad 1: Embriones excelentes y buenos. Son embriones esféricos, simétricos con células de tamaño, color y texturas uniformes. Puede haber pequeñas imperfecciones como algunas blastómeras sueltas, tamaño irregular o algunas vesículas. Estos embriones son los ideales para congelar.

Calidad 2: Embriones regulares. Tienen problemas más definidos incluyendo blastómeras sueltas, vesículas o células degeneradas. Estos embriones pueden ser congelados pero se obtendrán resultados bajos. Sin embargo son embriones aceptables para ser transferidos en fresco (de donadora a receptora directamente sin congelación).

Calidad 3: Embriones malos. Numerosas blastómeras sueltas, células degeneradas. Células de distinto tamaño, color y textura, formas irregulares. Numerosas vesículas. No se deben congelar y al ser transferidos en fresco dan pobres resultados.

III- MATERIALES Y MÉTODOS

III.I-Descripción de la información

Se utilizaron datos pertenecientes a 26 animales de las razas AA, *Limousin* y *Brangus* obtenidos de registros que provienen de un análisis experimental realizado por una empresa privada dedicada a las biotecnologías reproductivas en bovinos. Además se realizó un ensayo comparativo de calidad embrional para las distintas razas recibiendo cada receptora los óvulos fecundados en un diseño completamente aleatorizado.

III.II- Análisis Estadístico

En primer lugar se realizó un análisis descriptivo para lo que se construyó una tabla de medidas resumen que sirve para describir en forma resumida el conjunto de datos. A partir de esto obtuvimos valores promedios de la cantidad de embriones de distintas calidades para cada raza de acuerdo a la acción de las distintas hormonas.

El siguiente paso fue comprobar la existencia de los supuestos de homogeneidad, normalidad e independencia correspondientes a los Modelos Lineales Generales, lo cual determinó que los valores de residuos y valores predichos presentan gran variabilidad para la calidad de los embriones analizados, motivo por el cual no se cumple el supuesto de homogeneidad de la varianza. Los datos provenientes de una variable respuesta por conteo, fueron abordados con un Modelo Lineal Generalizado y Mixto bajo distribución Poisson, la que describe el número de eventos individuales que ocurren en un periodo de tiempo como serían en nuestro caso la cantidad de embriones grado 1 recolectados.

Por último se realizó un análisis de datos multivariados para estudiar el comportamiento de las variables raza y tipo de hormonas para fortalecer las conclusiones.

Todos los análisis se realizaron usando el software InfoStat (Di Rienzo et al., 2016).

IV- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

IV.I- Estadística Descriptiva

Se presentan los resultados de la estadística descriptiva en los siguientes gráficos. En la figura nº3 observamos la acción de la hormona *rFSH* sobre las distintas razas estudiadas y se puede concluir que sobre la raza *Brangus* no generó ningún tipo de acción; para la raza *AA* solo dio embriones de grado 1 y para la raza *Limousin* también obtuvimos mayor proporción de embriones grado 1, pero ningún embrión de mala calidad.

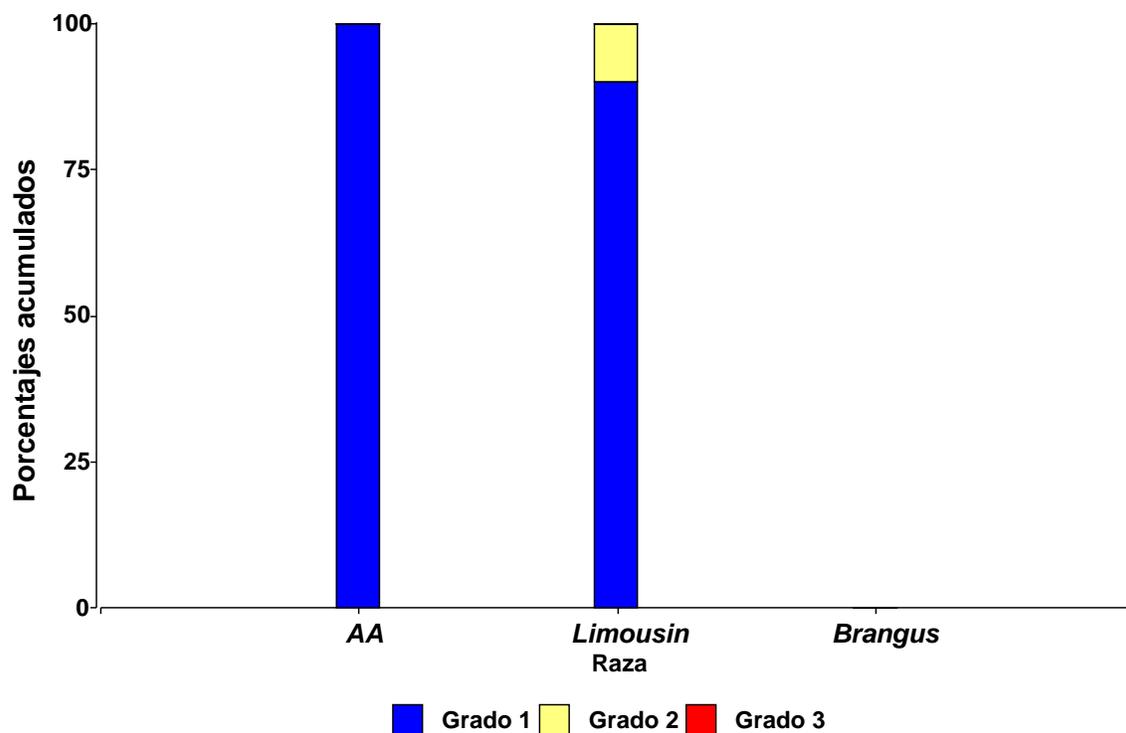


Fig. 3: Acción de *rFSH* sobre las distintas razas en la obtención de diferentes calidades de embriones.

En la figura nº4 analizamos la acción de la hormona SRF, en donde obtuvimos los siguientes resultados: la raza *AA* no generó ningún embrión grado 1, pero sí embriones de tipo 2 y 3, con respecto a la raza *Limousin* podemos ver que la mayor proporción de embriones generados fue grado 3 y por último la raza *Brangus* que actuó mejor con esta hormona ya que además de generar embriones, la mayor cantidad observada es de embriones grado 1.

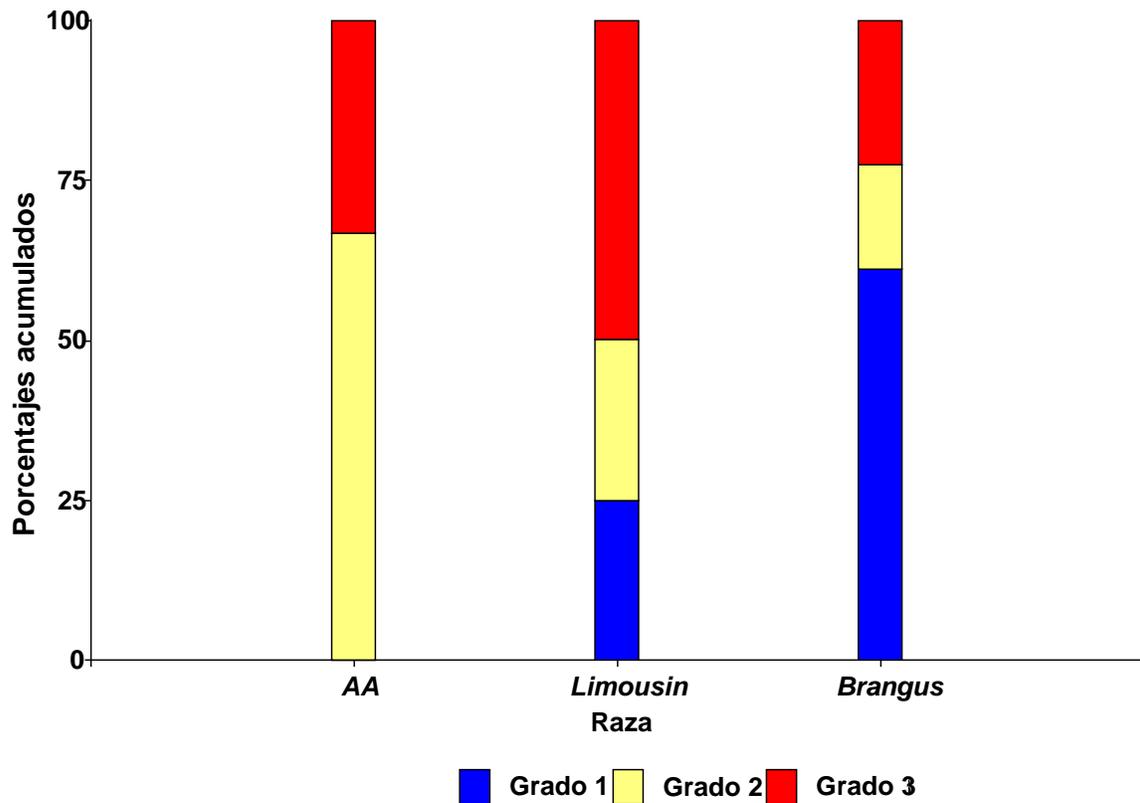


Fig. 4: Acción de SRF sobre las distintas razas en la obtención de distintos grados de embriones.

IV.II- Modelos generalizados y mixtos.

Los datos analizados con la distribución de *Poisson* corresponden a las tres calidades embrionales pero solo se analizará la de mayor interés grado 1 basándonos en el planteo de hipótesis a comprobar con un nivel de significancia $\alpha = 0,05$.

La Hipótesis planteada a comprobar es que al menos una de las calidades embrionales presenta una diferencia estadísticamente significativa con interacción entre razas y hormonas.

Tabla 1: Pruebas de hipótesis secuenciales para los efectos fijos

	Df	Deviance	Resid. Df	Resid. Dev	Pr(>Chi)
NULL			25	159,6	
Raza	2	18,5	23	141,1	0,0001
Hormona	1	16,1	22	125,0	0,0001
Raza: Hormona	2	53,7	20	71,4	<0,0001

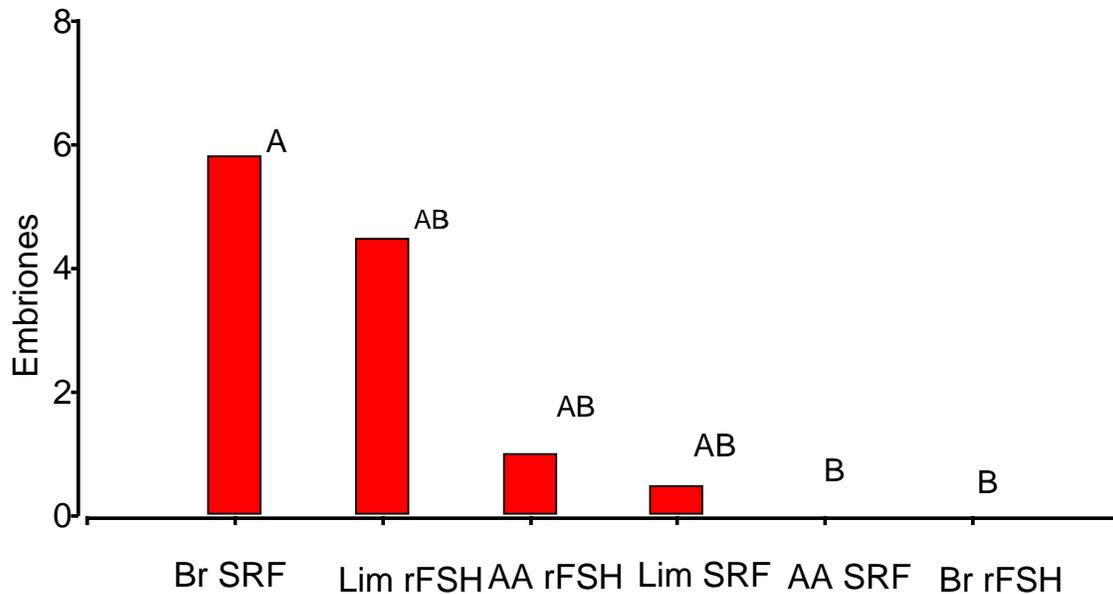


Fig. 5: Test LSD Fisher.

El valor $P = 0,0001$ para la interacción (RAZA – HORMONA) obtenido nos determina que al ser menor al nivel de significancia de 0,05 se rechaza la hipótesis nula y aceptamos la hipótesis alternativa afirmando que hay una diferencia estadísticamente significativa en al menos uno de los tratamientos.

La calidad embrional superior (G1) de gran interés no se presenta de igual forma en todas las razas analizadas, pudiendo estimar que ambos tratamientos hormonales tienen un efecto positivo en general pero dependiendo de la raza se presenta un efecto superior. Como a continuación se puede apreciar la raza *Limousin* respondió con mayor cantidad de embriones G1 frente al tratamiento hormonal de rFSH arrojando un valor de 4 embriones de calidad superior, seguida por la raza *Aberdeen Angus* con un valor aproximado entre 1 y 2 embriones y no siendo así la raza *Brangus* que presentó la menor cantidad de embriones G1.

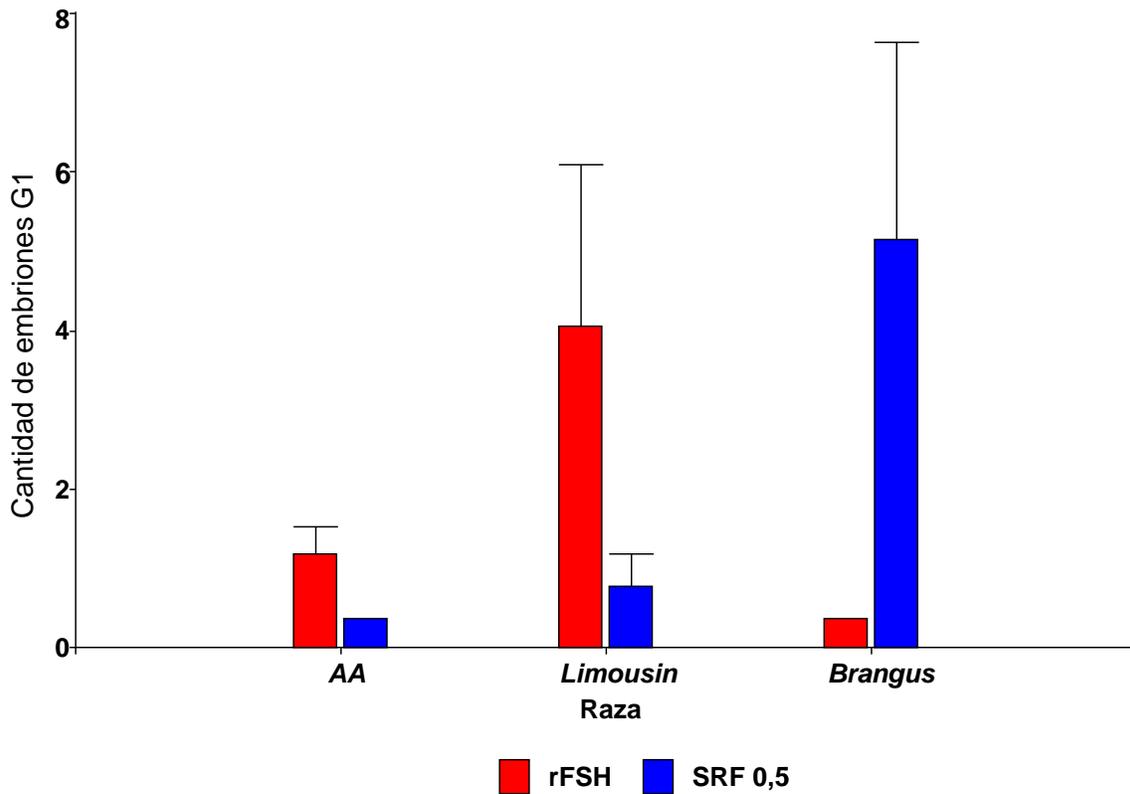


Fig. 6: Cantidad de Embriones Calidad Superior con tratamiento hormonal = rFSH 60 ug y SRF 0,5 para las razas AA (*Aberdeen Angus*), *Limousin* y *Brangus*.

En relación al tratamiento hormonal de liberación lenta (SRF 0,5) vemos que la raza que mejor responde y genera mayor cantidad de embriones calidad superior fue *Brangus* con 6 embriones G1, mientras que las razas Británicas AA y *Limousin* no llegaron a superar la cantidad de 1 embrión (Fig. 6).

IV.III- Análisis multivariado

Realizamos este tipo de análisis con la finalidad de analizar de forma simultánea el conjunto de datos y a partir de esto corroborar los resultados obtenidos anteriormente. En la figura 7 se observa que el comportamiento de la hormona SRF es similar para razas AA y *Limousin*, siendo buena para la raza *Brangus*, ya que esta se encuentra próxima a los embriones grado 1 y 2; y con respecto a la hormona rFSH tiene una acción positiva en la obtención de embriones grado 1 para la raza *Limousin*.

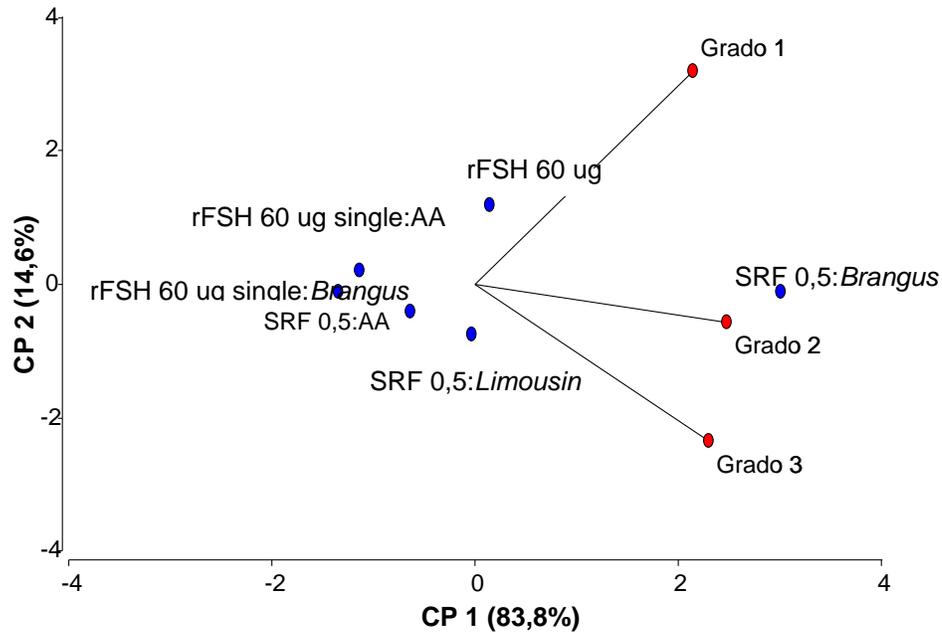


Fig. 7: Correlación entre las distintas hormonas y las diferentes razas.

Además, como se puede apreciar en la figura 8, a través del análisis de conglomerados de las variables calidades de embrión (G1, G2 y G3) para cada una de las razas (*Brangus*, *Limousin*, *Aberdeen*) con ambos tratamientos hormonales, observamos que razas Británicas AA y *Limousin* presentan un comportamiento similar ante el tratamiento hormonal con SRF y a su vez distinta a *Brangus* la cual manifestó una respuesta mayor a dicho tratamiento hormonal.

Distancia: (Euclidea) - SRF 0,5

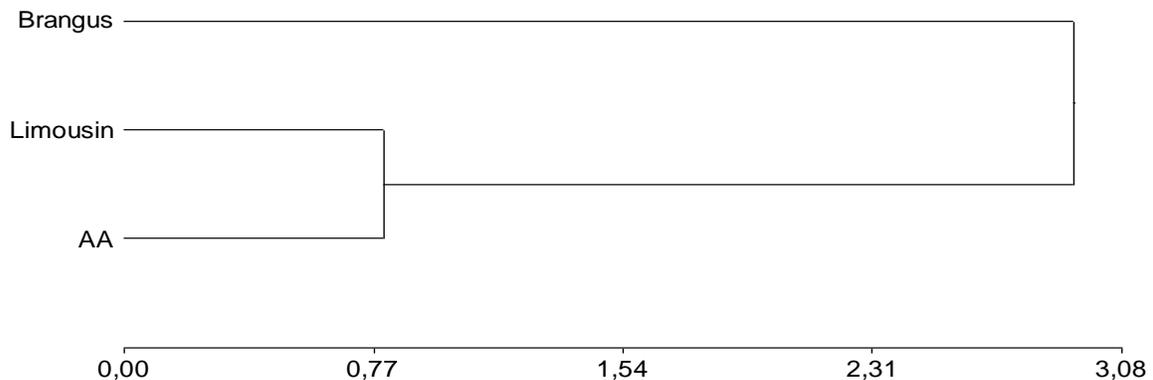


Fig. 8: Análisis de conglomerados para las razas *Brangus*, *Limousin* y *Aberdeen Angus*.

V- CONCLUSION

A lo largo del análisis presentado pudimos determinar que hay una diferencia estadísticamente significativa entre las razas intervinientes y los tratamientos hormonales para la obtención de embriones de calidad superior grado 1, pudiendo concluir que la raza *Brangus* responde mejor al protocolo hormonal con SRF que las razas *Aberdeen Angus* y *Limousin*, quienes al contrario se diferenciaron más por el protocolo hormonal con rFSH.

VI- REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- <http://jairoserrano.com/2009/12/calificacion-y-clasificacion-embrionaria/>
- http://.fmvz.unam.mx/fmvz/e_bovina/10ReproduccionBovina.pdf
- Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M., Robledo C.W. InfoStat versión 2016. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>
- Balzarini, M.G. Gonzalez L, Tablada M, Casanoves F, Di Rienzo J.A, Robledo C.W.2008. InfoStat. Manual del Usuario, Editorial Brujas, Córdoba, Argentina.
- Menajovsky, J., Alvarez C., Tribulo R., Carcedo J. A. 2014. Material de apoyo bibliográfico Área de reproducción animal Parte I
- Menajovsky, J., Alvarez C., Tribulo R., Carcedo J. A. 2014. Material de apoyo bibliográfico Área de reproducción animal Parte II
- Becaluba, F., A. 2007. Factores que afectan la superovulación en bovinos.