



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN

ESTUDIO CITOGENÉTICO DE CUATRO SEMENTALES
BOVINOS DE LA FES-CUAUTITLÁN.

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA
P R E S E N T A :
ORQUÍDEA MEDINA DELGADO

Asesores: Dra. Sandra Díaz Barriga Arceo.
Dr. Benito López Baños.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

C. N. A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLAN



DRA. SUEMI RODRIGUEZ ROMO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
P R E S E N T E

DEPARTAMENTO DE

ATN: L. A. ARACELI HERRERA HERNANDEZ
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la Tesis:

Estudio Citogenético de cuatro sementales bovinos de la
FES- Cuautitlán.

que presenta la pasante: Orquídea Medina Delgado

con número de cuenta: 40201226-3 para obtener el título de:
Química Farmacéutica Bióloga

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 21 de Mayo de 2008.

PRESIDENTE	<u>Dra. Sandra Díaz Barriga Arceo</u>	
VOCAL	<u>QFB. Martha Patricia Zúñiga Cruz</u>	
SECRETARIO	<u>QFB. Rosalba Bonilla Sánchez</u>	
PRIMER SUPLENTE	<u>MC. Verónica Castro Bear</u>	
SEGUNDO SUPLENTE	<u>MC. Maritere Domínguez Rojas</u>	

Agradecimientos.

A Dios.

Ya que sin él no hubiera sido nada de lo que soy ni nada de lo que tengo. Gracias por darme una gran familia y la oportunidad de llegar hasta aquí. Acompáñanos en cada paso que damos, en la vida que llevamos, para que sigamos siendo un hogar.

A la UNAM.

Sobre todo a la FES-Cuautitlán, a la cual le estaré siempre agradecida por darme la oportunidad de crecer tanto académicamente como personalmente.

A mis profesores.

Porque me brindaron de su conocimiento para poder trascender en la vida y seguir aprendiendo de ella, ya que siempre hay algo nuevo. Gracias por su tiempo y dedicación, por ser mis asesores y amigos.

A mis asesores de tesis.

A la Dra. Sandra Díaz Barriga Arceo y el Dr. Benito López Baños por el tiempo, las experiencias y el conocimiento compartidos durante la realización de este proyecto. A sido una grata experiencia. Gracias por su apoyo y confianza. De igual manera agradezco la colaboración del Dr. Armando Enrique Esperón Sumano por la ayuda proporcionada en las tomas de muestra y los datos aportados.

Dedicatorias.

A mi familia.

Porque a pesar de los tiempos difíciles seguimos juntos y espero siempre sea así. Que no importando el problema o situación que se presente podamos salir adelante como familia.

A mis padres.

Por el esfuerzo, ejemplo y confianza que siempre me han otorgado. Por sus consejos, su cariño, su apoyo; por proveerme de lo que necesito para seguir adelante en mi camino. Gracias por incitarme cuando creía que desistir era la solución, por apoyarme cuando las cosas no salen bien y por hacerme saber y sentir que siempre habrá un lugar para mí donde quiera que me encuentre. Que es un gran honor tenerlos como padres, LOS QUIERO MUCHO.

A mi hermano.

Que aunque la vida no nos permite convivir mucho, siempre estas ahí para apoyarme. A pesar que tenemos distintos puntos de vista, eres mi hermano y estas conmigo en los tiempos malos, en los buenos, cuando eh llorado y cuando eh sonreído, cuando tengo que tomar una decisión, para aconsejarme y decirme que no importa lo que pase siempre voy a contar contigo. Quiero que sepas que te quiero mucho hermano y que siempre estaré junto a ti en lo que necesites, cuídate mucho.

A mis amigos, sí, a todos y cada uno.

Realmente eh tenido la gracia y dicha de tener unos regalos magníficos que son cada uno de ustedes a lo largo de mi camino en esta vida. Cada quien en su tiempo que es muy grato que todavía sigan a mi lado. Por los momentos compartidos, las alegrías, tristezas, los momentos inolvidables y los no tan deseables pero que nos hacen ser mejores personas como para nosotros mismos y nuestro prójimo. Por su apoyo incondicional, por sus terapias (por escucharme), porque a pesar del tiempo y la distancia ustedes son y siguen siendo una pieza importante en esta vida, gracias de todo corazón!!

ÍNDICE

INDICE DE FIGURAS Y TABLAS.....	6
A. OBJETIVO GENERAL.....	9
B. HIPÓTESIS.....	9
INTRODUCCIÓN.....	10
I. MARCO TEÓRICO	
CAPÍTULO 1. LA CITOGENÉTICA ANIMAL	13
1.1. BASES CROMOSÓMICAS DE LA HERENCIA	13
1.2. TÉCNICAS PARA EL ESTUDIO CROMOSÓMICO	16
1.3. LAS APLICACIONES DE LA CITOGENÉTICA	20
1.4. EL CAMPO DE LA CITOGENÉTICA ANIMAL.....	21
CAPITULO 2. LAS ALTERACIONES GENÉTICAS COMO CAUSA DE INFERTILIDAD	
2.1. MUTACIONES GÉNICAS.....	23
2.2. ALTERACIONES CROMOSÓMICAS.....	26
2.3. EFECTOS DEL AMBIENTE.....	44
CAPITULO 3. IMPORTANCIA DE LOS ESTUDIOS GENÉTICOS Y DEL SEMEN EN ANIMALES SEMENTALES.	
3.1. MEJORAMIENTO GENÉTICO.....	51
3.2. SELECCIÓN DE SEMENTALES	56
3.3. MANEJO DE PORTADORES.....	60
3.4. INSEMINACIÓN ARTIFICIAL.....	61
3.4.1. EVALUACIÓN DEL SEMEN ANTES DE CONGELACIÓN.....	62
3.4.2. EVALUACIÓN DEL SEMEN DESPUÉS DE CONGELACIÓN....	64
CAPITULO 4. TOROS SEMENTALES	
4.1. DIFERENTES CARIOTIPOS E IDEOGRAMA DE BOVINOS.....	68
4.2. ALGUNAS GENERALIDADES DE LA RAZA JERSEY.....	77
4.3. ALGUNAS GENERALIDADES DE LA RAZA SIMMENTAL.....	78
II. JUSTIFICACIÓN.....	81
III. MATERIAL Y REACTIVOS.....	82
IV. DESARROLLO EXPERIMENTAL.....	84
V. RESULTADOS.....	87
VI. DISCUSIÓN.....	98
VII. CONCLUSIONES.....	105
VIII. GLOSARIO.....	107
IX. APÉNDICE.....	115
X. REFERENCIA.....	117

ÍNDICE DE FIGURAS.

Figura 1. (a) Metafase de toro observada en microscopio óptico. (b) Cariotipo de un toro macho normal	14
Figura 2. Morfología cromosómica según localización del centrómero.....	15
Figura 3. FISH de un núcleo interfásico humano.....	19
Figura 4. Pintado completo de cromosomas humanos.....	20
Figura 5. Ejemplo de una transición y una transversión.....	24
Figura 6. No disyunción de cromosomas sexuales durante la meiosis en un macho XY -Normal.....	27
Figura 7. Translocación recíproca balanceada y formación del cuadrivalente que involucra a los cromosomas 11 y 12 de humano.....	30
Figura 8. Formación de un cuadrivalente con sus respectivos gametos resultantes (de un verraco) en un individuo heterocigoto para la Translocación recíproca (1p-; 6q+).....	31
Figura 9. Origen de una fusión céntrica entre los cromosomas 1 y 29, en el ganado vacuno	33
Figura 10. Cariotipo normal de una vaca que es heterocigótica para la fusión céntrica 1/29	33
Figura 11. Dos ejemplos de trivalentes en meiosis I de carneros heterocigotos para una fusión céntrica entre los cromosomas 9 y 12	34
Figura 12. Formación de una inversión pericéntrica y paracéntrica.....	35
Figura 13. Orígenes de la delección	36
Figura 14. Efectos de un entrecruzamiento dentro de un lazo de inversión.....	36
Figura 15. Ejemplo de una duplicación.....	37
Figura 16. Formación de un cromosoma en anillo.....	37
Figura 17. Mecanismo de formación de un isocromosoma.....	38
Figura 18. Esquema de la expresión del sitio frágil del cromosoma X.....	39
Figura 19. (a) Esquema de un espermatozoide normal de humano, (b) Fotografía de un espermatozoide de toro.....	64
Figura 20. Cariotipo estándar de Bandeo QBH en ganado vacuno.....	69
Figura 21. Cariotipo estándar de Bandeo GTG en ganado vacuno.....	70
Figura 22. Cariotipo estándar de Bandeo GBG en ganado vacuno.....	71
Figura 24. Cariotipo estándar de Bandeo RBG en ganado vacuno.....	72
Figura 25. Bandeo G (izquierda) y Bandeo R (derecha) ideogramas de ganado vacuno.....	75
Figura 26. Fotografía que muestra la metafase de Quique como se observa al microscopio.....	89
Figura 27. Fotografía que muestra la misma metafase (de Quique) tratada con Photoshop.....	89
Figura 28. Cariotipo -normal- de Quique teñido completamente con Giemsa.....	90

Figura 29. Cariotipo -normal- de Quique utilizando Bando G.....	90
Figura 30. Fotografía que muestra la metafase de Beno como se observa al microscopio.....	91
Figura 31. Fotografía que muestra la misma metafase (de Beno) tratada con Photoshop.....	91
Figura 32. Cariotipo -normal- de Beno teñido completamente con Giemsa.....	92
Figura 33. Cariotipo -normal- de Beno utilizando Bando G.....	92
Figura 34. Fotografía que muestra la metafase de Juanito como se observa en el microscopio.....	93
Figura 35. Fotografía que muestra la misma metafase (de Juanito) tratada con Photoshop.....	93
Figura 36. Cariotipo -normal- de Juanito teñido completamente con Giemsa.....	94
Figura 37. Cariotipo -normal- de Juanito utilizando Bando G.....	94
Figura 38. Fotografía que muestra la metafase de Belcebú como se observa en el microscopio.....	95
Figura 39. Fotografía que muestra la misma metafase (de Belcebú) tratada con Photoshop.....	95
Figura 40. Cariotipo -normal- de Belcebú teñido completamente con Giemsa.....	96
Figura 41. Cariotipo -normal- de Belcebú utilizando Bando G.....	96

INDICE DE TABLAS.

Tabla 1. Número diploide de las especies domésticas más comunes.....	16
Tabla 2 Características de las principales bandas cromosómicas.....	17
Tabla 3. Los cigotos que pueden producirse teóricamente de todas las posibles combinaciones anormales respecto a los cromosomas sexuales	28
Tabla 4. Aberraciones cromosómicas en bovinos.....	43
Tabla 5. Grupo con ocho toros de la raza Brangus-Ibagé.....	57
Tabla 6. Promedios obtenidos de los datos proporcionados por el Laboratorio de Reproducción Animal de la FES - Cuautitlán, Campus 4.....	97

A. OBJETIVO GENERAL.

Realizar un estudio citogenético utilizando Bando G en sangre periférica de 4 toros sementales para descartar alguna anomalía cromosómica y poder considerarlos como buenos sementales (desde un punto de vista citogenético) para el uso de su semen en la inseminación artificial.

B. HIPÓTESIS

Si se realiza un estudio citogenético en los sementales bovinos en especial los usados como donadores de semen, entonces se detectarán a aquellos que presentan alteraciones cromosómicas y se podrán descartar a tiempo, impidiendo su heredabilidad a la descendencia.

INTRODUCCION

INTRODUCCIÓN.

La eficiencia reproductiva es el aspecto biológico más importante para la producción de ganado de leche y carne, por lo cual tiene un impacto económico apreciable (Vera, 1997).

Existen numerosos caracteres indeseables que se pueden presentar en el ganado bovino, y se manifiestan desde un pobre comportamiento productivo o determinados defectos estructurales, hasta enfermedades semi-letales o letales (Arroyo, 2007).

Son muchos los factores que pueden afectar la eficiencia reproductiva, entre ellos podemos mencionar la nutrición, las condiciones sanitarias de los reproductores, las condiciones físico ambientales en que viven los animales, la interacción entre el genotipo del animal y el medio ambiente, etc. Pero el factor que incide directamente en el éxito reproductivo del ganado, es el factor genético, el cual es determinante de características tan importantes como talla, resistencia a enfermedades, inicio de la madurez sexual, tasas de no retorno, fertilidad, habilidad materna, lactancia, etc (Arroyo, 2007, Vera, 1997).

En el caso de la Translocación Robertsoniana 1/29, una de las anomalías mejor estudiadas, que origina gametos cromosómicamente balanceados y desbalanceados, lo que ocasiona mortalidad embrionaria o el nacimiento de individuos tanto libres del problema como portadores de la anomalía cromosómica (Gustavsson, 1979).

Son anomalías en la estructura o la función del bovino que aparecen generalmente al nacer, y pueden ser responsables de una alta pérdida de terneros desde poco antes o hasta poco después del nacimiento; estos defectos se manifiestan como anomalías en el esqueleto, forma y funciones del cuerpo (Arroyo, 2007).

Algunos defectos congénitos pueden manifestarse de manera menos perceptible, variando desde la absorción prematura y mortandad temprana del embrión, hasta animales que tienen un comportamiento en general pobre, retrasos en el crecimiento e ineficiencia productiva, con vigor, fertilidad y longevidad reducidas (Arroyo, 2007).

Los embriones que están afectados por defectos congénitos severos nunca llegan a verse dado que se pierden poco tiempo después de la fertilización, y en estos casos lo más común es que se considere que la vaca no llegó a quedar preñada (Arroyo, 2007).

Hay defectos congénitos que son durante la preñez. La mayoría de ellos ocurren durante un lapso corto de la parición, en vacas que han tenido un mismo manejo; luego de un adecuado diagnóstico, hay que hacer cambios en las prácticas de manejo para corregir esta situación (Arroyo, 2007).

Los ajustes de las condiciones ambientales permiten reducir o eliminar las pérdidas ocasionadas por los defectos congénitos, mientras que los debidos a causas genéticas son mucho más difíciles de controlar y de corregir (Arroyo, 2007).

CAPÍTULO 1. LA CITOGÉNÉTICA ANIMAL.

1.1. BASES CROMOSÓMICAS DE LA HERENCIA.

La visión de los cromosomas al microscopio es un logro mayor del año 1956, cuando por primera vez Tjio y Levan obtuvieron una preparación metafásica de cromosomas humanos a partir del cultivo de fibroblastos de pulmón de un mortinato. En los años siguientes se perfeccionaron las técnicas para obtener cromosomas en diversas muestras, tales como sangre, médula ósea, trofoblasto, líquido amniótico y distintos tumores sólidos (Castillo, 2002).

Los cromosomas pueden ser visualizados en la mayoría de las células durante los procesos de división celular: mitosis y meiosis. La mitosis asegura la constancia del complemento cromosómico en las células somáticas y al final de cada división mitótica, las células hijas tienen dos copias. La meiosis es el mecanismo de división celular mediante el cual se producen los gametos (óvulos y espermatozoides), con un complemento cromosómico haploide (www.drscope.com).

Cariotipo.

Procesando adecuadamente un cultivo de linfocitos de sangre periférica o por medio de una mínima biopsia de la piel, es posible observar claramente unas estructuras llamadas cromosomas. Estos se encuentran en el núcleo dispuestos al azar dentro de grupos y cada grupo contiene todos los cromosomas de una única célula en un número constante, los cuales para su estudio se analizan durante la metafase, en la cual cada cromosoma consta de dos cromátidas unidas por un centrómero. Si se permite continuar la división celular, el centrómero se dividiría y cada cromátida separada construiría ahora un nuevo cromosoma (Nicholas, 1998) (Fig.1a).

La rama de la genética que estudia los cromosomas se llama citogenética (Nicholas, 1998) y para el análisis de los mismos se eligen las metafases más adecuadas y se fotografían (Fig. 1a).

Recortando los cromosomas de la fotografía y ordenándolos según su tamaño y la localización del centrómero, se proporciona una imagen del complemento cromosómico completo o cariotipo de una célula (Fig. 1b). En la actualidad existen programas especiales para facilitar este tipo de trabajos.

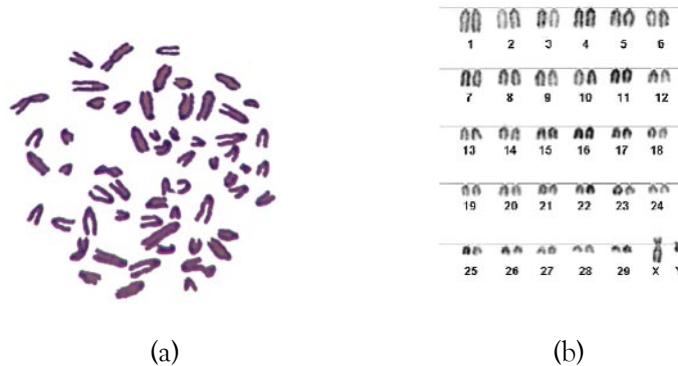


Figura 1. (a) Metafase de toro -normal- observada en microscopio óptico. (b) Cariotipo de un toro -normal-, los cromosomas han sido ordenados en forma individual según su tamaño y posición centromérica (Fernández et al, 2002).

Cada especie tiene un número y una morfología cromosómica propia. Es por ello que resulta de gran interés los estudios de las alteraciones cromosómicas que producen un descenso en la fertilidad, e incluso, una incompatibilidad con la vida (Moro et al, 1998).

Se pueden obtener dos diferentes tipos de cariotipos, esto dependiendo del sexo mismo que es la clave para su determinación. En los mamíferos, uno de los pares cromosómicos que se encuentran en las células de los machos es el par X e Y. El par cromosómico sexual de las hembras consta de dos cromosomas X. Por lo que los machos son XY y las hembras XX. Los cromosomas X e Y se conocen como cromosomas sexuales. En las aves, los cromosomas sexuales reciben nombres diferentes y su relación con el sexo es la opuesta a la de los mamíferos; los machos son ZZ y las hembras ZW (Nicholas, 1998). Pero en el presente trabajo sólo se hará referencia a los cromosomas de mamíferos.

Todos los cromosomas restantes de la célula, aparte de los cromosomas sexuales, se denominan autosomas. Dentro de una especie, los machos y las hembras tienen el mismo juego de autosomas, que aparecen en pares. El conjunto de autosomas

y cromosomas sexuales constituye el genoma, que es la serie total de cromosomas de una célula. Los genomas en los que los cromosomas se presentan en pares se denominan diploides, y los dos miembros de cada par reciben el nombre de cromosomas homólogos. Para destacar que los cromosomas aparecen en pares, el número total de cromosomas se indica por “2n”, donde “n” representa el número haploide cromosómico. Por ejemplo en la Figura 1, $2(30)=60$, donde 30 es el número haploide que a su vez representa 1 cromosoma de cada par. En la identificación de cada par cromosómico, los autosomas se nombran de acuerdo con un convenio internacionalmente aceptado, como se ve en la Figura 1b. Los dos cromosomas sexuales se colocan generalmente al final (Nicholas, 1998).

Para describir los cariotipos con más detalle, los cromosomas se clasifican en función de la posición centromérica, donde si el centrómero está en el extremo se denomina acrocéntrico, más cerca de un extremo que del otro se denomina submetacéntrico o en medio, denominado metacéntrico, como se indica en la Figura 2. El brazo corto de cada cromosoma se denomina con la letra “p” y el largo se denomina con la letra “q”. (Si el centrómero está en el centro del cromosoma la designación del brazo p es arbitraria, pero se acuerda por convención internacional; para los cromosomas acrocéntricos, por ejemplo los autosomas del vacuno, no hay necesidad de distinguir entre brazos y no se utilizan ni p ni q) (Nicholas, 1998). En la Tabla 1 se muestra un resumen de los cariotipos de las especies domésticas más comunes.

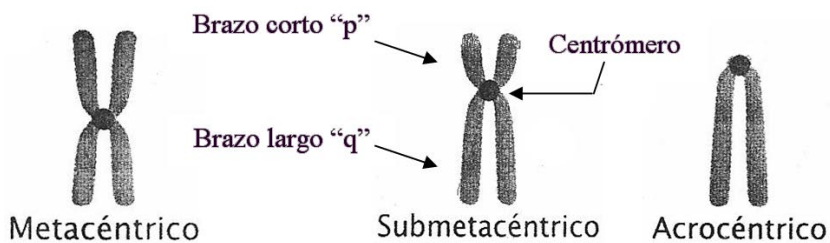


Figura 2. Morfología cromosómica según localización del centrómero (Nicholas, 1998).

Tabla 1. Número diploide de las especies domésticas más comunes (Nicholas, 2004).

Especie	Número diploide.
Gato	38
Perro	78
Cerdo	38
Cabra	60
Oveja	54
Vaca	60
Caballo	64
Llama	74
Conejo	44

1.2. TÉCNICAS PARA EL ESTUDIO CROMOSÓMICO.

Bandeo.

Los cromosomas pueden teñirse de manera homogénea con sólo colocarlos en una solución de Giemsa, pero algunos métodos de tinción, pretratamientos o ambos, producen patrones transversos de bandas teñidas diferencialmente, las cuales son tan constantes que se consideran especie-específicas (Guízar y Vázquez, 2001).

Cuando se comenzaron a estudiar los cariotipos, cada par de cromosomas se podía identificar solamente de acuerdo con su tamaño y forma. En la actualidad se han desarrollado varios métodos de tinción de los cromosomas que permiten obtener regiones claras y oscuras alternantes llamadas bandas. Los principales tipos de bandas se clasifican de modo general como G, Q, R, C, T y N (Nicholas, 1998).

El primer procedimiento de bandas desarrollado empleó una sustancia fluorescente, la mostaza de quinacrina que se une a porciones definidas de los cromosomas. Cuando estos son estimulados con una lámpara de luz UV se ponen de manifiesto las bandas Q, es decir, aquellos segmentos que incorporaron la quinacrina fluorescente con intensidad (Salamanca, 1990).

Posteriormente se desarrollaron otros procedimientos más simples que muestran bandas claras y oscuras con la coloración de Giemsa, previo tratamiento de los cromosomas con enzimas proteolíticas como tripsina o quimiotripsina, desnaturalización en soluciones amortiguadoras, o por calor. Éstas bandas se conocen como bandas G por el colorante empleado (Strachan y Read, 2006). El bandeo Q y el

bandeo G producen bandas que se relacionan con la composición predominante de bases en el DNA de las regiones bandeadas. Las bandas oscuras del bandeo G y las brillantes (fluorescentes) del bandeo Q representan regiones cuyo DNA es rico en el par A-T (o T-A) de manera que su coloración es proporcional a la concentración de A+T (Salamanca, 1990).

Con un procedimiento de desnaturalización por calor y renaturalización controlada se logra un patrón que parece la imagen en negativo de las bandas G, lo que en estas aparece oscuro en las otras aparece claro, y viceversa, por lo que se les designa bandas R o reversas (Guízar y Vázquez, 2001). Las bandas ricas en C-G son las fluorescentes (Solari, 2004).

Otros procedimientos con naranja de acridina permiten la coloración de la porción telomérica (extremos de los cromosomas) conocidos como bandas T (Guízar y Vázquez, 2001).

El bandeo N o de los organizadores nucleolares (NOR) tiñe sólo las regiones que contienen organizadores nucleolares (constricciones secundarias en los cromosomas de humanos 13-15 y 21-22) y es totalmente distinto al bandeo clásico puesto que se basa en la presencia de proteínas argentafines en esas regiones; se tiñe con nitrato de plata (Strachan y Read, 2006). En la tabla 2 se describen las características de los principales bandeos cromosómicos.

Tabla 2 Características de las principales bandas cromosómicas (Guízar y Vázquez, 2001).

Bandas	Regiones que identifican	Contenido de bases
Q	Patrón cromomérico básico en positivo. Eucromatina y heterocromatina.	Rico en AT.
G	Patrón cromomérico básico en positivo. Eucromatina y heterocromatina.	Rico en AT
R	Patrón cromomérico básico en negativo. Eucromatina.	Rico en GC
T	Regiones subteloméricas de todos los cromosomas. Eucromatina.	Muy rico en GC
C	Centromérica de todos los cromosomas y no Centromérica de 1, 9, 16 y Y (humanos). Heterocromatina constitutiva.	Rico en AT. DNA satélite.
NOR	Regiones de organizadores nucleolares de los cromosomas acrocéntricos.	Rico en GC. DNA que codifica para RNAr

Hibridación in situ y fluorescencia (HISYF ó FISH).

En la década 1980-90 se desarrolló la citogenética molecular que se considera una revolución al descubrir alteraciones submicroscópicas con sondas específicas de segmentos cromosómicos, de centrómeros o telómeros, también detectan fusiones específicas de regiones cromosómicas comprometidas en translocaciones conocidas, que permiten resolver preguntas, incluso a veces en ausencia de metafases, observando las señales en núcleos interfásicos (Castillo, 2002).

Gracias a la implementación de nuevas técnicas destinadas al análisis de cromosomas los estudios citogenéticos mostraron un avance significativo, tanto mitóticos como meióticos, entre los cuales se destacan el bandeo de cromosomas y la hibridación in situ sobre cromosomas. En la actualidad, la citogenética animal y humana se basa en el empleo de las técnicas de citogenética molecular basándose en la tecnología de la hibridación in situ fluorescente o FISH (fluorescent in situ hybridization), que permiten la localización de secuencias específicas del DNA en una región cromosómica, y de esta manera los estudios microscópicos convergen con los estudios moleculares y se complementan mutuamente (Herrera, 2007).

La técnica de HISYF o FISH consiste en la identificación de la región cromosómica en la que se encuentra una secuencia determinada de un ácido nucleico, detectada finalmente por una señal fluorescente (Solari, 2004).

Para realizar este procedimiento se pueden utilizar las preparaciones convencionales empleadas para el estudio del cariotipo, lo que es sumamente práctico. La base del procedimiento es lograr que la secuencia buscada del DNA celular se hibride con una secuencia preparada *in vitro* y rotulada con nucleótidos marcados, en especial con biotina o con digoxigenina, sustancias que reaccionan específicamente con otras (la biotina reacciona con avidina y la digoxigenina con su anticuerpo, antidigoxigenina) que pueden ser acopladas con una sustancia fluorescente (fluorescína, rodamina y otras). Es decir, se logra la hibridación molecular de la secuencia del DNA con la de la sonda marcada lo cual permite su detección mediante la señal fluorescente (Strachan y Read, 2006, Solari, 2004).

La HISYF permite determinar en que cromosoma y en que región está presente una secuencia de DNA, lo que es de gran utilidad ya que inmediatamente se puede relacionar esa secuencia con todos los genes y secuencias marcadas ya conocidas en ese cromosoma. Además, la HISYF permite la identificación inmediata y precisa de cada cromosoma por medio de “sondas” preparadas con secuencias específicas de ese cromosoma. También se ha desarrollado el “pintado cromosómico” (Fig. 4) que se realiza con una mezcla de varias sondas, cada una específica de un cromosoma; como cada sonda es detectable con un colorante fluorescente de distinto color, en el mismo preparado es posible obtener, por ejemplo, la localización de dos cromosomas, identificables por su color de fluorescencia, o de distintas regiones del mismo cromosoma, identificadas por colores diferentes (McDonald, 2002, Solari, 2004).

La utilidad de la HISYF no solo se limita a cromosomas de células mitóticas; esta técnica también se puede utilizar en células interfásicas; esto permite reconocer, por ejemplo, la presencia de una trisomía por la señal triple que genera una sonda para ese cromosoma. Por lo tanto, presenta ventajas de rapidez y economía al no exigir cultivos y cierto número de células en mitosis (McDonald, 2002).

Como ejemplo, en la Figura 3 se observa un FISH de un núcleo interfásico humano con sondas para los cromosomas 13 y 21.

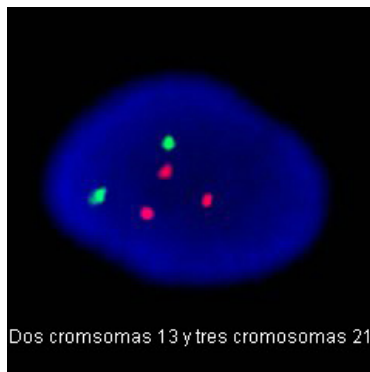


Figura 3. FISH de un núcleo interfásico humano con sondas para los cromosomas 13 y 21. Se observan tres señales para el cromosoma 21 debido a una trisomía para este cromosoma (www.genetadi.com)

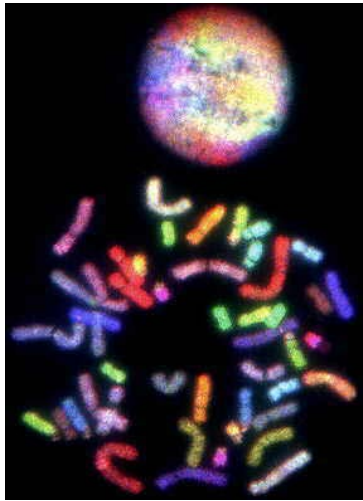


Figura 4. Pintado completo de cromosomas humanos (www.genetadi.com).

1.3. LAS APLICACIONES DE LA CITOGENÉTICA.

Cabe destacar que la citogenética es una ciencia híbrida originalmente formada por la citología y la genética. Surgió y se desarrolló a fines del siglo XIX, cuando se logró identificar a los cromosomas. Posteriormente se vio reforzada con el surgimiento de la microscopía electrónica, la microbiología y la bioquímica. Años después, las técnicas citogenéticas y bioquímicas se combinaron y abrieron un nuevo horizonte: la genética de células somáticas. Se identificaron defectos enzimáticos específicos en células que crecían y se desarrollaban en cultivo de tejidos (Díaz y Bonilla, 2006)

La citogenética es actualmente parte esencial de los estudios genéticos, con importantes aplicaciones en la genética médica, en la genética evolutiva y en la genética aplicada al mejoramiento animal y vegetal. La primera aplicación de la citogenética fue para clasificar los cromosomas de cada especie y asociar ciertas enfermedades o características de interés con algunos cromosomas en particular o con regiones dentro de los brazos de los cromosomas. Así se obtuvieron los primeros mapas físicos del genoma de las especies, que permiten ubicar en el genoma cierto gen responsable de un cierto fenotipo (www.porquebiotecnologia.com).

Hoy en día, con el desarrollo de técnicas de fluorescencia aplicadas a la citogenética,

se puede saber en qué cromosoma y en qué región específicamente se ubica una secuencia genética de interés. Por ejemplo, si se desea conocer dónde se integró un transgen al realizar una planta o animal transgénico (www.porquebiotecnologia.com).

Otras aplicaciones de importancia clínica son: conocer la etiopatogenia de cuadros clínicos de diversos síndromes, explicar la causa de cuando menos un 30% de los abortos espontáneos, hacer una mejor clasificación de los intersexos, conocimiento de la existencia de una enfermedad en la progenie y en casos de infertilidad.

1.4. EL CAMPO DE LA CITOGENÉTICA ANIMAL.

La citogenética de animales domésticos nació cuando se descubrió la primera Translocación Robertsoniana (1/29) en el vacuno (Gustavsson y Rockborn, 1964), y más específicamente, cuando se demostró su efecto nocivo en la fertilidad del ganado vacuno rojo sueco (Gustavsson, 1969, Dyrendhal y Gustavsson, 1979). Estos estudios han atraído la atención de muchos laboratorios de citogenética, además del descubrimiento de varias anormalidades cromosómicas en especies domésticas (Gustavsson, 1980). Sin embargo, las traslocaciones Robertsonianas (fusiones céntricas = CF) han sido las anormalidades cromosómicas más encontradas en el ganado vacuno (Gustavsson, 1980, Long, 1985, Iannuzzi et al., 1987). Las traslocaciones dicéntricas son consideradas de origen reciente como mutaciones en cromosomas, porque se han encontrado con poca frecuencia en diferentes animales. En contraste, la Rob (1/29) se considera de origen antiguo debido a su presencia en más de 40 razas (Popescu y Pech, 1991), principalmente en razas de engorda, con diferentes frecuencias, siendo la más alta en la raza portuguesa Barrosa, con 70% de individuos que tienen Rob (1/29) (de esta cifra el 17% es homocigoto) (Rangel-Figuereido, Iannuzzi, 1993). Solo la raza alpina gris italiana tiene una frecuencia significativa del 11% para portadores con CF dicéntrica de los cromosomas 26 y 29 (Di Meo et al., 2000, Iannuzzi et al., 2001). La fusión céntrica también ha sido el reacomodo cromosómico más común que ocurre durante la evolución del cariotipo autosómico de bovinos. (Iannuzzi y Di Meo, 1995).

El número de aberraciones estructurales y numéricas en las especies domésticas es bajo y realmente se conoce poco acerca de la tasa de mutación cromosomal. Las

aberraciones numéricas están correlacionadas con una tasa no disyuntiva. Se conoce muy poco acerca de las causas y frecuencias de la tasa no disyuntiva en especies domésticas; así como lo señaló Ingemar Gustavsson (Popescu, 1996).

Se considera que la rob (1/29) es una translocación de origen antiguo debido a su presencia en más de 40 razas principalmente en razas de engorda, con diferentes frecuencias siendo ejemplo de ello la raza portuguesa Barrosa con 70% de individuos que tienen dicha translocación, donde el 17% es homocigoto (Di Meo et. al, 2006). Por el contrario en otras poblaciones como la del ganado sueco Holstein-Friesian no se ha observado la presencia de este tipo de translocación(Nicholas, 1990).

Es importante para el futuro desarrollo de la citogenética de animales domésticos el usar aquellas nuevas prometedoras herramientas como el FISH y sus variantes, para estudiar los fenómenos básicos como la meiosis en macho y hembra, la tasa de mutación, la tasa de no disyunción y los polimorfismos en cromosomas (Popescu, 1996).

CAPÍTULO 2. LAS ALTERACIONES GENÉTICAS COMO CAUSA DE INFERTILIDAD.

Hay numerosos casos de fertilidad reducida, y una baja eficiencia reproductiva es mayoritariamente el resultado de la interacción de varios factores, raramente se le atribuye a una sola causa. Es bien conocido, que la fertilidad está estrechamente influenciada por factores nutricionales, ambientales y de manejo como lo son la alimentación, condiciones climáticas, dimensión de la manada, edad de los progenitores, alojamiento, condiciones sanitarias, detección del calor, tiempo de inseminación, etc, que son en conjunto un 80 - 90 % de los casos de infertilidad. En contraste, los factores genéticos involucrados en la hipofertilidad representan el 10 - 20% de los casos (Succi, 1996). No obstante, es conocido desde hace tiempo (Cupps, 1991, Hafex, 1993) que la hipofertilidad o la esterilidad, en algunos casos, puede ser atribuida a un factor genético que provoca a la postre alteraciones en los principales parámetros de calidad del semen. Por ejemplo, respecto las anomalías cromosómicas, los toros con translocaciones recíprocas Y-autosómicas (Vallenzasca et al., 1990) muestran aparentemente un fenotipo normal, con órganos reproductivos y

función testicular normales (prueba GnRH) pero las observaciones del semen revelan oligozoospermia, astenozoospermia y azoospermia. La condición de azoospermia fue encontrada en toros portadores de translocaciones autosómicas recíprocas balanceadas (Ansari et al., 1993).

2.1. MUTACIONES GÉNICAS.

En la mitosis, en la meiosis o en la fecundación tienen lugar de cuando en cuando errores que a veces producen cariotipos aberrantes (Nicholas, 1998).

En muchos casos, se han observado cariotipos anormales en animales sanos y/o altamente productivos; asimismo, muchos animales enfermos o no productivos tienen cariotipos completamente normales. Por lo que, un cariotipo normal no es en sí mismo una garantía de alta productividad o ausencia de enfermedades, como tampoco un cariotipo anormal indica con seguridad un animal enfermo o improductivo (Nicholas, 1990).

Una mutación es un cambio en el material hereditario. Éste ocurre de un modo constante en todo organismo y es una característica fundamental e íntimamente ligada al proceso conocido como vida. La mutación junto con la transmisión y la expresión de los genes constituyen los tres procesos fundamentales de la genética (Guízar y Vázquez, 2001).

Las mutaciones cambian la estructura y la información heredada por los antecesores; estos cambios pueden transmitirse a los descendientes si afectan células germinales, las mutaciones en células somáticas, no son heredadas (Pierce, 2006).

El fenómeno de la mutación implica un cambio en el genotipo, que puede tener diferentes consecuencias: positivas, negativas, o bien no reflejarse por ningún cambio en el fenotipo, aun cuando el cambio si se manifieste en el genotipo. Analizando la primera posibilidad, las mutaciones positivas son aquellas que confieren al organismo que las presenta una nueva ventaja para su ambiente, mayor facilidad de adaptación o nuevos beneficios con respecto a organismos de su misma especie (Guízar y Vázquez, 2001).

La mutación también puede restar capacidades de supervivencia, adaptación o de estructura a un organismo con respecto a su ambiente o frente a sus semejantes. Éstas son las mutaciones negativas las cuales producen los padecimientos hereditarios.

En tales trastornos los padres llevan genes con mutaciones determinantes para la aparición del padecimiento en el hijo, aún cuando algunas veces ellos no presenten la enfermedad, como en el caso de las que se deben a genes autonómicos recesivos (Guízar y Vázquez, 2001).

Clasificación.

Según su morfología se clasifican como: mutaciones en *punto* o *fuera de fase*. Las primeras (las puntuales ó de punto) pueden ser de dos clases: transiciones, cuando se produce el cambio de una base pirimidica por otra base pirimidica como citosina por timina, o bien una base púrica por otra, como adenina o guanina. La segunda clase de mutaciones en punto son las transversiones, en las cuales una base púrica cambia por una pirimidica o viceversa (Watson et al, 2006, Pierce, 2006) (Fig. 5).

Las mutaciones *fuera de fase* también pueden subdividirse en deleciones o adiciones. En las primeras se suprime 1, 2 o más bases. Cuando se suprimen tres bases se presenta la deleción de un aminoácido en la proteína. En la adición de 1 o 2 bases, se presenta el fenómeno fuera de fase, originando el cambio de la secuencia de aminoácidos a partir del sitio donde exista la adición. Lo anterior también puede aplicarse a las adiciones de tres bases, añadiendo un aminoácido pero no modificando la fase de lectura del DNA, o bien, a la adición de 1 o 2 bases, alterando la fase y, por lo tanto, la secuencia de aminoácidos de la proteína (Watson et al, 2006, Guízar y Vázquez, 2001).

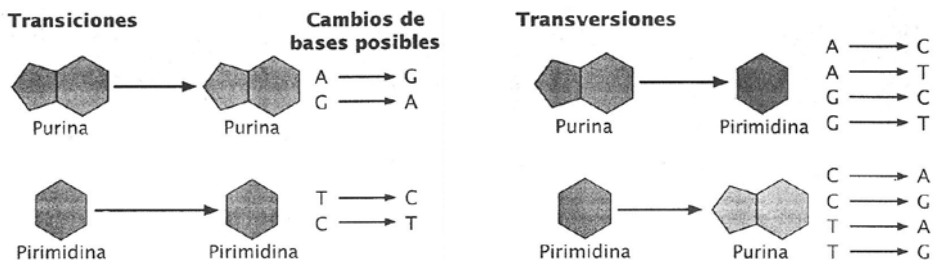


Figura 5. Una transición es la sustitución de una purina por otra purina o de una pirimidina por otra pirimidina; una transversión es la sustitución de una pirimidina por una purina o de una purina por una pirimidina (Pierce, 2006).

Desde el punto de vista funcional las mutaciones pueden ser: *silenciosas*, en este caso no se observa ningún efecto sobre el fenotipo y la selección natural no permite influir en ellas. Corresponden a cambios de bases en regiones no codificantes que tampoco contienen secuencias de control, por ejemplo en DNA satélite, en minisatélite, en la

parte media de intrones, en retroposones, etc. De *cambio de encuadre* (por delección o inserción). En este caso se produce un cambio en el marco de lectura de los tripletes por la pérdida o la adición de una o dos bases, o por la inserción de una o dos (o múltiplos de dos). Dado que el efecto de la delección de una base puede ser compensado por la inserción de otra (y viceversa), existen mutaciones compensatorias que revierten parcialmente el efecto de cambio de encuadre (corrigen el mensaje a partir del lugar de la segunda mutación). *Sin sentido*. Corresponden al cambio de una base que convierte un triplete codificante en uno sin sentido, y que no es reconocido por los factores de terminación, produce la cesación de la cadena polipeptídica en ese nivel (da lugar a la interrupción de la síntesis protéica). De *cambio sin sentido* (limitado a un triplete). Se trata de las sustituciones. De *elementos de control*. Estas mutaciones afectan secuencias tales como un promotor, un intensificador u otras secuencias reguladoras. De *expansión de repetición de tripletes*. Este tipo de mutación ha sido reconocido en años recientes como un importante factor causal de varias enfermedades hereditarias, en especial de herencia dominante, como la corea de Huntington, la distrofia miotónica y el síndrome del X frágil (Pierce, 2006, Solari 2004).

En todos los tipos de mutaciones el error presente en la secuencia debe ser autorreproducible en cada división celular, porque de lo contrario quedaría limitado a la célula única en la que se originó, la que podría morir sin consecuencias mayores para un organismo multicelular. Por otra parte, al hablar de mutaciones se sobreentiende que la mutación afecta la línea germinal, para ser transmitida a la próxima generación.

En la línea germinal, en diferentes etapas de desarrollo, hay un número considerable de células (gonocitos, ovogonios, espermatogonias y sus derivados que pueden ser afectadas por mutaciones (Solari, 2004) y se les denomina como mutaciones de la línea germinal.

Se denomina mutaciones somáticas a las que ocurren originariamente en células no germinales, con capacidad de formar clones (células troncales). Si bien no son hereditarias, estas son importantes en medicina porque pueden originar tumores (Pierce, 2006, Solari, 2004).

2.2. ALTERACIONES CROMOSÓMICAS.

Hay dos clases de alteraciones o aberraciones cromosómicas: las alteraciones de número o las alteraciones de estructura.

Alteraciones de número.

Las células pueden tener variaciones en el número de sus cromosomas que impliquen múltiplos del número haploide, denominadas euploidías, o cambios en los cuales solo uno o algunos cromosomas estén implicados, a los que se les conoce como aneuploidías (Guízar y Vázquez, 2001).

Euploidías.

En las euploidías se repite varias veces el número haploide (Guízar y Vázquez, 2001). Este tipo de alteración cromosómica se detecta en embriones que murieron antes del nacimiento.

Las alteraciones cromosómicas más comunes de las detectadas en etapas tempranas del desarrollo de los embriones son la presencia de un único complemento cromosómico (haploidía) o la presencia de más de dos complementos (triploidía, tetraploidía, etc; colectivamente denominadas poliploidías, si hay solo un tipo de ploidía o mixoploidías, si hay mezcla de células con distintas ploidías) (Nicholas, 2004). Diversos estudios en embriones de animales han mostrado que aproximadamente el 7% de todos los embriones tienen aberraciones cromosómicas que se presentan muy raramente, si es que lo hacen alguna vez, después del nacimiento o de la eclosión (Nicholas, 2004).

Se obtienen productos poliploides cuando los gametos aportan números múltiplos del haploide o cuando ocurre una doble fertilización. Así, se tiene un producto triploide, por ejemplo en humanos, cuando un óvulo con 46 cromosomas, que por consiguiente no eliminó el corpúsculo polar (diginia) es fecundado por un espermatozoide normal con 23, o cuando un óvulo normal es fecundado por un espermatozoide con 46 (diandria) o cuando un óvulo tiene una doble fertilización (dispermia) (Strachan y Read, 2006, Guízar y Vázquez, 2001).

Aneuploidias.

Las aneuploidias son más conocidas por sus repercusiones como causas de malformaciones congénitas al nacimiento. Se presentan como resultado de una no separación cromosómica (no disyunción) o por el rezago anafásico de un cromosoma durante la anafase de la división celular. Estas fallas pueden presentarse tanto en la meiosis como en la mitosis, y, en caso de afectar la meiosis pueden ocurrir en la meiosis I o II, y por supuesto, durante la espermatogénesis o en la ovogénesis (Guízar y Vázquez, 2001) (Fig. 6).

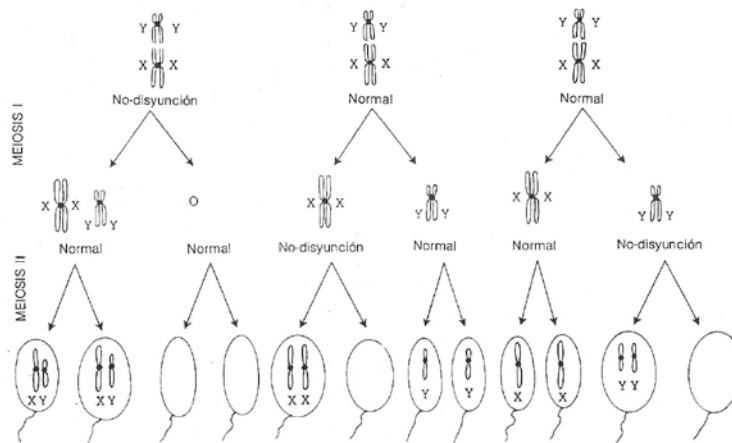


Figura 6. No disyunción de cromosomas sexuales durante la meiosis en un macho XY -Normal- (Nicholas, 1998).

Una de las aberraciones más comunes es la falta de un cromosoma X. La falta de un solo cromosoma se denomina monosomía y los animales que carecen de un cromosoma se dice que son monosómicos para dicho cromosoma. En el caso de hembras monosómicas para el cromosoma X su cariotipo se representa como X0, donde 0 indica la ausencia de un cromosoma X (Strachan y Read, 2006, Nicholas, 1998).

Otra aberración es la presencia de tres cromosomas X en vez de los dos habituales. Este es un ejemplo de trisomía del cromosoma X, y los individuos que tienen el cromosoma adicional son trisómicos (Klug, et al, 2006, Nicholas, 1998).

En la tabla 3 se muestran otras aneuploidías, aunque por ejemplo, O, YO y YYO, no se han observado y se supone que son letales en los primeros estadios del desarrollo embrionario. Todas las restantes aneuploidías se han encontrado en al menos una especie de mamíferos (Nicholas, 1998).

Tabla 3. Los cigotos que pueden producirse teóricamente de todas las posibles combinaciones de espermatozoides y óvulos anormales, respecto a los cromosomas sexuales (Nicholas, 1998).

		ESPERMATOZOIDE						
		Normal		Anormal				
		X	Y	XY	XX	YY	O	
OVULO	Normal	X	XX	XY	XXY	XXX	XXY	XO
	Anormal	XX	XXX	XXY	XXXY	XXXX	XXYY	XX
		O	XO	YO	XY	XX	YYO	O

Una de las formas más comunes de aneuploidía de los cromosomas sexuales es la ocurrencia de más de una línea celular en un individuo, por ejemplo, XY/XXY o XX/XXY/XXYY. La causa habitual de estas mezclas es la no disyunción durante la mitosis en una etapa temprana del desarrollo embrionario. El resultado es, de manera casi invariable, alguna forma de anomalía sexual. Dado que cada una de las líneas celulares tiene un solo origen (el óvulo fertilizado) los individuos se denominan mosaicos (Nicholas, 1998).

Alteraciones de estructura.

Las anomalías estructurales de los cromosomas son (tándem y traslocaciones recíprocas, inversiones pericéntricas y paracéntricas) derivados de alteraciones en la meiosis, produciendo al intercambio de gran parte de los brazos del cromosoma con los pertenecientes de diferentes pares. Las anormalidades estructurales se asocian casi siempre con fertilidad reducida (Popescu, 1989). Cuando la aberración pertenece al número de gonosomas hay una intersexualidad y casi la esterilidad total (Popescu, 1989). En ganado vacuno, las aberraciones cromosómicas más frecuentes son las traslocaciones Robertsonianas, o las fusiones céntricas, en donde dos cromosomas acrocéntricos se fusionan para formar un cromosoma meta/sub - metacéntrico con número de cromosomas reducido pero sin la pérdida de material genéticamente activo en un cariotipo genéticamente balanceado (Molteni et al., 2004).

Translocación.

Así se denomina al intercambio de segmentos entre cromosomas. La Translocación puede ser recíproca o no, e implicar cromosomas homólogos o no homólogos (Guízar y Vázquez, 2001).

En la Translocación recíproca parte de un cromosoma se intercambia con parte de otro cromosoma. Este proceso supone una rotura de dos cromosomas no homólogos en dos segmentos, seguida de un intercambio de segmentos entre los dos cromosomas (Nicholas, 1998) (Fig. 7).

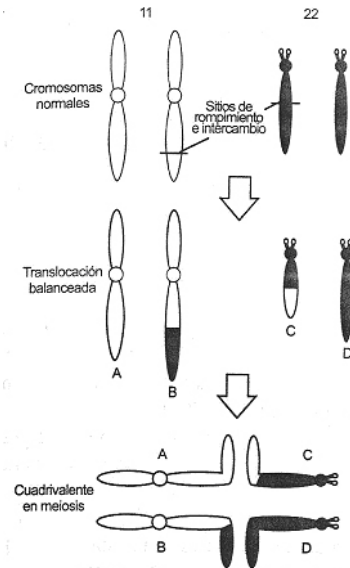


Figura 7. Translocación recíproca balanceada que involucra a los cromosomas 11 y 22 (de humano). En la parte inferior se puede apreciar la formación que adoptan los cromosomas para mantener un apareamiento homólogo (cuadrivalente) (Guízar y Vázquez, 2001).

El individuo que se muestra en la Figura 7 se dice que es heterocigoto para la Translocación porque sólo está implicado uno de los dos miembros de cada par cromosómico. Como durante la formación de la Translocación no se perdió ningún fragmento cromosómico, los individuos portadores tienen todavía un complemento de material genético equilibrado y generalmente tienen un fenotipo normal (Nicholas, 1990).

Los cromosomas homólogos se atraen fuertemente durante la meiosis y normalmente se aparean para formar lo que se denomina un bivalente (lo que se conoce como sinapsis). En los heterocigotos para una Translocación, sin embargo, para que los cromosomas homólogos se apareen a lo largo de toda su longitud (durante la meiosis), los dos pares de cromosomas implicados en la Translocación deben de aparearse conjuntamente para formar un cuadrivalente. Como se muestra en la Figura 8, existen varios resultados posibles de la meiosis de un cuadrivalente como éste, dependiendo del tipo de segregación o disyunción de los cromosomas y de la posición de los entrecruzamientos en el cuadrivalente. El efecto del entrecruzamiento

en el cuadrivalente depende de si tiene lugar en un segmento intersticial (entre el centrómero y el punto de rotura) o en uno de los restantes segmentos (denominados segmentos distales) (Klug, et al, 2006, Nicholas, 1990).

La segregación puede seguir cualquiera de las siguientes posibilidades: Segregación alternativa. Cuando los centrómeros alternos (de cromosomas no homólogos) segregan al mismo polo, por consiguiente pasan al mismo gameto. Adyacente-1. Los cromosomas adyacentes con centrómeros homólogos segregan al mismo gameto. Adyacente-2. Los cromosomas adyacentes de centrómeros no homólogos segregan al mismo gameto (Guízar y Vázquez, 2001).

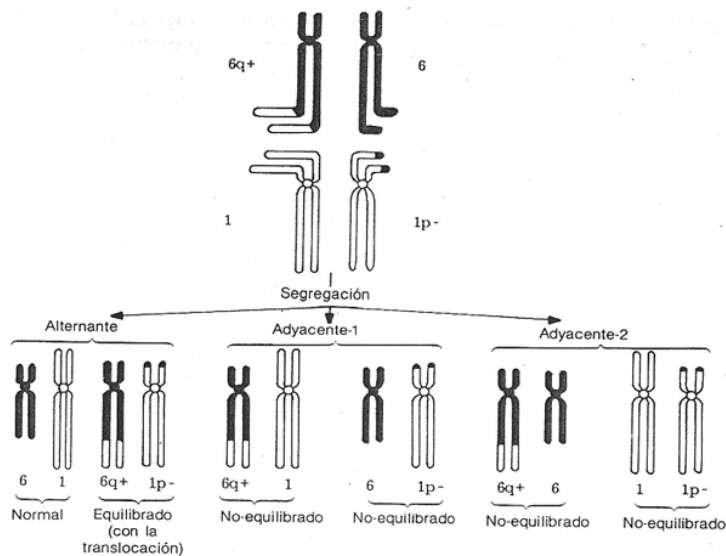


Figura 8. Arriba cuadrivalente (de un verraco) formado por el apareamiento de los segmentos homólogos de los cromosomas 1 y 6 en un individuo heterocigoto para la Translocación recíproca (1p-; 6q+). Abajo: los seis posibles gametos que pueden resultar de este cuadrivalente, suponiendo que no hay entrecruzamiento en los segmentos intersticiales (Nicholas, 1990).

Se puede ver en la Figura 8 que todos los gametos resultantes de una segregación alternativa están equilibrados, mientras todos aquellos gametos resultantes de segregaciones adyacentes están desequilibrados. Cuando un gameto desequilibrado se combina con otro gameto para formar un cigoto, éste será desequilibrado y muere antes de su implantación. Por lo tanto los gametos desequilibrados producen la muerte embrionaria (Nicholas, 1990).

Si el segmento intersticial es corto en los dos cromosomas implicados en la Translocación, los entrecruzamientos intersticiales serán raros. En teoría la fertilidad de un heterocigoto para una Translocación de este tipo puede variar desde cero si la segregación es siempre adyacente hasta el valor normal (100%) si la segregación es siempre alternante. Por el contrario, si los segmentos intersticiales son relativamente grandes, los entrecruzamientos en dichos segmentos serán frecuentes. Como tales entrecruzamientos dan lugar a un 50% de gametos equilibrados como máximo, se dice que la fertilidad máxima esperada de los heterocigotos para las translocaciones recíprocas con largos segmentos intersticiales es 50% (Klug, et al, 2006, Nicholas, 1990).

Aunque es fenotípicamente normal, los portadores de translocaciones experimentan un descenso en el potencial reproductivo, predominantemente debido a la producción de gametos cromosomalmente desbalanceados con la subsecuente fertilización que resulta en una muerte temprana del embrión (Popescu, 1990) (Mastromonaco, 2004).

Translocaciones en tándem.

Ocasionalmente se describen casos en los que parte de un brazo de un cromosoma se rompe y se une a un extremo de otro cromosoma. Estas translocaciones reciben el nombre de translocaciones en tándem. En los animales domésticos, este tipo de Translocación es mucho más rara que la Translocación recíproca (Nicholas, 1998).

Las translocaciones tipo tándem se deben a fusiones cromosómicas particulares en las cuales la translocación se hace entre el extremo distal del brazo largo de un cromosoma y el extremo distal del brazo corto del otro, lo que implica generalmente una pérdida muy pequeña del material, posiblemente limitada a telómeros o bandas muy distales de los brazos cromosómicos participantes. Pueden estar involucrados uno o más cromosomas (Otto et al, 2001).

Fusiones céntricas.

Un tipo de Translocación que ha generado un interés considerable es aquel en el que dos cromosomas acrocéntricos se fusionan para producir un cromosoma metacéntrico o submetacéntrico. Este fenómeno se conoce como fusión céntrica o

Translocación Robertsoniana (Fig. 9), en honor a Robertson que las describió por primera vez en 1916. El cromosoma resultante contiene todo el material genético presente previamente en los dos cromosomas separados (Nicholas, 1998).

Dado que las fusiones céntricas implican la fusión de dos cromosomas, el número total de cromosomas se reduce sin pérdida de material genético en los individuos heterocigotos para una fusión céntrica siendo uno menos que el número normal. Sin embargo, al contrario que los monosómicos, que también presentan un cromosoma menos de lo normal, los individuos heterocigotos para una fusión céntrica tienen un genoma completo y por lo tanto presentan un fenotipo normal. Los individuos que son homocigotos para una fusión céntrica tienen dos cromosomas menos de lo normal, pero de nuevo presentan fenotipos normales porque también poseen el genoma completo (Pierce, 2006, Nicholas, 1998) (Fig. 10).

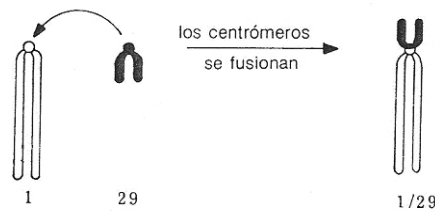


Figura 9. Origen de una fusión céntrica, en este caso entre los cromosomas 1 y 29, en el ganado vacuno (Nicholas, 1998).

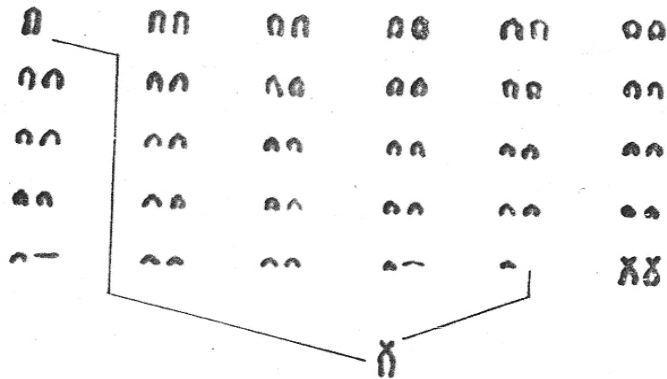


Figura 10. Cariotipo de una vaca que es heterocigótica para la fusión céntrica 1/29. Las líneas muestran el origen de la Translocación. Obsérvese que hay un total de $2n=59$ cromosomas, en vez del número normal en el ganado vacuno que es $2n=60$ (Nicholas, 1998).

La meiosis en los individuos heterocigotos para la fusión céntrica no es normal, porque existe sinapsis entre tres cromosomas, que forman un trivalente, como se muestra en la Figura 11. Se obtienen gametos equilibrados si el cromosoma que lleva la fusión céntrica se disyunde de los otros dos. Cualquier otro tipo de disyunción da lugar a gametos desequilibrados que a su vez darán lugar a embriones aneuploides. En el ganado vacuno, la mayoría de las fusiones céntricas tienen un efecto adverso dando lugar a una proporción variable de monosómicos y trisómicos que finalmente no sobreviven (Strachan y Read, 2006, Nicholas, 1998).

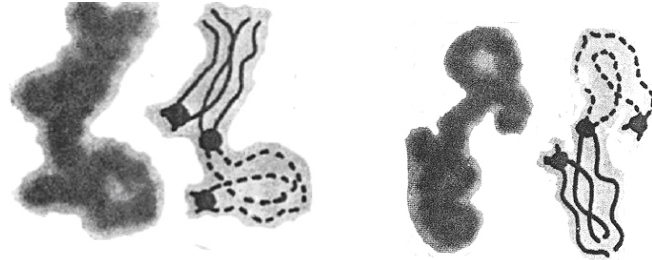


Figura 11. Dos ejemplos de trivalentes tal y como aparecen en la meiosis I de carneros heterocigotos para una fusión céntrica entre los cromosomas 9 y 12 (Nicholas, 1998).

Inversiones y deleciones.

Las inversiones tienen lugar cuando un segmento de un cromosoma padece una inversión después de una rotura en dos posiciones. Si el segmento incluye el centrómero, la inversión recibe el nombre de pericéntrica; si no incluye al centrómero, la inversión es paracéntrica (Fig. 12). Las deleciones se producen si a continuación de una rotura en dos posiciones, el segmento entre los dos puntos de la rotura se pierde (Nicholas, 1998) (Fig. 13). Para que el apareamiento ocurra tiene que formarse un asa (loop) en la porción correspondiente a la inversión o deleción. Además, en las inversiones, si ocurriera intercambio o entrecruzamiento en este segmento se originarían cromosomas con duplicaciones y deleciones o dicéntricos y fragmentos acéntricos (Guízar y Vázquez, 2001) (Fig.14). Las inversiones dan lugar a un realineamiento de los genes en un cromosoma, mientras que las deleciones causan una pérdida de material genético (Nicholas, 1990).

Las inversiones y las deleciones son las aberraciones cromosómicas menos frecuentes que se observan en animales domésticos y sólo se han descrito casos

aislados. Tal es el caso de 16 toros estudiados (2 toros progenitores y sus 14 hijos) de los cuales se encontró en 11 hijos y 1 toro progenitor un cromosoma Y anormal, originado a partir de una inversión pericéntrica proximal de la mitad del cromosoma Yq (Yq11 q12.2) (Iannuzzi et al, 2001).

Las deleciones producen por lo general serias anomalías, ya que el individuo es monosómico para el segmento delecionado. Por el contrario, como las inversiones implican la reordenación de los genes existentes sin pérdida ni ganancia, los individuos que llevan inversiones presentan generalmente un fenotipo normal. Además, las inversiones no son siempre fáciles de detectar en los cariotipos. Un cromosoma con una inversión paracéntrica, por ejemplo, tiene exactamente la misma forma y tamaño que un cromosoma normal. Pueden, sin embargo, diferir en el patrón de bandas (Klug, et al, 2006, Nicholas, 1998).

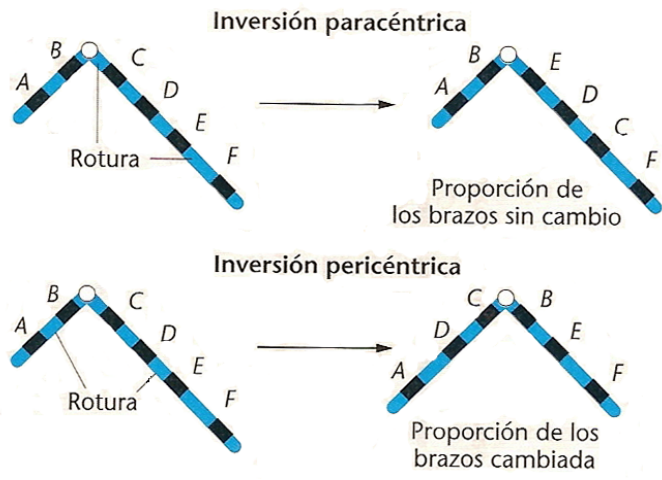


Figura 12. Formación de una inversión pericéntrica y paracéntrica (Klug y Cummings, 1999).

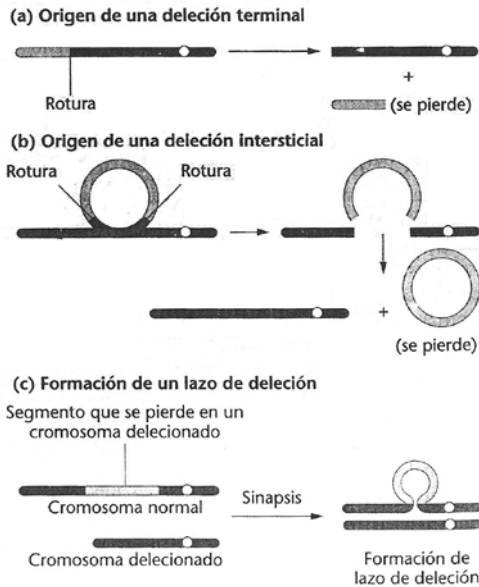


Figura 13. Orígenes de la deleción (a) terminal y (b) intersticial. En la parte (c) hay apareamiento entre un cromosoma normal y otro con una deleción intersticial, con la formación de un bucle o asa de la región no delecionada, dando lugar a un lazo de deficiencia (o compensación) (Klug y Cummings, 1999).

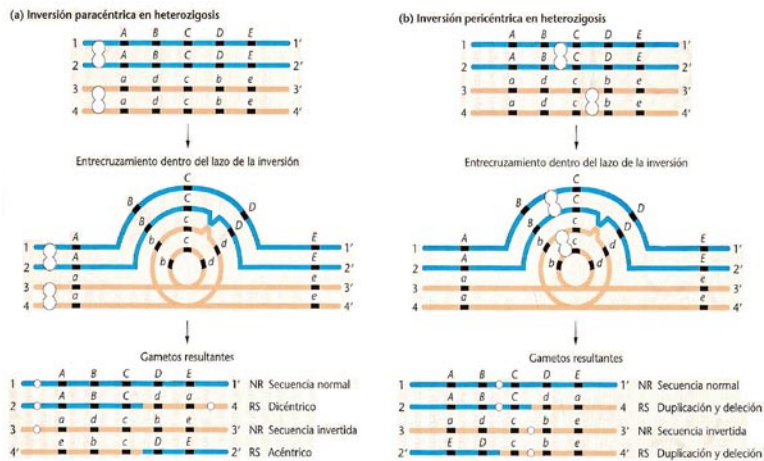


Figura 14. Efectos de un entrecruzamiento dentro de un lazo de inversión en los casos de (a) una inversión paracéntrica y de (b) una inversión pericéntrica. En (a) se producen dos cromosomas defectuosos, uno acéntrico y otro dicéntrico. Ambos cromosomas tienen también regiones duplicadas y deficientes. En (b) se producen dos cromosomas defectuosos, ambos con regiones duplicadas y deficientes (Klug y Cummings, 1999).

Duplicación.

Se dice que hay una duplicación cuando un segmento o una misma secuencia de genes aparece doble en el mismo cromosoma (Guízar y Vázquez, 2001) (Fig. 15).

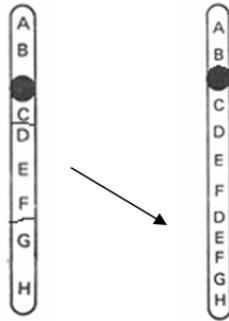


Figura 15. Ejemplo de una duplicación (Guízar y Vázquez, 2001).

Anillo.

El anillo es otra aberración estructural que se forma cuando el cromosoma presenta simultáneamente rompimiento en el brazo corto y en el brazo largo, de tal manera que los extremos se separan y la porción que lleva el centrómero y sus extremos rotos originando un cromosoma circular (Guízar y Vázquez, 2001) (Fig.16).

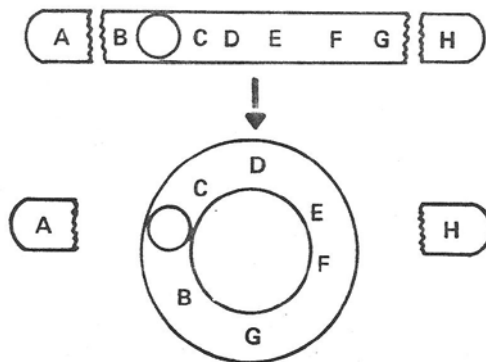


Figura 16. Formación de un cromosoma en anillo (Guízar y Vázquez, 2001).

Isocromosoma.

Este tipo de aberración surge cuando el centrómero de un cromosoma metacéntrico se rompe transversalmente en lugar de longitudinalmente durante la mitosis o la meiosis. El resultado de esta rotura son dos brazos de cromatina idénticos unidos al mismo centrómero, de forma que cada brazo contiene exactamente el mismo conjunto de genes en el mismo orden desde el centrómero hasta el telómero. Esta estructura se denomina isocromosoma. Cada rotura transversal de un centrómero da lugar a dos isocromosomas (uno correspondiente al brazo p y otro correspondiente al brazo q del cromosoma original). Sin embargo, algunas veces uno de los productos de la rotura se pierde, especialmente si el centrómero se rompe de manera desigual (Strachan y Read, 2006, Nicholas, 1998) (Fig. 17).

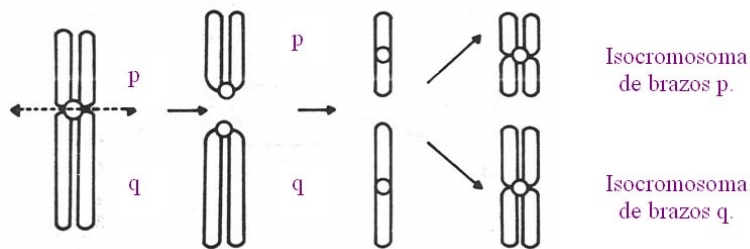


Figura 17. Mecanismo de formación de un isocromosoma (Guízar y Vázquez, 2001).

Sitios frágiles.

Un sitio frágil es una región o banda cromosómica que en ciertas condiciones del medio de cultivo celular aparece como una interrupción no coloreada. A partir de esta interrupción se pueden generar fragmentos cromosómicos que son de tamaño constante porque el sitio frágil tiene una localización constante y específica del cromosoma respectivo (Solari, 2004). Durante muchos años, los sitios frágiles de los cromosomas humanos han sido conocidos como posiciones en las que a menudo se producen reordenamientos cromosómicos en determinados tipos de cáncer, o bien como lugares asociados con varios tipos de enfermedades hereditarias (Nicholas, 1998).

Para que se exprese un sitio frágil es necesario cultivar las células en medios pobres de ácido fólico y timidita; por lo común se usa un medio mínimo o sintético sin ácido fólico. La expresión de un sitio frágil requiere uno o mas períodos de síntesis de DNA en condiciones de baja oferta de desoxitimidintrifosfato (dTTP) y no se produce sino en un porcentaje discreto o bajo de células (5-20%) (Solari, 2004) (Fig.18).

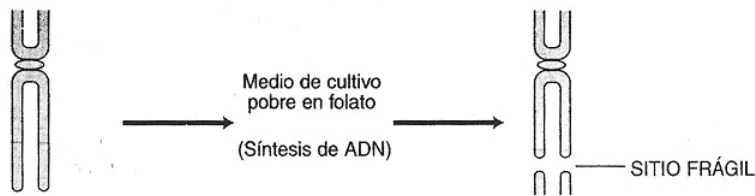


Figura 18. Esquema de la expresión del sitio frágil del cromosoma X (Solari, 2004).

Freemartins y quimerismo.

Se sabe que la mayoría de las vacas procedentes de una gestación de gemelar con un ternero, son estériles. Este tipo de hembras se conoce como freemartins (Nicholas, 1998).

En el caso de los freemartins, hay una fusión de los coriones de los dos embriones y una anastomosis de sus vasos sanguíneos (denominada anastomosis vascular). El resultado es un intercambio de células hematopoyéticas que permanecen activas durante el resto de la vida de cada animal. Si un individuo recibe células de otro individuo, contendrá entonces dos poblaciones celulares, cada una de ellas con un origen distinto. Tales individuos se denominan quimeras. Por lo tanto, cada miembro del par de gemelos es una quimera con respecto a los eritrocitos y a los leucocitos. En los gemelos de sexo distinto, las dos poblaciones de leucocitos se distinguirían fácilmente por sus cromosomas sexuales: aquellos derivados originalmente de células hematopoyéticas del macho serán XY y aquellos derivados originalmente de células hematopoyéticas de la hembra serán XX. La existencia de estas dos poblaciones de leucocitos fácilmente distinguibles en gemelos de distinto sexo se denomina quimerismo XX/XY. Se han descrito diversas proporciones de leucocitos XX, que van desde el 1% hasta el 100% con un promedio aproximado del 50% (Nicholas, 1998).

Los sucesos que conducen al freemartinismo son el desarrollo de anastomosis entre los días 30 y 50 de la gestación, lo que coincide con la fase sensitiva de la organogénesis reproductiva. Donde cuanto más temprano ocurra la anastomosis, mayor será el grado de masculinización en la compañera gemelar (Hafez y Hafez, 2002).

Dos hipótesis intentan explicar ese fenómeno: una sugiere que la virilización de los órganos genitales femeninos, es debida a la influencia de una hormona testicular del gemelo macho a través de la anastomosis placentaria (Lillie, 1916), la otra se explica por la transferencia de células formadoras de sangre y germinales entre los gemelos, donde el cromosoma Y es considerado como la causa mayor de la modificación del tractus genital femenino (Fechheimer, 1963, Hafez y Hafez, 2002). Como resultado de dicho intercambio entre gemelos dicigotos, ocurre una tipificación antigénica eritrocitaria entre ambos gemelos, y el quimerismo de cromosomas sexuales (60, XX/XY) aparece en los leucocitos mononucleares en sangre periférica (Hafez y Hafez, 2002).

La característica distintiva de una freemartin bovina es la afectación del sistema genital. Los genitales externos son los de una hembra normal con masculinización variable de los órganos reproductivos internos. En ocasiones hay clitonomegalia y las gónadas son rudimentarias y se localizan intra-abdominalmente. El animal afectado no muestra estro y a la palpación rectal el aparato reproductor se nota subdesarrollado. El examen vaginal revela una vagina corta y de fondo ciego (Hafez y Hafez, 2002). El macho también está afectado, pero sin anomalías estructurales, sin embargo hay un efecto sobre la capacidad reproductiva causada por una disminución de la concentración de esperma y de la movilidad espermática (Hafez y Hafez, 2002, Nicholas, 1998).

La probabilidad de una anastomosis vascular entre gemelos en el ganado vacuno es muy alta, aproximadamente del 90%. Puesto que la anastomosis vascular casi invariablemente conduce a la esterilidad de la hembra en gemelos de distinto sexo, se deduce que: aproximadamente el 90% de todas las vacas nacidas con un macho gemelo serán freemartins (Nicholas, 1998).

El modo más eficaz de determinar si una ternera joven con un gemelo macho es o no freemartin es buscar quimerismo XX/XY. Como algunos freemartins tienen solo una pequeña proporción de leucocitos XY, la eficacia de este diagnóstico depende

del número de células analizadas de cada hembra sospechosa. Teniendo en cuenta la distribución observada de leucocitos XY en freemartins la recomendación general es analizar al menos 200 células. Se han desarrollado técnicas moleculares para diagnosticar individuos freemartins como el análisis de Southern o la amplificación por PCR, detectando células XY (Nicholas, 1998).

Machos XX y hembras XY.

Ocasionalmente se describen individuos que son fenotípicamente machos y tienen un cariotipo XX e individuos fenotípicamente hembras con un cariotipo XY. En muchos casos un análisis molecular muestra que uno de los cromosomas X de los machos XX presenta una pequeña inserción procedente del cromosoma Y (que incluye el gen SRY). Las hembras XY pueden originarse de diversas formas. En algunos casos, su cromosoma Y tiene una pequeña delección que incluye el gen SRY. En otros casos, pueden tener un alelo mutante que da lugar a una deficiencia del polipéptido SRY. (Solari, 2004, Nicholas, 1998).

En cualquier caso, en ausencia del mensajero del gen SRY, estos individuos desarrollan ovarios que dan lugar después a características sexuales femeninas. Algunas hembras XY, sin embargo tienen un gen SRY normal pero carecen del receptor de las hormonas masculinas (andrógenos) producidas por los testículos. El resultado es que estos individuos XY desarrollan todas las características sexuales secundarias de las hembras a pesar de tener testículos y no ovarios. Este defecto en concreto se denomina feminización testicular. Dado que el gen para el receptor de andrógenos se encuentra en el cromosoma X, la feminización testicular es un defecto ligado al X (Nicholas, 1998).

Clasificación de los intersexos.

Aunque la mayoría de los individuos son hembras o machos normales, hay una continua aparición de individuos intersexuales, que presentan diversos grados de mezcla de las características masculinas y femeninas (Nicholas, 1990).

Para describir la clasificación de los intersexos, se deben mencionar algunos términos que se usan frecuentemente para referirse a los individuos intersexuales.

El primero es hermafrodita. En un sentido amplio éste término es sinónimo de intersexo, tal como se definió antes. Sin embargo, se usa a veces en un sentido más estricto para indicar la presencia simultánea de tejido ovárico y testicular. Tales individuos se denominan frecuentemente hermafroditas verdaderos, para distinguirlos de los pseudohermafroditas que son intersexos que poseen sólo tejido ovárico o testicular, pero no ambos. Si solamente están presentes en los ovarios, el intersexo se denomina a veces, hembra pseudohermafrodita, mientras que si se presenta solamente tejido testicular se utiliza el término macho pseudohermafrodita.

Winter y Pfeffer (1977), en un intento de clarificar la clasificación de los individuos intersexuales, sugirieron que se deberían clasificar de acuerdo con el estadio del desarrollo sexual en el que tuvo lugar la anomalía (Nicholas, 1990). Éstos los clasifican como:

- Intersexos cromosómicos. Incluye todos los animales cuyo desarrollo sexual anormal se debe a anomalías en los cromosomas sexuales. Incluye todos los casos de alteraciones en los cromosomas sexuales (Nicholas, 1990).
- Intersexos gonadales. Son individuos que tienen un cariotipo de macho normal o de hembra normal, pero con gónadas que no corresponden al sexo cromosómico. Se incluyen los individuos XX o XY con ovariotestis, los individuos XX con testículos solamente y los individuos XY con ovarios solamente. Los freemartins encajan en esta categoría ya que son quiméricos solamente con respecto a las células sanguíneas y posiblemente las células germinales: todas las restantes células son XX. También se incluyen a los individuos XX o XY en los que las gónadas no se han desarrollado, una condición que se denomina disgénesis gonadal (Nicholas, 1990).
- Intersexos fenotípicos. Estos individuos tienen un sexo cromosómico y gonadal normal, pero algunas o todas las características sexuales, incluyendo las del tracto reproductivo, son anormales. Los individuos con feminización testicular pertenecen a esta categoría (Nicholas, 1990).

En la siguiente tabla (Tabla 4) se presenta una muestra de las aberraciones cromosómicas descritas en bovinos.

Tabla 4. Muestra de aberraciones cromosómicas en bovinos (Nicholas, 2003).

Aberración cromosómica	Tipo, cromosomas
Aneuploidía de los cromosomas sexuales	XXX, XXY
Aneuploidía de los autosomas	Trisomía 12, trisomía 16, trisomía 17, trisomía 18, trisomía 20, trisomía 22, trisomía 23, trisomía 24
Sitios frágiles	Sitios frágiles
Inserción	16
Inversión pericéntrica	14, X
Isocromosoma	X
Reversión del sexo	Hembras XY
Translocación por fusión céntrica	1/4, 1/21, 1/23, 1/26, 1/27, 1/28, 1/29, 2/4, 3/4, 3/27, 4/4, 4/8, 4/10, 4/21, 5/18, 5/23, 5/26, 6/28, 7/12, 7/21, 8/9, 9/23, 11/21, 11/22, 13/21, 14/20, 14/21, 14/28, 15/25, 16/18, 21/27, 27/29
Translocación recíproca	1/8/9, 8/13, 8/15, 10/11, 20/24, X/23, Y/17
Translocación en tándem	1/16, 1/18, X/23

Muerte embrionaria.

La mayoría de las pérdidas embrionarias parece ser que se deben a factores ambientales, tanto propios de la vaca como los que surgen por influencias externas. Se ha demostrado que el índice de anomalías genéticas, en la pérdida de embriones, es de alrededor del 8% (Gordon, 1996).

Las anomalías cromosómicas están comúnmente asociadas con anomalías en el desarrollo, muerte del embrión y diferentes niveles de infertilidad (Popescu, 1996).

Como ya se mencionó con anterioridad, la Translocación Robertsoniana es la aberración cromosómica más frecuente en el ganado vacuno (Hanada, 1981) y su efecto sobre la fertilidad ha sido estudiada exhaustivamente. Este tipo de Translocación parece causar una ligera reducción en la fertilidad debido a la muerte temprana de embriones no balanceados resultado de la segregación adyacente del cromosoma trivalente en la primera división (fases tempranas) (King et al., 1980, Logue y Harvey, 1978, Popescu, 1978, Popescu, 1980), donde la baja fertilidad se origina después de la fecundación, cuando los gametos no balanceados van a dar cigotos trisómicos y monosómicos que serán letales (Popescu, 1977).

Como ejemplo, citaremos la Translocación Robertsoniana 1/29; esta anomalía causa del 5-10% de la reducción de la fertilidad por el incremento de la muerte del embrión debido a la formación de gametos no balanceados (Popescu, 1990). Los toros portadores de esta Translocación parecen ser la causa de la formación de embriones anormales en alrededor del 10% de las concepciones, mientras que las vacas portadoras de esta Translocación causan el 20% de embriones anormales (Schmutz et al., 1990). Para lo cual, si uno de los progenitores es portador de una Translocación Robertsoniana los productos de la segregación incluirán al cariotipo normal, a un cariotipo anormal con la translocación presente (portadores), y cariotipos no balanceados: monosomías y trisomías para cada uno de los cromosomas involucrados en la translocación (Coates et al., 1987, Dunn y Johanson, 1972, Herzog y Hoehn, 1968, Long, 1984, Mori et al., 1969, Tschudi et al., 1975).

2.3. EFECTOS DEL AMBIENTE.

Una reproducción exitosa depende de factores genéticos, nutricionales, fisiológicos y ambientales. Las tasas óptimas son esenciales para el progreso en el mejoramiento animal y para una producción comercial adecuada. El desarrollo y funcionamiento normal de los órganos reproductivos depende de la interacción de muchos factores que incluyen la nutrición, enfermedades, temperaturas ambientales y otros; así mismo, existen defectos hereditarios que pueden afectar negativamente la anatomía y la función de los sistemas reproductivos (Warwick, 1992).

Nutrición.

Una alimentación óptima significa que los nutrientes individuales tales como vitaminas y minerales, deben ofrecerse en cantidades y proporciones adecuadas, ya que las interacciones entre los nutrientes pueden influir sobre su disponibilidad y utilización, que son determinantes o esenciales para la salud y productividad del animal (University of Florida, 1990).

Se sospecha que las deficiencias de vitaminas o elementos nutritivos pueden limitar la capacidad para la reproducción. En la hembra puede producirse la concepción, pero suele ocurrir desde un aborto, partos de crías muertas o débiles hasta retención de las membranas fetales (Warwick, 1992).

Los factores nutricionales necesarios para una reproducción exitosa, son los mismos usados durante el crecimiento, lactación y son igualmente los necesarios para conseguir un normal desarrollo de los órganos sexuales (Derivaux, 1982). Ellos incluyen energía, proteínas, vitaminas y minerales. Cualquier deficiencia o exceso de estos componentes, puede afectar la reproducción y probablemente afectará otras funciones fisiológicas (Zamora y Cerda, 2004). Por ejemplo, una deficiencia de nutrientes antes de la monta, puede causar problemas de esterilidad, estros silenciosos o fallas en establecer o mantener la preñez (Zemjanis, 1994).

Los machos delgados, emaciados o los que sufren deficiencias nutricionales, pueden tener un impulso sexual disminuido; si la inanición es grave, hay falta total del líbido. En los animales jóvenes con deficiencias nutricionales se puede retardar la presentación de la pubertad. Por otro lado, los machos sobrealimentados tienden a volverse perezosos y sufren problemas en las articulaciones y patas debido a su peso excesivo. La administración de abundante forraje en rumiantes puede causar un notable agrandamiento del abdomen, que interfiere con la cópula (Galina, 2006).

Edad.

La eficiencia reproductiva, es la eficiencia con que un animal o un rebaño producen descendencia. En bovinos, esta eficiencia depende de la edad a la cual machos y hembras producen su primera cría y del número de terneros nacidos de un determinado número de vacas y toros en un tiempo dado (Zamora y Cerda, 2004).

Los machos muy jóvenes muestran con frecuencia una falta parcial o total de deseo sexual. En toros jóvenes existe una marcada variación en cuanto a la presentación del deseo sexual y la pubertad, lo cual se ha demostrado que puede estar relacionado con la calidad de la dieta. La falta de experiencia en los toros jóvenes también se puede

confundir con la falta de libido. En los toros viejos la falta de libido puede deberse a la senilidad, artritis o uso excesivo (Galina, 2006).

Enfermedades.

- Sistémicas.

Cualquier enfermedad crónica o aguda y debilitante, que produce rápida pérdida de peso, depresión y debilidad, causará una pérdida variable del deseo sexual. Entre dichas afecciones se pueden considerar las neumonías, enteritis, tuberculosis, paratuberculosis, pediculitis actinimicosis, linfomatosis, necrosis grasa progresiva, parasitosis interna grave y metástasis tumoral avanzada (Galina, 2006).

- Lesiones y procesos patológicos articulares, musculares, nerviosos, óseos y tendinosos.

Estas lesiones, principalmente involucran a los miembros posteriores, pueden provocar la reducción o pérdida de la conducta reproductiva. Como ejemplos se tiene coxitis degenerativa, pododermatitis, necrosis interdigital y tendinitis. En columna podrían ser anquilosis, espondilosis de las vértebras lumbares y dorsales, sinartrosis y espondilartrosis (Galina, 2006).

- En pene y prepucio.

Incapacidad para exteriorizar el pene, ya sea por: 1) Anomalías congénitas del desarrollo del pene y prepucio, con o sin pseudohermafroditismo peroculino. 2) Pene corto congénito o 3) Músculo retractor del pene congénitamente corto (Galina, 2006).

Desviación del pene (phalocampsis) como la desviación en espiral o tirabuzón, la presencia congénita del frenillo ventral, torción ventral o en “arco iris” (Galina, 2006).

Adherencias del pene y prepucio en la región de la flexura sigmoidea, ruptura o fractura del pene con hematoma, tumores del pene o prepucio como el fibropapiloma (es el más importante), fimosis o estenosis del orificio prepucial (impide la exteriorización normal del pene) y la parafimosis o incapacidad de retraer el pene que produce edema y balanopostitis (Galina, 2006).

- Alteraciones en el cuadro espermático.

En este tipo de alteraciones se presenta una degeneración testicular progresiva, donde ocurren procesos degenerativos en el epitelio seminífero, y reversible, que es un proceso patológico de degeneración testicular por un periodo corto retornando a la normalidad (Galina, 2006). Orquitis (inflamación de testículos, hipoplasia testicular (se produce debido al subdesarrollo congénito de las gónadas), inmadurez sexual, espermatogénesis imperfecta (se caracteriza por una hipoespermatogénesis congénita), tumor testicular, epididimitos, granuloma espermático, alteraciones de la vesícula seminal que entre las más frecuentes están la vesiculitis, hipoplasia, agenesia y aplasia segmentaria, y por último la ampullitis (inflamación de las ámpulas de los ductos deferentes) (Galina, 2006).

Manejo y estrés de los toros.

Un manejo reproductivo incluye el entendimiento de los diversos sistemas responsables para maximizar la eficacia reproductiva. Con este conocimiento, incluye aquellos factores que limitan el comportamiento reproductivo bajo condiciones rutinarias de manejo del hato, tales como nutrición, enfermedades y estrés, los que pueden ser identificados y mejorados o corregidos (University of Florida, 1990).

El manejo agresivo de los animales puede reducir considerablemente su productividad y bienestar, debido a que aprenden a tener miedo a las personas en general o a algunos individuos como resultado de un manejo rudo. Los animales tienden a asociar el maltrato con las personas. La capacidad para reconocer a la gente por parte de los animales se ha demostrado en muchas especies y se ha visto que los animales que tienen miedo a las personas disminuyen su producción (Rushen et al., 1999).

La libido varía según su impulso sexual básico (determinado genéticamente) y de la forma en que se entrena, trata y maneja al semental. Los animales jóvenes aislados de otros individuos de su especie se asustan con frecuencia con la presencia de otros machos o hembras activas, por lo que son lentos en copular debido a la inexperiencia y timidez. Por esto, los animales jóvenes deben tratarse con paciencia y cuidado,

especialmente si se desea colectar semen con vagina artificial. Si el macho asocia el sexo con dolor o castigo, puede decidir abandonar esta práctica (Galina, 2006).

Los efectos directos del ambiente como son la temperatura, humedad y radiación solar, sobre la eficacia reproductiva, son bien conocidos y constituyen una de las principales razones de los problemas reproductivos (Iturbide, 1987).

Temperatura, humedad y luz.

La temperatura es otro factor que afecta la conducta reproductiva y aún en animales que no son estacionales, los cambios de temperatura pueden afectar su comportamiento reproductivo. Se ha observado en vacas y ovejas que una temporada de frío súbito disminuye el número de animales en estro (Fraser y Broom 1997; McKenzie et al., 1975)

Los efectos más dramáticos se presentan a nivel de la expresión del celo y sobrevivencia embrionaria. Además de la temperatura elevada durante el estrés térmico, otros factores podrían afectar negativamente la fertilidad, tales como la pérdida en la condición corporal (Fuquay, 2002).

Los factores ambientales en el trópico muestran una influencia directa sobre la fisiología reproductiva e indirecta sobre la calidad y cantidad de alimento disponible (Valle, 2004).

En los mamíferos, la espermatogénesis se realiza eficientemente a temperaturas por debajo de las corporales y es el organismo el encargado de mantener los testículos de 4°C ó 5°C por debajo de la temperatura corporal. Los estudios realizados demuestran que existe una relación entre características seminales y el ambiente (las temperaturas elevadas disminuyen la concentración espermática, reducen la motilidad y aumenta el número de anomalías de los espermatozoides) (Valle, 2004).

A temperaturas mayores de 25°C, el animal aumenta su temperatura corporal y a partir de ese momento el número de respiraciones se duplica por cada 10°C de aumento en la temperatura ambiental, por lo cual el animal reduce el consumo de alimento con su efecto negativo en el consumo de energía y otros nutrientes que afectan la producción de leche y la reproducción (Iturbide, 1987).

En el caso de los machos (toros, verracos) el aumento de temperatura en el verano (40-45°C) disminuye la libido, debido posiblemente a la hipertermia y a la dificultad para disipar el calor (Fraser y Broom, 1997). Si a esto se agrega el calor producido por la actividad física durante el apareamiento, el animal sufre mayor incomodidad, lo que da como resultado una menor actividad sexual (Ortega, 2006)

No debe olvidarse que los animales no sólo tienen un ritmo, sino múltiples en su organización fisiológica y cada elemento de la conducta tiene su propia relación con el ambiente (Ortega, 2006).

Instalaciones.

Es necesario conocer el espacio mínimo que requiere un animal de acuerdo a la especie y a la edad, para disminuir el estrés y evitar los efectos que este puede tener en la producción (Ortega, 2006).

En animales que se encuentran hacinados es frecuente que se desarrollen conductas estereotipadas, que afectan su productividad (Vickery y Manson, 2005).

Se ha encontrado también relación entre el espacio de que disponen los animales y la estación del año, en estudios realizados se observó que la agresividad varió de acuerdo a la estación del año; en primavera las conductas agresivas fueron mayores en los corrales grandes y en verano en los chicos (Pollard y Littlejohn, 1996).

CAPITULO 3. IMPORTANCIA DE LOS ESTUDIOS GENÉTICOS Y DEL SEMEN EN ANIMALES SEMENTALES.

3.1. MEJORAMIENTO GENÉTICO.

Como ya se ha mencionado con anterioridad, existen varios factores que pueden afectar la eficiencia reproductiva, estas características se pueden evaluar controlando el éxito del proceso reproductivo. Sin embargo, las características cromosómicas pueden evaluarse a edades tempranas, por ejemplo si un reproductor es portador de anomalías cromosómicas que afectan la fertilidad, no es necesario esperar largo tiempo para descartar a este animal como reproductor. Por esta razón se hace indispensable incorporar el diagnóstico cromosómico como prueba de rutina para la detección precoz de anomalías cromosómicas, que puedan incidir sobre la fertilidad del ganado. El manejo reproductivo que incluya un registro riguroso de la eficiencia reproductiva, incluyendo pruebas de progenie, puede también descartar este tipo de problemas, aunque como ya se mencionó sería a largo plazo (Vera et al, 1997).

Existen dos alternativas para erradicar las anomalías cromosómicas de los reproductores, la primera es a largo plazo e implica una selección por pruebas de progenie y de eficiencia reproductiva, la segunda es más rápida y confiable y consiste en el diagnóstico cromosómico temprano, eso significa a corto plazo, cuando los animales están recién nacidos o tienen corta edad. En centros de cría con sistemas de reproducción altamente eficientes este tipo de diagnóstico también sería de gran valor, porque ahorra tiempo y permite una planificación factible (Vera et al, 1997).

Se recomienda utilizar el diagnóstico cromosómico y el adecuado manejo reproductivo como valiosas herramientas para optimizar la eficiencia reproductiva del ganado bovino. Este diagnóstico es factible porque no requiere de equipos sofisticados sino de los recursos básicos de un laboratorio y su costo es moderado. En Europa este es un estudio obligatorio de rutina, que ha permitido erradicar el problema de las anomalías cromosómicas en el ganado bovino (Popescu, 1989).

Es importante establecer programas nacionales de mejoramiento genético que permitan identificar aquellos animales que satisfacen de la mejor manera las demandas del mercado nacional e internacional. El gobierno mexicano reconoció en 1998 la necesidad de un programa nacional de mejoramiento genético y publicó un documento que contiene las acciones que se deben tomar para lograr el objetivo (Rosales-Alday et al, 2004); algunos de los puntos relevantes, para este trabajo, del programa antes mencionado (el “Programa Nacional de los Recursos Genéticos Pecuarios”) se describen a continuación.

- Estrategias de conservación de los recursos genéticos pecuarios.

La conservación de los recursos genéticos implica tanto la preservación de los recursos genéticos en peligro de extinción, como la utilización racional de las razas locales adaptadas y de razas exóticas, de tal forma que sigan contribuyendo al bienestar de la sociedad en forma permanente. Para definir una determinada estrategia de conservación, se requiere de la disponibilidad de información cuantificable.

La conservación puede ser *in situ* o *ex situ*, dependiendo de los objetivos específicos que se plantean en relación con un determinado recurso genético que posee cualidades específicas. La conservación *ex situ* consiste en almacenar semen, embriones, oocitos y ADN, preferentemente, una vez que se haya hecho una evaluación genética de los animales en cuestión. Esta estrategia, además de garantizar la existencia permanente de estos recursos, también permite a los productores propietarios gozar de los beneficios que se derivan de ello. El programa nacional facilitará significativamente esto.

La conservación *in situ* se refiere al mejoramiento genético y a la utilización y preservación de los animales bajo las condiciones agroecológicas en las que se desarrollan. Esta estrategia permite que el reservorio genético que esos animales poseen, continuamente enfrente las variaciones en las condiciones ambientales, permitiendo además, modificar las estrategias de mejoramiento de acuerdo con las exigencias del mercado y con los cambios en productos pecuarios que la sociedad demandará con el paso del tiempo.

- Evaluación estratégica de los recursos genéticos.

El establecimiento de evaluaciones genéticas sistemáticas de los animales, requiere de la participación organizada de al menos tres instancias: los productores a nivel de su empresa, la asociación de criadores de ganado de registro, y las instituciones académicas.

La asociación de criadores, publica los listados oficiales correspondientes, con el aval del Consejo Nacional de los Recursos Genéticos Pecuarios, para conocimiento de los productores y para la toma de decisiones sobre qué animales seleccionar como reproductores, así como el uso extensivo de aquéllos que resultaron ser sobresalientes.

Es importante señalar que con el mejoramiento del nivel productivo por animal se logrará tener un mayor volumen de producción con igual o menor inventario ganadero, lo que a la vez resultará en un uso más racional de los recursos naturales.

- Contribución de la genética molecular y la ingeniería reproductiva a la conservación de los recursos genéticos pecuarios.

En los últimos años se han desarrollado nuevas disciplinas y conocimientos vinculados con la biotecnología animal, que están modificando significativamente los avances de la industria pecuaria; su impacto en la ganadería de los países desarrollados es evidente, mientras que en los países en vías de desarrollo dicho impacto apenas comienza a apreciarse.

La genética molecular ofrece a la ganadería mecanismos para garantizar la conservación de los recursos genéticos tanto *in situ* como *ex situ*. Es posible evaluar los niveles de biodiversidad presentes en las poblaciones animales, permitiendo racionalizar las acciones de conservación de los recursos genéticos animales.

Mediante la ayuda de marcadores genéticos que se asocian a mayor productividad, se facilita emprender programas de mejoramiento genético más efectivos. Además, es posible la búsqueda, clonación y aprovechamiento de genes novedosos, que pueden ser importantes en la producción animal, en general, y en la industria de la biotecnología, en particular.

Uno de los aspectos importantes en la optimización de los programas de conservación de los recursos genéticos es el desarrollo de metodologías de ingeniería reproductiva, tales como la criopreservación de semen, oocitos, células somáticas y embriones, así como las técnicas modernas de clonación de individuos a partir de células somáticas.

A continuación se describen las tecnologías que servirán como instrumentos para el Programa:

a) Uso de marcadores genéticos en ganadería. Los marcadores genéticos pueden consistir en variantes polimórficas de segmentos de ADN, o bien, de genes específicos, en los que se han identificado ciertas variantes que tienen efectos positivos en características productivas.

Los marcadores genéticos a nivel de ADN pueden emplearse para un gran número de aplicaciones: en la identificación y registro de individuos; en la determinación del grado de consanguinidad y diversidad genética existente entre y dentro de las poblaciones; en la estimación de las distancias genéticas presentes en las poblaciones animales, así como en definir sus orígenes y procesos evolutivos; en programas de selección, como una guía para definir estrategias de apareamiento con varios fines, como el incremento del vigor híbrido en poblaciones comerciales; y en la introducción de nuevos alelos dentro de una población comercial o en la formación de razas sintéticas.

Por otra parte, un registro genético de reproductores basado en marcadores de ADN, puede utilizarse por las asociaciones de criadores para garantizar la identificación de individuos, al permitir autenticar su progenie, la exclusión de paternidad y resolver cualquier disputa de propiedad; asimismo, empleando marcadores residentes en el cromosoma X, es posible trazar la descendencia femenina de un semental, o bien la masculina, utilizando marcadores localizados en el cromosoma Y. Estos últimos marcadores pueden a su vez usarse en el sexado de embriones, con amplias posibilidades en explotaciones en donde un solo sexo es más importante en el sistema de producción.

Los marcadores genéticos permiten evaluar los niveles de diversidad genética presentes en las diferentes poblaciones animales e identificar aquéllas que son únicas, facilitando la toma de decisiones en políticas de conservación.

Los marcadores genéticos pueden ser una herramienta para resolver algunas limitaciones asociadas con el tamaño de las poblaciones que evolucionan en distintos ecosistemas o regiones. Por ejemplo, el conocimiento de distancias genéticas entre poblaciones de criollos que han evolucionado en diferentes lugares de América Latina y el Caribe y que individualmente son de tamaño reducido, sería de utilidad para definir una estrategia de mejoramiento o de conservación y manejo, según como fuera el caso.

b) Inseminación artificial, transferencia, manipulación y criopreservación de embriones semen, oocitos y células somáticas. Estos componentes biotecnológicos son las herramientas que están siendo utilizadas para promover avances genéticos en las poblaciones normales (con tamaño estable y grande), y también para la conservación *ex situ* de algunos recursos genéticos que podrían estar en peligro de extinción o que están en situaciones vulnerables. Las técnicas de inseminación artificial y de transferencia de embriones son muy comunes en México, por lo que su direccionamiento hacia programas de conservación, es factible y seguro.

Es importante señalar que de no contar con evaluaciones genéticas de los animales, la aplicación de estos componentes biotecnológicos tendrían efectos limitados sobre la ganadería en general. Por otro lado, estas herramientas también se utilizan en estrategias de evaluación genética de los animales, para lograr el mejoramiento genético en un menor tiempo, como es el caso de pruebas de progenie y esquemas de superovulación y transferencia de embriones.

El material genético obtenido de individuos selectos de diferentes orígenes y especies domésticas, y conservado a través de la congelación de semen, embriones, oocitos y células somáticas, constituirán el banco de germoplasma animal *ex situ* dentro el contexto del Programa Nacional de los Recursos Genéticos Pecuarios. Con ello, se garantizará la variabilidad genética y la disponibilidad de genes específicos en programas de introgresión y transferencia génica, en el futuro.

Cabe señalar que la conservación de células somáticas (fibroblastos) es importante, ya que con las nuevas metodologías de clonación de individuos, a partir de estas células, se hace factible recuperar y perpetuar a animales ya evaluados productivamente y con demostrado valor comercial.

(“Programa Nacional de los Recursos Genéticos Pecuarios”, 1998).

3.2. SELECCIÓN DE SEMENTALES.

La verificación de un buen desempeño reproductivo después de un periodo de empadre, es un identificador eficiente de la fertilidad de un toro o un grupo de ellos (Galina y Valencia, 2006), pero para identificar a los toros fértiles antes del empadre se emplea la evaluación andrológica. Con ello se toman en cuenta los indicadores de la integridad genital (que incluyen una evaluación clínica general y particular del sistema genital), los indicadores de la producción seminal (se refiere a la evaluación de la cantidad y calidad del semen producido) y los indicadores de la habilidad de monta o libido (explican el comportamiento y habilidad en completar el acto sexual para la deposición del semen en el aparato genital de la hembra) (Galina y Valencia, 2006).

Los técnicos de campo responsables de la selección de animales, necesitan normas o valores límite para clasificar a los toros como aptos o no aptos para la reproducción. Entre estas normas destacan las propuestas por la Sociedad Americana de Teriogenología, la Asociación de Veterinarios del Oeste Canadiense, el Colegio Brasileiro de Reproducción Animal y la Asociación de Veterinaria Australiana. Donde a través de un estudio realizado en Brasil se reiteraron las dificultades para los criterios de clasificación de los toros como aptos para la reproducción. Entre estos se contemplo que entre los factores que afectan la potencial reproductiva de los toros, destacan las diferencias raciales, peculiaridades relativas a los examinadores y sistemas de explotación (Galina y Valencia, 2006).

Una alternativa es que los criterios para la clasificación de la potencialidad reproductiva de los toros sean más flexibles. Dichos criterios consideran los fundamentos teóricos de los conjuntos de normas mencionadas y pueden ser resumidos de la siguiente forma: los toros aptos no deben presentar lesiones clínicas en los órganos genitales y de tenerlas deben ser leves, sin comprometer la función testicular evaluada por la motilidad, vigor y morfología espermática. El tamaño de los testículos no debe ser un factor de descarte si son simétricos y si el perímetro escrotal es superior a 30cm, en animales con más de 24 meses de edad, y si los estimadores de la función testicular no están alterados. El valor preferencial para la

motilidad espermática debe ser superior a 50%, con vigor superior a 2 (escala de 0-5), compatible con el porcentaje de espermatozoides normales, el porcentaje de células normales en los eyaculados, debe ser como mínimo 60%. Los toros que no presenten estos patrones deben evaluarse una vez más y, por lo tanto, considerarse como en evaluación. Después de algunas reevaluaciones será posible obtener un diagnóstico más preciso de la recuperación o no de cada animal. La categoría de los no aptos, puede incluso dispensar mas de una evaluación cuando se constatan alteraciones obvias en los órganos genitales externos o internos, o asimismo alteraciones físicas no específicas (como problemas en miembros o articulaciones) acompañadas o no de un cuadro espermático deficiente (Galina y Valencia, 2006).

Existen tres criterios para la conducción de los exámenes andrológicos, aunque ésta propuesta debe ser mejorada siempre que surjan nuevas informaciones, sin descuidar los aspectos relativos del costo y beneficio para los productores. El criterio 1 es usado para toros jóvenes, el criterio 2 se usa en toros para comercialización y el criterio 3 se usa en toros para uso de monta natural (Galina y Valencia, 2006).

Una clasificación de los reproductores con base en el examen andrológico puede obtenerse por un sistema denominado CRGC (clasificación reproductiva en grupos contemporáneos), empleando la siguiente fórmula:

$$\text{CRGC} = [1 - (\text{No. Orden} / \text{N}+1)]$$

Los animales aptos en el grupo contemporáneo (N) serán ordenados de acuerdo con los valores obtenidos en todos los criterios utilizados (No. de orden). La sustitución de los valores en la fórmula produce un índice relativo decreciente para la calificación de los individuos. Este índice es proporcional al tamaño del grupo contemporáneo, indicando que será mayor la precisión en las comparaciones en cuanto el número de animales vaya aumentando en cada grupo (Galina y Valencia, 2006) (Tabla 5).

Tabla 5. Grupo contemporáneo con ocho toros de 3 años de la raza Brangus-Ibagé, siendo siete animales aptos (Galina y Valencia, 2006).

IDENT.	EXAMEN CLÍNICO	PERÍMETRO ESCROTAL	VOLUMEN DE SEMEN	MOTILIDAD	VIGOR	% NORMALES	NÚM. ORDEN	CR
103	Saa	34.0 cm	1.0 ml	70%	3	93	1	0.8
86	Saa	30.5 cm	1.5 ml	80%	3	70	2	0.7
93	Saa	29.5 cm	1.5 ml	80%	4	66	3	0.6
104	Saa	32 cm	1.0 ml	70%	3	70	4	0.5
83	Saa	31 cm	1.2 ml	50%	2	88	5	0.5
89	Saa	28.5 cm	1.0 ml	70%	2	79	6	0.5
102	Testículos flácidos	30 cm	1.3 ml	60%	2	64	7	0.1
100	Testículos flácidos	30 cm	1 ml	30%	1	43	8	0

Saa, sin alteraciones aparentes en los órganos genitales.

Es el primero de los considerados no aptos.

Los aptos, sin alteraciones clínicas, se consideran en condiciones satisfactorias para la monta natural de 30-40 vacas durante un periodo de 60 a 90 días. El segundo grupo de animales, que continúa en evaluación, presentó alteraciones clínicas leves o testículos menores que la medida de su grupo contemporáneo. Estos toros se someten a recolección y evaluación del semen. Cuando la motilidad espermática es satisfactoria (motilidad > 50% y vigor >2), los animales se consideran también aptos. En caso contrario, se realiza el espermiograma para auxiliar en el diagnóstico. Cuando el porcentaje de espermatozoides normales está por debajo del 60%, estos animales continúan en evaluación. El grupo de los descartados lo componen los animales con alteraciones clínicas graves, identificados con un único examen (Galina y Valencia, 2006).

Las alteraciones clínicas frecuentes en los toros considerados no aptos son:

- En la integridad genital. Aplasia/hipoplasia testicular, consiste en el desarrollo incompleto o imperfecto de los testículos. Aplasia segmentar del epidídimo, se caracteriza por el desarrollo incompleto o imperfecto de cualquier parte del órgano. Alteraciones postraumáticas o infecciosas, se pueden diagnosticar en cualquier parte de los genitales de los toros, como

ejemplo se tiene a la orquitis normalmente asociada a epididimitos. Las vesiculitis seminales, consisten en alteraciones anatómicas y funcionales de las glándulas vesiculares, con o sin la presencia de pus en el semen de los toros. Acroburstitis o postitis ulcerativa, se caracteriza por la aparición de úlceras y escaras adheridas a la piel del orificio del prepucio (Galina y Valencia, 2006).

- En la función gonadal. La degeneración testicular es la principal alteración en la producción espermática que compromete la fertilidad de los bovinos y ovinos. Esta puede afectar uno o ambos testículos de forma permanente, progresiva o también temporal. Otras alteraciones diagnosticadas con baja frecuencia son las espermatogénesis alterada y la disfunción epididimaria (Galina y Valencia, 2006).

- En la actividad sexual. La libido o instinto sexual se determina genéticamente; sin embargo, muchos factores ambientales pueden afectar o modificar en comportamiento sexual se toro (estos factores se describen en el capítulo 2). La determinación de la libido puede ser realizada de diferentes maneras, basadas normalmente en el número de montas efectuadas en un determinado periodo. Por lo que la habilidad de monta también puede verse alterada. Ésta comprende de las etapas de la cópula, desde la manifestación de la libido, erección y exteriorización del pene, la procuración de la vulva y vagina de la hembra, hasta los movimientos característicos de la eyaculación. Estos factores son fundamentales en la selección y calificación de un toro como apto para la reproducción. Diversos estudios demostraron los aspectos cuantitativos de la habilidad de monta denominada capacidad de servicio.

La prueba de capacidad de servicio consiste en la cuantificación del número de montas en hembras sujetas que un toro ejecuta en 20 min, permitiendo la clasificación de los animales como de baja, media, alta y hasta muy alta capacidad de servicio (Galina y Valencia, 2006). Blockey (1989) estudió la relación entre la capacidad de servicio del toro y su fertilidad, donde, los toros con baja capacidad de servicio producen índices de gestación significativamente mas bajos, después de un periodo de 10 semanas de montas, que los que muestran capacidades más altas (Gordon, 1996). Diversas patologías del pene, prepucio, cascos y articulaciones pueden

comprometer la actividad sexual (Galina y Valencia, 2006). (Parte de estas patologías han sido mencionadas en el capítulo 2, pero para mayor detalle se pueden consultar otros textos).

3.3. MANEJO DE PORTADORES.

El manejo reproductivo puede influir en la erradicación de reproductores portadores de anomalías cromosómicas, si existe una rigurosa selección por eficiencia reproductiva tanto en machos como en hembras y los toros donantes de semen, para congelación, son debidamente evaluados para el descarte de anomalías cromosómicas, este problema debería eliminarse o reducirse a la mínima expresión (Vera, et al, 2002).

Control de defectos genéticos

La mejor manera de controlar los defectos de origen genético sin duda es eliminar los animales portadores de los genes responsables (Arroyo, 2007).

Las cabañas de punta y los centros genéticos propietarios de los toros usados en inseminación artificial y de vacas donantes pueden tener interés en probarlos para tener garantías de que no son portadores de genes indeseables (Arroyo, 2007).

Cuando el rasgo es dominante, no es necesaria la prueba dado que el animal mostraría la característica indeseable aun siendo heterocigoto; el individuo portador de un solo gen indeseable usualmente también puede ser identificado sin necesidad de probarlo, o sea que las pruebas son necesarias sólo cuando los rasgos son heredados como caracteres recesivos (Arroyo, 2007),

Cuando se trata de un defecto no letal, la prueba más económica es aparear los animales a ser probados con aquellos reconocidos como portadores del gen indeseable; por ejemplo, si los cuernos son indeseables, los animales mochos a ser probados serían apareados con animales astados para producir al menos 7 terneros ($P > .99$): si aparece al menos un ternero astado, es prueba de que su antecesor mocho es portador de un alelo para astado (Arroyo, 2007).

Si se trata de probar una sola característica que es letal, la prueba debería hacerse utilizando animales que hayan producido alguna cría con ese rasgo letal; deben nacer

al menos 16 terneros a partir de este apareamiento ($P > .99$); si nace al menos un ternero con el defecto letal, el animal en prueba es portador de un alelo recesivo para este carácter (Arroyo, 2007).

No hay ninguna duda en que cuando el conjunto de genes deseables puede ser encontrado en otros animales libres de los indeseables, los animales portadores deben ser descartados y sacrificados; solamente en casos de toros portadores con productividad altamente superior, podría llegar a justificarse que sean empleados en programas de cruzamientos únicamente para producir carne (Arroyo, 2007).

3.4. INSEMINACIÓN ARTIFICIAL (AI)

La inseminación artificial es una técnica que permite un mejor uso del material genético de los machos cuyas características zootécnicas son superiores a la mayoría de los animales de su especie. Ésta facilita la fecundación y producción de una cría (Galina y Valencia, 2006).

La AI proporcionó al ganadero la posibilidad de usar toros que, de otra forma, no hubiera sido capaz de utilizarlos en su rebaño (Gordon, 1996).

Ventajas y desventajas de la inseminación artificial.

Ventajas.

- Permite el mejoramiento genético acelerado, mediante el uso de sementales probados.
 - Mejor utilización del semental, ya que a partir del eyaculado es posible inseminar a varias hembras.
 - Evita la transmisión de enfermedades venéreas.
 - Facilita el transporte y la distribución del semen.
 - Evita la presencia del macho en el hato y el gasto de su manutención, así como el peligro que representa.
 - Estimula el uso de registros.
 - Facilita la implementación de programas de sincronización y cruzamientos.
- Posibilita la adquisición de semen de animales valiosos por parte de ganaderos de escasos recursos.

Desventajas.

- Implica un dominio de la técnica.
- Se requiere detección del estro.
- Puede diseminar características indeseables.

Galina y Valencia, 2006 (Consultar bibliografía).

Colección de semen.

Básicamente existen tres métodos de colección de semen en toro: vagina artificial, electroeyaculación y masaje de las ampollas deferentes. Donde el método de elección en el bovino es usar la vagina artificial, ya que el eyaculado obtenido es normal y representativo del toro en ese momento.

3.4.1. EVALUACIÓN DEL SEMEN ANTES DE LA CONGELACIÓN.

Después de su obtención, el semen se coloca en baño María a 30-32°C y se procede a evaluar las siguientes características (Galina y Valencia, 2006).

Volumen. Sólo es significativo si se usó la vagina artificial. Se mide directamente en la graduación en ml del tubo de centrifuga o recipiente colector (Galina y Valencia, 2006).

Color y aspecto. Usualmente el semen del toro es de color blanco marfil y su aspecto varía entre acuoso, lechoso y cremoso, dependiendo de la cantidad de espermatozoides que contenga. El color amarillo limón que se observa en algunos toros es normal, el color rojo o café indica que contiene sangre fresca o sangre vieja (Galina y Valencia, 2006).

Concentración espermática o densidad. Es el número de espermatozoides por mm^3 o cc. La concentración normal del semen de bovino es de 800 a 1,200 millones de espermatozoides por centímetro cúbico (ml), o sea, 0.8 a 1.2 millones por mm^3 (Galina y Valencia, 2006).

La concentración o densidad se calcula por varios métodos:

- Hemocitómetro de Spencer. Este método es el mismo que se utiliza para el conteo de glóbulos rojos. La dilución con la pipeta de glóbulos rojos utilizando una solución salina al 3% con formalina para matar a los espermatozoides y poder contarlos sobre la cuadrícula de cámara de Spencer (Galina y Valencia, 2006).
- Espectrofotómetro y colorímetro. Consiste en hacer una dilución del semen 1:40y medir la transmisión de la muestra en el aparato; esto con su respectiva curva de calibración (Galina y Valencia, 2006).
- Espermaticitómetro o espermaticrito. Se basa en el principio del hematocrito. Al centrifugar el semen en una micropipeta se separa el paquete celular y el plasma seminal. La relación entre los dos permite calcular el número de espermatozoides en un volumen fijo (Galina y Valencia, 2006).
- Contador fotoeléctrico de células. El semen diluido se pasa por unas celdillas fotoeléctricas y la cantidad exacta de células aparecen en números digitales sobre el tablero (Galina y Valencia, 2006).

Motilidad. Uno de los aspectos más importantes en la evaluación del semen es la motilidad. En el bovino se determina microscópicamente en dos formas:

- Movimiento en masa. Para evaluarlo se coloca una pequeña gota de semen sobre un portaobjetos y se observa con el objetivo seco débil sobre una termoplatina a 40°C. En un buen eyaculado aparecen ondas en forma de herradura que se mueven rápidamente. La intensidad del movimiento permite hacer una apreciación subjetiva de acuerdo con la siguiente escala: 0-nulo, 1-escaso, 2-regular, 3-bueno y 4-muy bueno (Galina y Valencia, 2006).
- Movimiento progresivo. Se evalúa al poner una pequeña gota de semen en un portaobjetos con cubreobjetos y se observa con el objetivo seco fuerte. El movimiento individual de los espermatozoides debe ser lineal, progresivo y se calcula en porcentaje. Una buena muestra debe tener 70% de espermatozoides con este tipo de movimiento. El movimiento circular o local es anormal (Galina y Valencia, 2006).

pH. Se mide con el papel tornasol o con el potenciómetro. El pH normal de semen de bovino es de 6.9 (Galina y Valencia, 2006).

Morfología. Para observar la cantidad de espermatozoides vivos y las anomalías, generalmente se mezcla el semen con colorantes y se realiza un frotis. En otras técnicas, primero se hace un frotis del semen y luego se tiñe la laminilla. Existe gran cantidad de tinciones, como: eosina-nigrosina, rojo de Bengala-Azul Victoria, wells, Williams, Giemsa, tinta china, Fuchina Fenicada, violeta de metilo, anilina y coloración de Karras. También es posible usar preparaciones líquidas (solución de Hancock) mezcladas con el semen y observarlas al microscopio de contraste de fase. Por lo común, se cuentan 300 espermatozoides en varios campos y se anotan los alterados y el tipo de alteración (Galina y Valencia, 2006).

3.4.2. EVALUACIÓN DEL SEMEN DESPUÉS DE LA CONGELACIÓN.

El espermatozoide es una célula altamente especializada, constituida por tres segmentos: a) cabeza, la cual contiene el DNA, responsable del material genético masculino en la fecundación; b) pieza intermedia, que contiene mitocondrias importantes para la producción de energía; y c) cola, importante para la motilidad espermática (Fig. 19a), en la figura 19b se muestra una fotografía de un espermatozoide de bovino. La parte anterior de la cabeza espermática está cubierta por el acrosoma el cual se extiende hasta la región ecuatorial. El acrosoma está constituido por dos membranas (interna y externa) y contiene enzimas importantes para la fecundación. Externamente, la célula espermática está envuelta por una membrana plasmática. Cada segmento de la célula espermática es fundamental para el transporte de la misma por el aparato genital, la interacción con el ovocito y, por su puesto, la fecundación (Galina y Valencia, 2006).

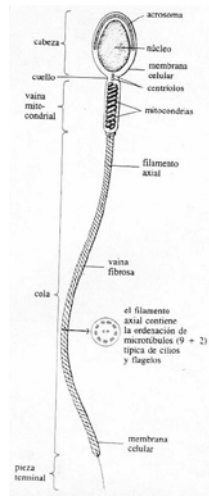


Figura 19.(a). Esquema de un espermatozoide normal de humano donde se muestra los segmentos que lo conforman (www.ugrj.org.mx), (b). Imagen de un espermatozoide de toro (www.um.es).

La membrana plasmática que envuelve al espermatozoide tiene un papel importante durante el transporte espermático en el aparato genital femenino y en la interacción con el óvulo. La composición, estabilidad, fluidez y permeabilidad de la membrana plasmática son factores esenciales en la capacidad espermática, así como las modificaciones que sufre durante el transporte espermático en el aparato genital masculino, en el eyaculado y en el paso por el aparato genital femenino. La membrana plasmática contiene fosfolípidos (fosfoglicerolípidos y esfingomielina), lípidos neutros y glucolípidos. Estos lípidos y las proteínas integrales de la membrana son distribuidos asimétricamente entre los diferentes segmentos del espermatozoide. En la membrana plasmática, las glicoproteínas y lípidos específicos forman los denominados glicocálices, los cuales probablemente están involucrados en la interacción con el ovocito (Galina y Valencia, 2006).

En la criopreservación ocurre una pérdida de los espermatozoides viables de alrededor de 50 a 60%, aún en los mejores sistemas de congelamiento espermático. Esta baja sobrevivencia de las células espermáticas se debe principalmente a lesiones

funcionales y estructurales de la membrana espermática y cambios bioquímicos. Desde el periodo de enfriamiento hasta el proceso total de congelamiento, sufriendo la membrana espermática varias modificaciones. La temperatura más crítica durante el congelamiento es entre los 15 y 5°C. En la curva de congelamiento, puede ocurrir una prematura depolimerización de los filamentos de actina, fusionándose ésta con la membrana externa del acrosoma, causando una disminución de la cantidad de enzimas e inactivando algunas de ellas, como la hialuronidasa y la acrosina. Además, los grupos sulfhidrilos son reducidos durante la criopreservación, causando una desestabilización de la estructura proteica de la membrana celular. Estos daños bioquímicos y ultraestructurales son los principales responsables de la relativa baja sobrevivencia de las células espermáticas durante el congelamiento del semen (Galina y Valencia, 2006).

La baja fertilidad del semen congelado es un importante factor de pérdida económica durante un proceso de inseminación artificial. Para evitar estas pérdidas, la fertilidad del semen debe ser evaluada después de su procesamiento y antes de cada estación reproductiva. La reducción de la fertilidad del semen ocurre frecuentemente por errores en el proceso de congelación y manipulación incorrecta del termo y del semen, principalmente por exposiciones prolongadas a elevadas temperaturas (Galina y Valencia, 2006).

El método más simple de evaluación del semen congelado es la determinación subjetiva de la motilidad espermática después del descongelamiento. Este método es un buen indicador de la viabilidad espermática, mas no de la fertilidad. El semen puede tener una motilidad espermática por arriba de 50% después del descongelamiento, pero si los espermatozoides presentan lesiones en la membrana plasmática, en el acrosoma, en el núcleo o en otro compartimiento celular, como consecuencia de problemas en el proceso de congelación o en la manipulación del semen, su capacidad fecundante puede verse considerablemente reducida (Galina y Valencia, 2006).

Los parámetros iniciales de evaluación del semen congelado son:

Volumen de la dosis (el mínimo aceptable es de 0.25ml), motilidad espermática progresiva posdescongelamiento (mínimo 30%), vigor espermático (mínimo de 3 en una escala de 1 a 5) y morfología espermática (máximo de 20 a 30% de defectos

totales, dependiendo de si la concentración de espermatozoides con motilidad progresiva está entre 6×10^6 a 10×10^6 o es mayor de 10×10^6 (Galina y Valencia, 2006).

Pruebas de termorresistencia. El principio de estas pruebas se basa en el hecho de que si el semen presenta un índice mínimo de viabilidad espermática después del estrés térmico, los espermatozoides estarían íntegros y consecuentemente con capacidad fertilizante. Con base en este principio se han diseñado tres pruebas. La prueba de termorresistencia (T.T.), que consiste en someter una muestra de semen a 38°C durante 5hrs y evaluar el porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva; la prueba de termorresistencia lenta (T.T.R.), la cual consiste en someter una muestra de semen a 46°C durante 3° min y evaluar el porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva; y la prueba de resistencia al estrés térmico (T.T.S.), la cual consiste en someter una muestra de semen a 38°C durante 5hrs y después seguir manteniéndola a 5°C durante 24 hrs y evaluar el porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva (Galina y Valencia, 2006).

El semen debe presentar un mínimo de 15% de espermatozoides con motilidad progresiva para ser considerado de buena capacidad fecundante y poder aprobarlo para su uso en la inseminación artificial (Galina y Valencia, 2006).

Se analiza la concentración de células espermáticas mediante la determinación espectrofotométrica de la densidad utilizando un instrumento previamente calibrado; o si se tiene recursos, se realiza un análisis de citometría de flujo, para determinar la densidad espermática, es el más recomendable por su seguridad y se trata de una técnica muy simple de realizar y evita muchos de los problemas relacionados con el conteo del esperma (Gordon, 1996).

Prueba hiposmótica. Consiste en poner en contacto una muestra de semen con una solución ligeramente hipotónica. El porcentaje de espermatozoides que después de cierto tiempo hayan sufrido curvatura de la cola, representan aquellos que eran normales y cuya membrana citoplasmática fue capaz de reaccionar ante el estrés osmótico (Galina y Valencia, 2006). Esta prueba se diseñó para valorar la función de la membrana del espermatozoide (Gordon, 1996).

Se puede realizar una evaluación integral del acrosoma para distinguir espermatozoides con la membrana del acrosoma intacta de los espermatozoides que habían experimentado una reacción en el acrosoma, donde se colocan 10µl de la suspensión del espermatozoide, obtenida después del swim up, se extiende en un portaobjetos e inmediatamente se tiñe con amarillo-naftol/eritrosina B, de acuerdo al método descrito por Bryan y Akruk (1977) y por Lenz et al (1983) (Molteni et al, 2005).

Los procesos de evaluación objetiva del semen con la ayuda de equipos ligados a programas de cómputo, están sustituyendo las evaluaciones subjetivas. El equipo más difundido es el CASA (Computer-Assisted Sperm Analyzers). Este equipo es capaz de evaluar con precisión la concentración espermática, el número total de espermatozoides, la motilidad y el vigor espermático. Estos parámetros objetivos permiten una evaluación más precisa y una mayor correlación de los resultados *in Vitro* con la fertilidad en campo. La membrana plasmática tiene que ser evaluada en cuanto a su integridad morfológica y funcional. La evaluación morfológica tiene que ser realizada por contraste de interferencia diferencial (Nomarski), tinciones vitales y microscopía electrónica. Sin embargo, la correlación de las pruebas de integridad morfológica de la membrana plasmática con la fertilidad, solamente es significativa cuando las lesiones son muy severas. Por otro lado, las sondas fluorescentes para DNA, enzimas intracitoplasmáticas, lectinas o potencial de membrana, son las técnicas de elección para evaluar la funcionalidad espermática. También se han utilizado técnicas como la citometría de flujo, microscopía fluorescente y fluorometría (Galina y Valencia, 2006).

CAPITULO 4. TOROS SEMENTALES.
4.1 CARIOTIPOS DE DIFERENTES TIPOS DE BANDEO
CROMOSÓMICO E IDEOGRAMA DE TOROS SEMENTALES.

Hasta la década de 1970 se identificaron los cromosomas a partir de su tamaño y la posición de los centrómeros. Esto hizo posible clasificarlos en grupos, pero no identificarlos sin ambigüedad. La introducción de las técnicas de bandeo posibilitó al final identificar cada cromosoma y asimismo definir con mayor precisión puntos de rotura de translocación, deleciones subcromosómicas, etc. (Strachan y Read, 2006).

Los protocolos de bandeo cromosómico utilizan las características propias de las bandas específicas para revelarlas, de manera que se considera que las técnicas usadas para revelarlas sólo ponen en evidencia un patrón básico de organización del cromosoma (Guízar y Vázquez, 2001).

Las técnicas de bandeo varían desde una simple tinción hasta las que necesitan pretratamientos complicados antes de teñir. Los pretratamientos revelan características de secuencias de bases, funcionales y estructurales de diferentes dominios a lo largo del cromosoma (Guízar y Vázquez, 2001).

Como la posición, anchura y número de las bandas difieren en general entre los distintos pares de cromosomas, cada par de cromosomas puede ser identificado por su patrón de bandas (Nicholas, 1998). Este patrón de bandas es de gran utilidad práctica porque permite la identificación precisa de cada cromosoma y además posibilita la caracterización de regiones particulares dentro de cada brazo cromosómico (Solari, 2004). A continuación se muestran varios ejemplos de cariotipos con diferentes tipos de Bandeo.

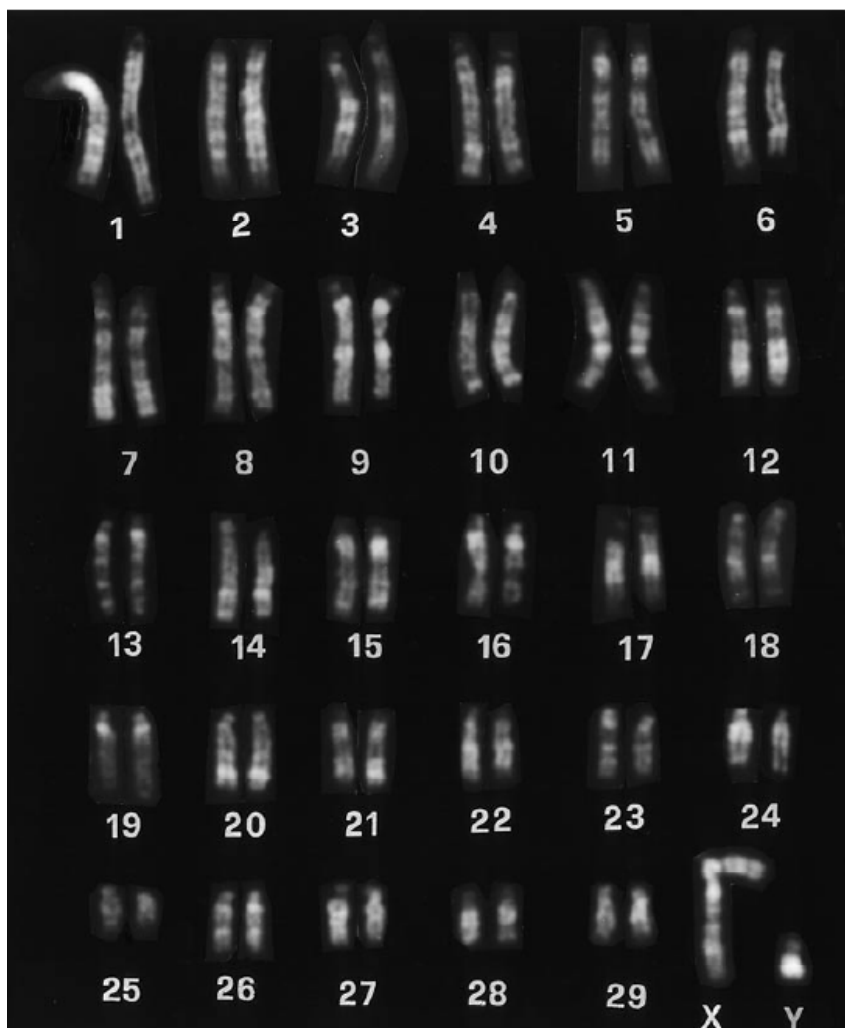


Figura 20. Cariotipo estándar de Bando QBH en ganado vacuno (International System for Chromosome Nomenclature of Domestic Bovids, ISCNDB, 2001). Bando QBH (Bando Q por incorporación temprana de BrdU y tinción con Hoechst)

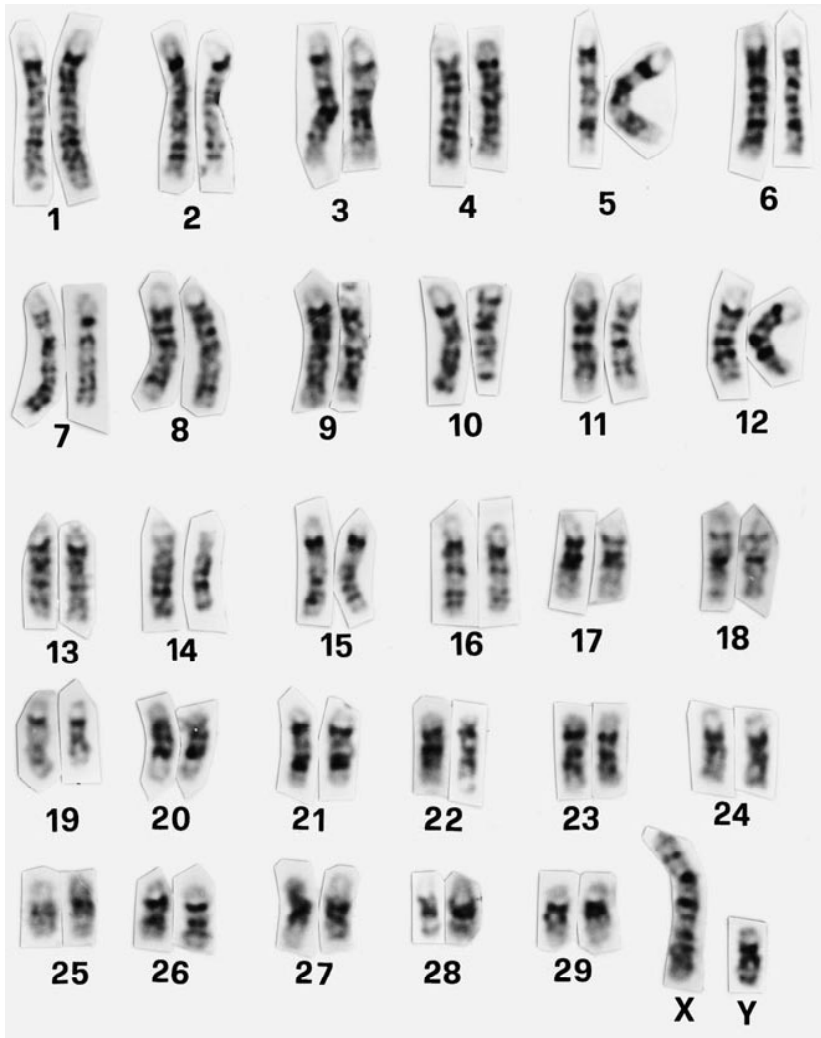


Figura 21. Cariotipo estándar de Bando GTG en ganado vacuno (ISCNDB, 2001). Bando GTG (Bando G por tratamiento con tripsina y tinción con Giemsa).

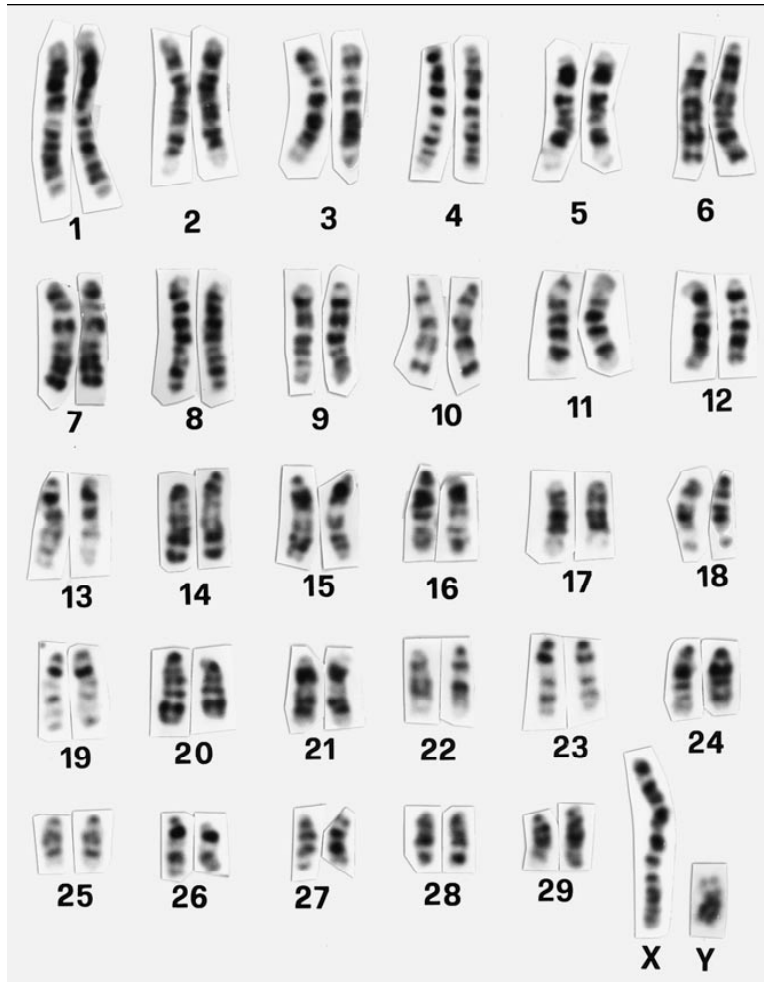


Figura 22. Cariotipo estándar de Bando GBG en ganado vacuno (ISCNDB, 2001). Bando GBG (Bando G por incorporación temprana de BrdU y tinción con Giemsa).

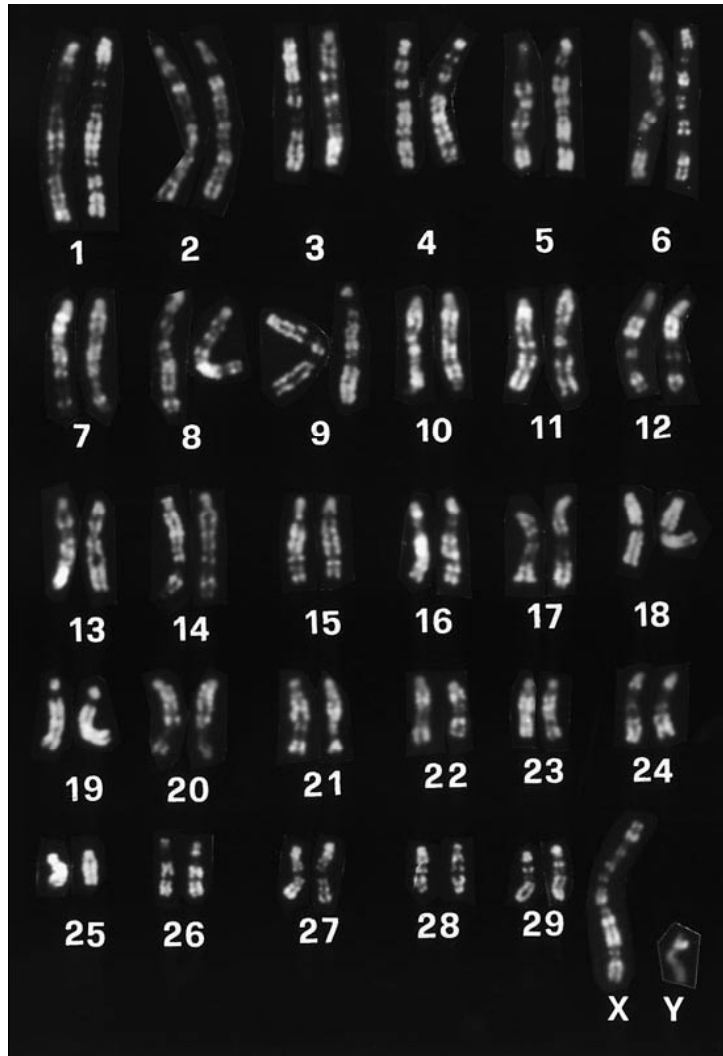


Figura 23. Cariotipo estándar de Bando RBA en ganado vacuno (ISCNDB, 2001). Bando RBA (Bando R por incorporación tardía de BrdU y tinción con Naranja de Acridina).

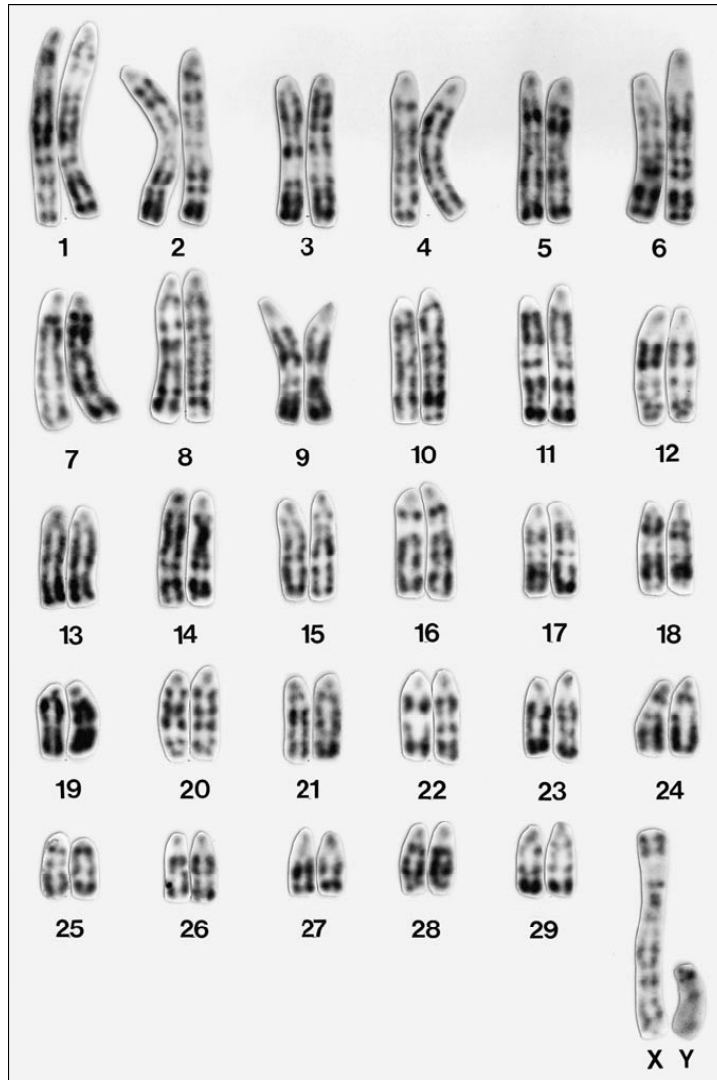


Figura 24. Cariotipo estándar de Bando RBG en ganado vacuno (ISCNDB, 2001). Bando RBG (Bando R por incorporación tardía de BrdU y tinción con Giemsa).

Estudiando muchas células tratadas del mismo modo, es posible dibujar un ideograma, que es una representación idealizada de las bandas que aparecen recurrentemente sobre cada par de cromosomas. Las bandas se identifican de manera única según una convención conocida como Sistema Internacional para la Nomenclatura Citogenética de Animales Domésticos (ISCNDA). Cada brazo se divide en un pequeño número de regiones que se enumeran secuencialmente empezando por el centrómero. Después, en cada región, las bandas se numeran secuencialmente empezando por la más cercana al centrómero. Por ejemplo, la segunda banda en la tercera región del cromosoma 1 del toro se designa como 132, mientras que la segunda banda de la cuarta región del brazo largo del cromosoma X es la Xq42 (Nicholas, 1998).

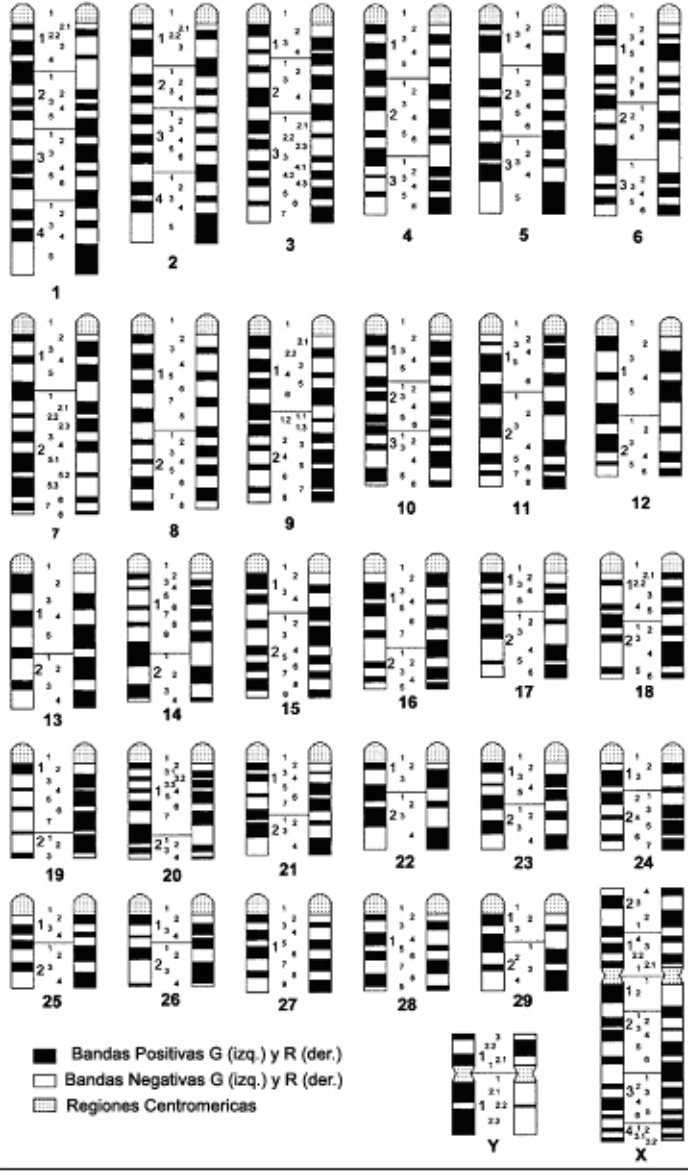


Figura 25. Bando G (izquierda) y Bando R (derecha) ideogramas de ganado vacuno (ISCNDB, 2001).

4.2. ALGUNAS GENERALIDADES DE LA RAZA JERSEY.

Origen.

La raza Jersey se originó en la Isla de Jersey, localizada en el canal de la Mancha entre Inglaterra y Francia, es una de las razas lecheras más antiguas, habiendo sido seleccionada por más de 600 años. Hoy las vacas Jersey son parte muy importante de la industria láctea en todo el mundo, de hecho es la raza lechera con mayor distribución en el mundo (<http://fmvz.uat.edu.mx>).

No hay seguridad en cuanto a cuáles fueron las razas originarias que la conformaron. Pero se aceptan como las más probables el ganado negro pequeño de Bretaña y el colorado grande de Normandía. Coincide esta teoría con el hecho de que las islas del Canal de Jersey, Guersney y Aldderney, integraban el Ducado de Normandía (Francia) pasando luego al dominio de Gran Bretaña (www.viarural.com).

En 1743, los isleños, motivados por el interés que despertaban sus pequeñas vacas, decidieron preservar las características de la raza y prohibieron la introducción a la isla de bovinos que no fueran destinados a faena; de esta forma y a partir de esta fecha, se asegura la pureza genética de la raza (www.viarural.com).

La Asociación Mexicana de Criadores de Ganado Jersey de Registro A.C., se constituyó el 26 de abril de 1993, cumpliendo así con el reglamento de la Ley de Organizaciones Ganaderas (www.jerseymexico.com).

Características.

La raza Jersey es la más eficiente productora de leche en el mundo orientada en forma exclusiva hacia la producción de la misma (<http://fmvz.uat.edu.mx>).

Es un animal de talla pequeña, de 1,25 m de alzada y peso promedio en la madurez entre 350 y 430 Kg.; de hueso fino y excelentes patas, lo que le confiere la posibilidad de acoplarse muy fácilmente a cualquier tipo de topografía, incluyendo la zona de ladera (www.unaga.org).

Sus colores van desde el bayo claro, pasando por el marrón, hasta el casi negro, aceptándose las manchas. El perfil es cóncavo con frente ancha, cara corta y descarnada de pezuñas, borla y mucosidades oscuras, lo que le confiere una alta adaptabilidad a climas cálidos (www.unaga.org).

Esta considerada como la segunda raza lechera del mundo en cuanto a número de ejemplares, pues se calcula que su población total, incluidos los cruces, es superior a seis millones de cabezas (www.unaga.org).

La raza Jersey se adapta más fácilmente a diferentes condiciones climatológicas y geográficas. Las vacas Jersey toleran mejor que ninguna otra raza lechera las temperaturas elevadas y húmedas, sin que afecte de manera desfavorable el rendimiento en producción. Son naturalmente activas y su agilidad y tamaño les permite recorrer largas distancias para pastar (<http://fmvz.uat.edu.mx>).

Esto da la posibilidad de manejarla sobre pasturas de menor volumen forrajero o aumentando la carga animal por hectárea (<http://fmvz.uat.edu.mx>).

Rusticidad

Se adapta rápida y fácilmente a los distintos tipos de clima y suelos. Es muy resistente al estrés calórico; resisten hasta 5 grados centígrados más que las otras razas antes que el exceso de calor afecte la producción (www.unaga.org).

Los expertos creen que entre las características primordiales que deben ser consideradas con propósitos de selección se encuentran en la raza Jersey: producción lechera y porcentaje de proteína, frecuencia de las variantes genéticas de proteína de la leche, así como algunas características exteriores (por ejemplo, temperamento lechero, conformación, tamaño de la ubre y conformación de las patas) (www.unaga.org).

Su menor tamaño y su gran capacidad de conversión son, sin duda, ventajas para explotaciones de menos superficies. Estas características hacen que su dieta de mantenimiento sea menor y pueda destinar una mayor cantidad de su ingesta a la producción, lo que en conjunto, con lo antedicho, hacen altamente económica su incorporación al establo (<http://fmvz.uat.edu.mx>).

Cruces.

Por su tolerancia al calor y resistencia a las enfermedades tropicales, la raza Jersey es muy atractiva como componente en el cruzamiento en países tropicales y subtropicales (www.unaga.org).

Tanto en las cruces con otras razas lecheras, en particular con Holstein, así como en las razas cebuinas, la raza Jersey aporta ventajas a la cruce sobresaliendo las siguientes:

- Crías de talla chica, evitando así partos distócicos, en vaquillas primerizas
 - Gran vigor híbrido en las F1 conservando así características de producción de ambas raza que le dan origen.
 - Rusticidad,
 - Aumento en la producción y calidad de leche en las zonas tropicales.
 - Excelentes parámetros reproductivos.
 - Precocidad reproductiva por ende mayor rentabilidad.
- (www.jerseymexico.com).

4.3. ALGUNAS GENERALIDADES DE LA RAZA SIMMENTAL.

Origen.

El nombre “Simmental” se derivó del valle Alemán (Tal’in) del Rio “Simme” en Suiza (<http://altagenetica.com>).

Esta raza se originó con un clima frío, hace 350 años aproximadamente; inicialmente fué de triple propósito (carne, leche y trabajo) pero después, gracias a la selección se especializó en carne y leche (www.unaga.org).

En el siglo XVI la raza había sido cruzada con hatos alemanes, de donde surgió un animal parecido al Simmental que hoy conocemos, pigmentado en tonos café y blanco o café rojizo y blanco (www.geocities.com).

En Francia, se hicieron cruces con este ganado para producir híbridos como el Pie Rouge y el Montbeliarde. Estas dos anteriores heredan del Simmental su habilidad para soportar inviernos extremos y primaveras húmedas (www.geocities.com).

Distribución.

Sus características de rusticidad y adaptabilidad a diferentes condiciones medio ambientales y de producción permitieron su rápida difusión permitiendo que hoy en día sea la raza más popular de Europa y ocupa el segundo lugar en el mundo después de las razas Cebuínas (www.unaga.org).

Características.

Es un animal de cabeza fina, morro amplio, ojos grandes, cuernos curvos y delgados, dirigidos adelante y arriba. El cuello es de tamaño medio, con hombros inclinados y adheridos a una cruz bien definida. El pecho y los flancos son bajos y forman, con la amplia abertura de costillas, un poderoso cuerpo que da suficiente espacio a los órganos de los sistemas respiratorio, circulatorio y digestivo, capaz de soportar grandes esfuerzos. Es por eso que esta raza se recomienda en las zonas tropicales. El Simmental es una raza de gran corpulencia; los machos pesan 1,000Kg en promedio y las hembras 750kg (www.geocities.com).

Los colores característicos van del amarillo claro al rojo amarronado. El Simmental Europeo (Fleckvieh) se caracteriza por ser de doble propósito -carne y leche- y el Simmental Americano, gracias al proceso de selección se especializó solamente en la producción de carne, conservando una buena habilidad materna (www.unaga.org).

Con el conjunto de características de la raza Simmental se obtiene una gran rentabilidad ofreciendo disminución de costos por la alta producción de carne, crecimiento acelerado, leche de excelente calidad, buenas ubres, pezuñas y miembros fuertes y sanos, facilidad de partos y vida útil prolongada, demostrado mayor eficiencia biológica en el trópico comparada con las razas especializadas en solo carne o leche (www.unaga.org).

Cruzas.

Los cruzamientos de Simmental más populares en regiones tropicales han sido con el Brahman para formar el Simbrah, en los Estados Unidos de América, México, África y Asia, y con el Nelore en Brasil, dando lugar al llamado Simbrasil (www.geocities.com).

En el trópico de México donde predomina el ganado cebuino, se han realizado desde hace tiempo cruzamientos con el ganado Simmental. Ello se debe a que el Cebú, conocido por su excelente resistencia al calor y la humedad, su rusticidad y tolerancia a los insectos, así como facilidad de parto, longevidad, se complementan con las características del Simmental, como son la temprana madurez sexual, fertilidad, alta capacidad lechera, ordeñabilidad, rápido crecimiento y calidad de la carne, lo anterior se traduce en beneficios para el ganadero (www.geocities.com).

El vigor o valor híbrido, es la mayor ventaja de los cruzamientos de individuos con características genéticas distintas. Al cruzar animales de razas diferentes, se obtiene una alta tasa de genes diferentes (heterocigotos) que proporciona una ganancia adicional mayor que la de los padres, lo que es la llamada Heterosis. Esta Heterosis nos da como resultado, un animal de muy buena fertilidad, precocidad, vitalidad y habilidad materna (www.geocities.com).

II. JUSTIFICACION.

El presente trabajo se enfoca en la relación de un análisis cromosómico a 4 bovinos (3 de raza Jersey y 1 de raza Simmental) con el fin de descartar alguna alteración cromosómica que los eliminen como buenos sementales y de esta manera poder vender su semen para incrementar la productividad de la raza y sus cruza mediante la utilización de la inseminación artificial.

III. MATERIAL Y REACTIVOS.

MATERIAL DE LABORATORIO

- Frascos para cultivo celular.
- Pipetas graduadas 10ml.
- Pinza Adson sin dientes de 14cm.
- Jeringas 1ml
- Tubos de centrifuga de plástico punta V.
- Propipeta.
- Jeringas 10ml

- Jeringas de 3ml
- Pipetas pasteur
- Vasos coplin, de vidrio y plástico.
- Vasos de precipitados.
- Matraz aforado de 50ml, 100ml y 500ml.
- Barra magnética.
- Probeta 100 ml.
- Termómetro.
- Sistema vacutainer (aguja, camisa y tubo de vacío con heparina).
- Frasco para desechos.

MATERIAL BIOLÓGICO:

- Sangre periférica fresca, heparinizada de los siguientes bovinos (obtenida de los corrales de la FES - Cuautitlán en Campo 4) :

Bovino	Raza	Edad
Quique	Jersey	3 años
Juanito	Simmental	3 años
Beno	Jersey	3 años
Belcebú	Jersey	3 años

EQUIPO

- Centrífuga clínica.
- Incubadora a 37°C.
- Agitador tipo Vórtex.
- Agitador magnético.
- pHímetro.
- Balanza analítica.
- Baño María.
- Refrigerador.
- Campana de esterilidad o flujo laminar.
- Caja de portaobjetos.
- Caja de cubre objetos 24 x 50mm
- Perilla de goma para pipeta serológica.
- Microscopio.

REACTIVOS

- Medio de cultivo celular Mc Coy 5ª Modificada.
- Fitohematoglutinina.
- Citrato de Sodio 0.85%
- Solución fijadora (Metanol/ Ác. Acético: 3:1).
- Colorante de Giemsa en solución.
- Heparina 10,000 UI
- Colchicina 0.04%
- Alcohol como desinfectante.
- Solución salina fisiológica.
- Tripsina.
- Bicarbonato de sodio al 7%.
- Solución de EDTA 1%
- Buffer de fosfatos 0.06M pH 6.8.

VI. DESARROLLO EXPERIMENTAL.

EXTRACCIÓN DE SANGRE PERIFÉRICA DE BOVINO.

1. Inmovilizar al toro tomando las medidas necesarias de precaución, para el manejo y control del bovino en cuestión.
2. Una vez inmovilizado; se levanta la cola tratando de tenerla en posición vertical.
3. Lavar 3 veces con agua y jabón para eliminar los residuos de contaminación de heces fecales.
4. Localizar la vena con ayuda del dedo pulgar y se desinfecta la zona utilizando torundas con alcohol 70%.
5. Extraer la sangre del bovino utilizando el sistema Vacutainer (tubos con heparina).
6. Guardar el tubo protegiéndolo de la luz y tratando de mantenerlo a temperatura corporal para evitar hemólisis.

SIEMBRA.

7. Colocar en cada frasco 8ml de medio de cultivo Mc Coy 5^a modificado sin bicarbonato. Para uso se adiciona Bicarbonato de Sodio gasificado al 20%
8. Agregar 0.1ml de Fitohemaglutinina.
9. Agregar 0.1ml de Antibiótico (Penicilina/Estreptomicina).
10. Agregar 0.5ml de sangre periférica.
11. Agitar suavemente e incubar por 72 horas a 37°C.
12. A las 71 horas agregar una gota de Colchicina e incubar el tiempo restante.

COSECHA.

13. A las 72 horas sacar los frascos de la incubadora agitar con suavidad y transferir el contenido en tubos para centrifuga (punta cónica) centrifugándolos a 3000 rpm por 10min.

14. Retirar el sobrenadante y agregar 8ml de Citrato de Sodio 0.85% (éste debe encontrarse previamente a 37°C), y una vez resuspendiendo el paquete incubar a 37°C durante 30min.

15. Centrifugar a 3000 rpm durante 5min, retirar sobrenadante y resuspender el paquete con ayuda del vórtex.

16. Con agitación constante se agregan lentamente 8ml de Solución Fijadora (previamente fría) e incubar en frío por 30min.

17. Repetir los pasos 10 y 11 (proceso de fijación) dos veces a tiempos de 15min.

18. Después de la tercera fijación, centrifugar a 3000 rpm por 5min, retirar el sobrenadante dejando aproximadamente 10 gotas y resuspender el paquete celular con ayuda de una pipeta pasteur.

19. Resuspender el paquete celular y dejar caer tres gotas sobre un portaobjetos limpio y frío desde una altura aproximada de 20cm. Secar al aire.

20. En caso de no hacer Bando; Teñir con Giemsa (el tiempo de tinción dependerá de la capacidad tintórea del colorante que puede variar de 10 a 30 minutos), enjuagar con agua de grifo y secar al aire.

OBSERVACIÓN AL MICROSCOPIO.

21. Observar al microscopio óptico con los objetivos de 10x y 40x. Localizar las mejores metafases y anotar las coordenadas.

22. Montar los portaobjetos con resina sintética y dejar secar por lo menos dos días.

23. Estudiar 25 metafases por ejemplar seleccionadas con el objetivo de 100x.

BANDEO G.

24. Utilizar laminillas previamente maduras en la estufa a 60 °C por 24hrs.
25. Sumergir las laminillas en un vaso Copplin con solución salina fisiológica durante 1min.
26. Introducir las laminillas en una solución a 37°C de tripsina bufferada a pH de 8, durante 15 a 17 seg. NOTA: El tiempo puede incrementarse unos segundos dependiendo de la nitidez de las bandas, una vez que éstas se observan al microscopio.
27. Ya concluida la digestión, sumergir las laminillas en una solución de EDTA 1% durante 15 a 20 seg.
28. Enjuagar las laminillas por inmersión en dos vasos Copplin con buffer de fosfatos 0.06M a pH de 6.8.
29. Teñir las laminillas con Giemsa.
30. Repitiendo los pasos del 21 y 22, analizar al microscopio por lo menos 5 metafases por ejemplar con el objetivo de 100x.

RESULTADOS

V. RESULTADOS.

Como se sabe, aunque la mayoría de los miembros de las especies diploides tienen exactamente dos dotaciones haploides de cromosomas, se conocen muchos casos de variación de este patrón. Las modificaciones incluyen cambios en el número total de cromosomas, la duplicación o deleción de genes o de segmentos de un cromosoma y la reordenación del material genético dentro o entre cromosomas (Klug, et al, 2006).

En animales, la información genética tiene un delicado equilibrio, en donde la ganancia o pérdida de un cromosoma, incluso pequeñas alteraciones ya sea del contenido o de la localización genética dentro del cromosoma en un organismo diplode, conduce a menudo a la letalidad o a un fenotipo anormal. Como ejemplo, la incapacidad para sobrevivir de los individuos monosómicos en muchas especies animales es, a primera vista, desconcertante, ya que al menos hay una copia de cada gen en el homólogo restante. Una explicación posible se refiere al desenmascaramiento de letales recesivos que son tolerados en los heterocigotos que llevan los correspondientes alelos silvestres. Si un organismo heterocigoto para un solo gen letal recesivo pierde el cromosoma homólogo que lleva el alelo normal (que evita la letalidad), el cromosoma desapareado dará lugar a la muerte del organismo (Klug, et al, 2006).

Para la realización de un análisis cromosómico en general, las células que más se utilizan son los linfocitos de sangre periférica, siendo éste el tejido de elección porque presenta ventajas como son: la facilidad para la toma de muestra, se puede4 repetir tantas veces como sea necesario, el tiempo de cultivo es relativamente corto y se obtiene una población bastante adecuada de linfocitos en metafase (Díaz, Bonilla, 2006).

Para tener éxito en la obtención de cromosomas es imprescindible tomar en cuenta el lavado y esterilización del material, los medios de cultivo utilizados, el control de la temperatura, el pH y las condiciones de esterilidad en que se deben obtener las muestras (Díaz, Bonilla, 2006). Durante la realización del estudio se variaron diferentes factores al fin de obtener las mejores condiciones para encontrar metafases óptimas para su análisis. Estos factores fueron tiempo de schok hipotónico, tiempo

y concentración de la solución fijadora, medio de cultivo, tiempo de agregación de colchicina, antibióticos y material para la realización del cultivo. Donde por medio del Bando G y la tinción convencional con Giemsa se obtuvieron los siguientes resultados:

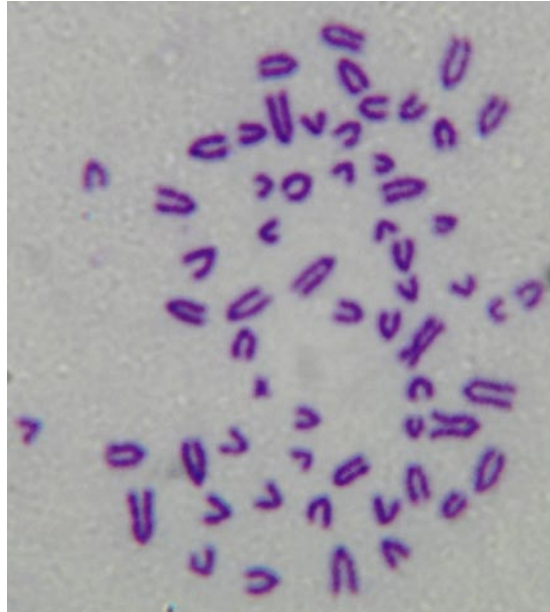


Figura 26. Fotografía que muestra la metafase de Quique como se observa en el microscopio.



Figura 27. Se observa la misma metafase pero ya tratada con Photoshop (programa de computadora). Observe la separación de los cromosomas en la metafase.

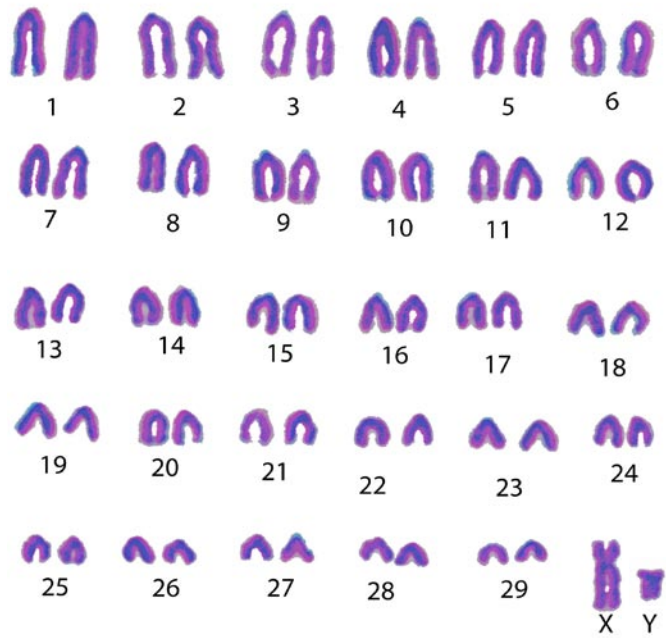


Figura 28. Cariotipo -normal- de Quique teñido completamente con Giemsa.

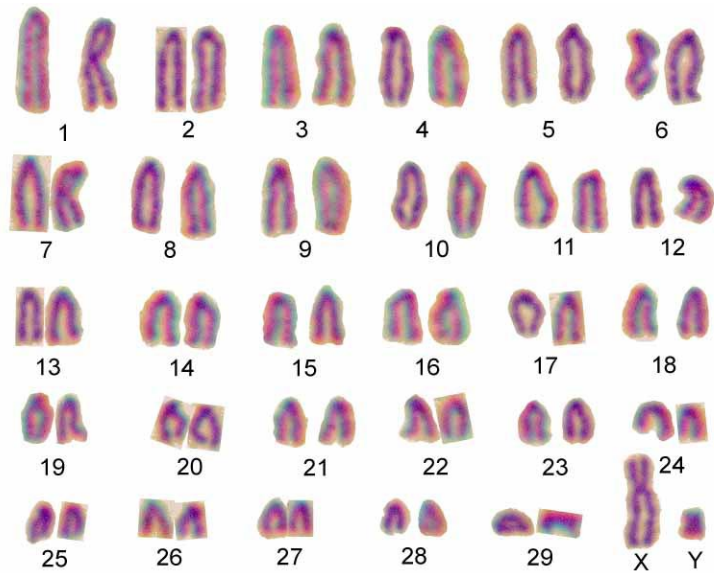


Figura 29. Cariotipo -normal- de Quique utilizando Bando G.



Figura 30. Fotografía que muestra la metafase de Benó como se observa en el microscopio.



Figura 31. Se observa la misma metafase pero ya tratada con Photoshop (programa de computadora). Observe la separación de los cromosomas en la metafase.

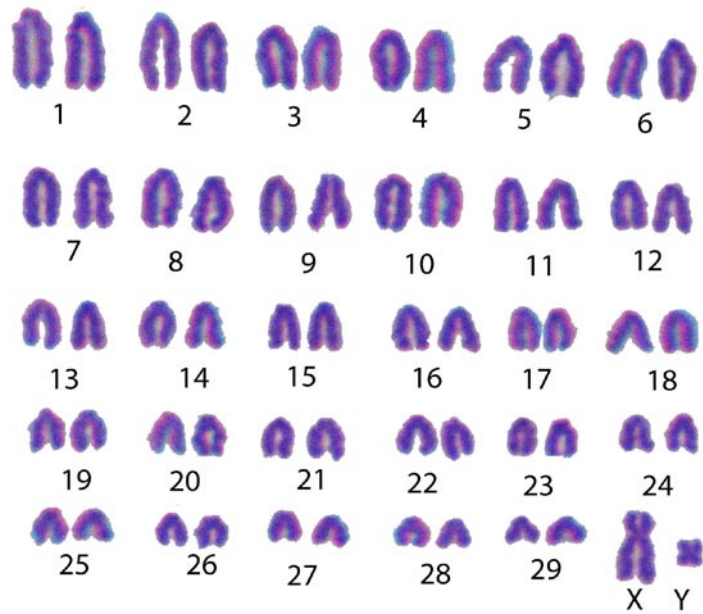


Figura 32. Cariotipo -normal- de Beno teñido completamente con Giemsa.

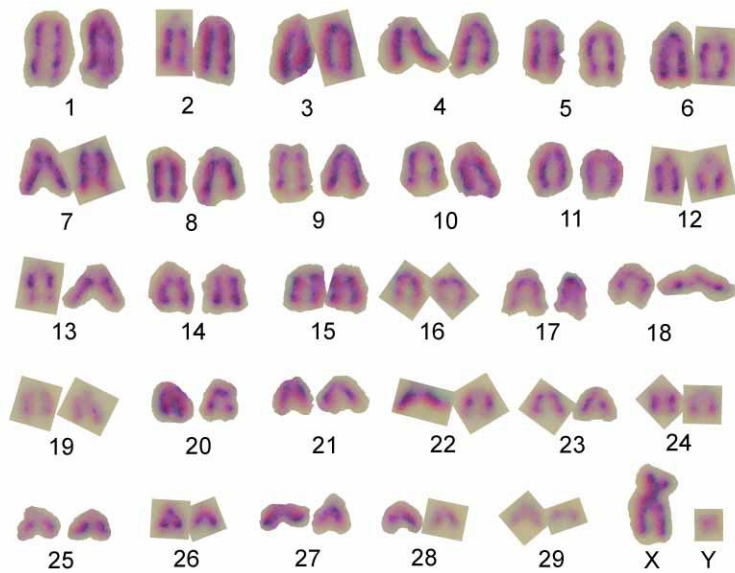


Figura 33. Cariotipo -normal- de Beno utilizando Bando G.

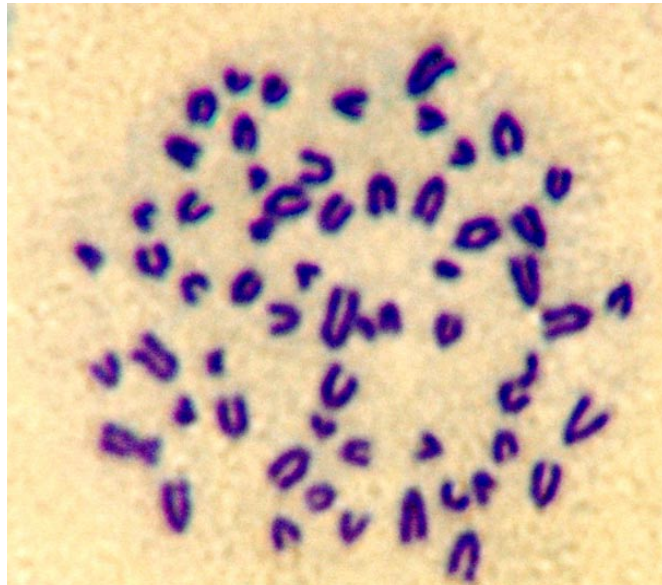


Figura 34. Fotografía que muestra la metafase de Juanito como se observa en el microscopio.

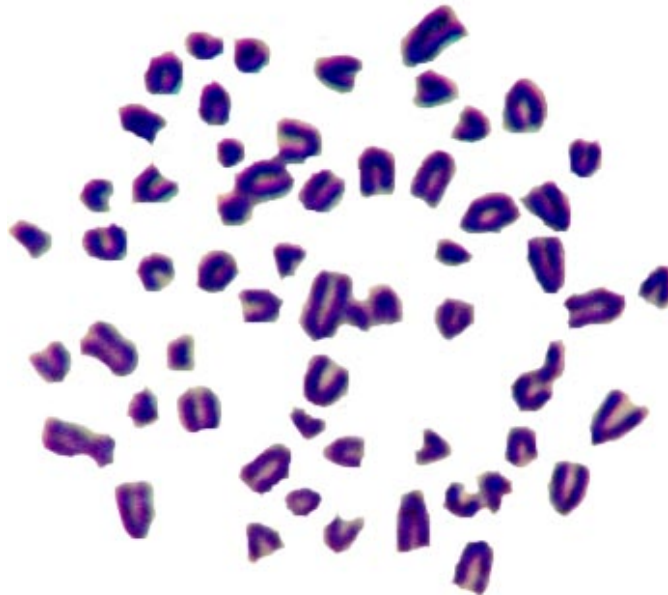


Figura 35. Se observa la misma metafase pero ya tratada con Photoshop (programa de computadora). Observe la separación de los cromosomas en la metafase.

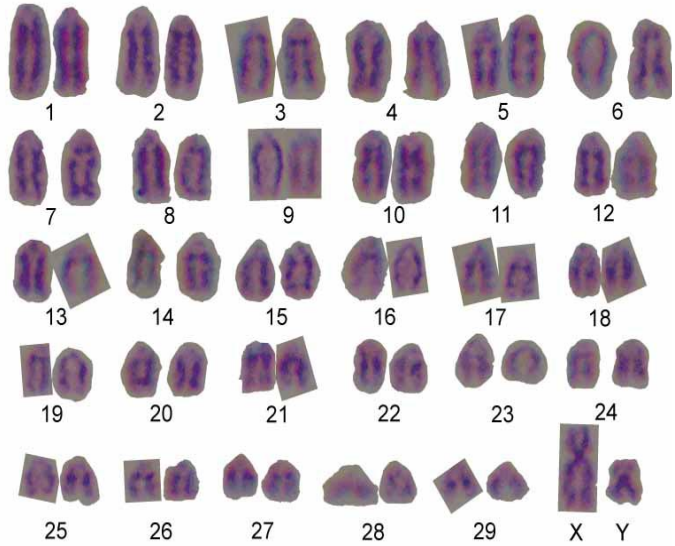


Figura 36. Cariotipo -normal- de Juanito teñido completamente con Giemsa.

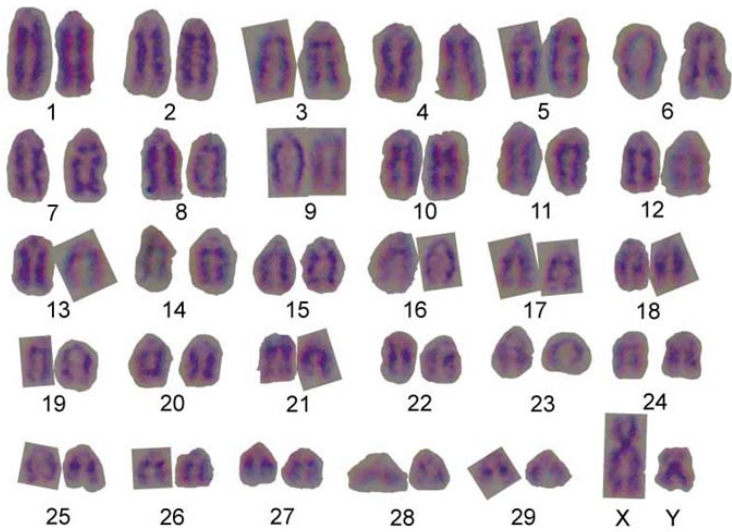


Figura 37. Cariotipo -normal- de Juanito utilizando Bando G



Figura 38. Fotografía que muestra la metafase de Belcebú como se observa en el microscopio.



Figura 39. Se observa la misma metafase pero ya tratada con Photoshop (programa de computadora). Observe la separación de los cromosomas en la metafase.

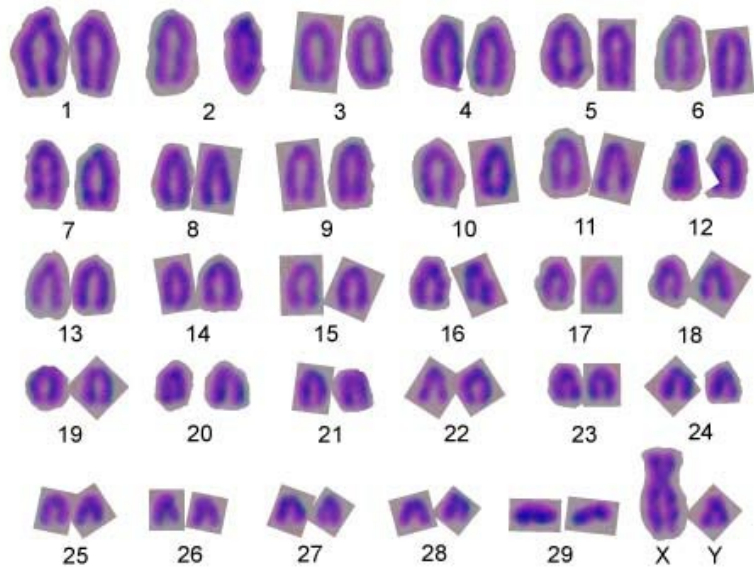


Figura 40. Cariotipo -normal- de Belcebú teñido completamente con Giemsa.

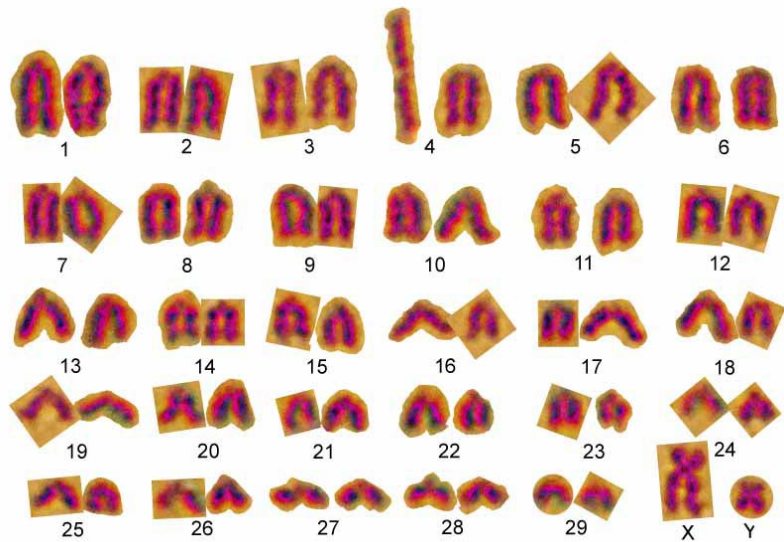


Figura 41. Cariotipo -normal- de Belcebú utilizando Bando G.

CARACTERÍSTICAS AUXILIARES EN EL ESTUDIO CITOGENÉTICO DE TOROS SEMENTALES.

Como ya se mencionó en el capítulo 3, existen varios estudios que pueden tomarse en cuenta para poder aceptar a un toro o no como semental a parte del análisis citogenético. Por lo que a continuación se presentará una tabla con el promedio de algunos datos (proporcionados por el Laboratorio de Reproducción Animal de la FES - Cuautitlán, Campus 4) de los estudios realizados al semen de los 4 bovinos mencionados con anterioridad.

Tabla 6. Promedios obtenidos de los datos proporcionados por el Laboratorio de Reproducción Animal de la FES - Cuautitlán, Campus 4.

Toro	Volumen c.c.	pH	Densidad	Motilidad individual	Anomalías espermáticas		Circunferencia escrotal
					1 ^a	2 ^a	
Quique	4	6.78	Cre moso	94.17	<1%	6.75%	34.35
Beno	4.64	6.89	Le choso/cre moso	93.75	2.4%	8.2%	32.4
Juanito	3.45	7.106	Le choso/cre moso	94.2	<1%	4.0%	38.533
Belcebú	2.8	6.9	Cre moso	94.67	1%	4.67%	33

Para promediar la densidad se sugirió el siguiente criterio:

Densidad. Se expresa en muestras de tipo:

- Cre moso (den sísimo = $1,5$ a 2×10^6 espermatozoides/ mm^3)
- Cre moso-le choso (muy den so = 1 a $1,5 \times 10^6$ espermatozoides/ mm^3)
- Le choso (den so = $0,75$ a 1×10^6 espermatozoides/ mm^3)
- Semi acuoso (semi den so = $0,3$ a $0,5 \times 10^6$ espermatozoides/ mm^3)
- Acuoso (ralo $\leq 0,2 \times 10^6$ espermatozoides/ mm^3)

(Tibisay, Ballarales, 2005)

DISCUSIÓN

VI. DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS.

La citogenética animal es un campo de investigación muy importante para el apoyo de la eficiencia y producción animal. En la presente investigación se analizaron 4 bovinos de la FES-C que sirven como sementales y que tradicionalmente con el análisis microscópico del semen y la cuantificación espermática se garantizaba su calidad reproductiva. En la actualidad se sabe que diversos rearrreglos cromosómicos pueden pasar desapercibidos si solo se practican los estudios andrológicos (rutinarios) antes señalados. El número cromosómico de *Bos taurus* es de 60 cromosomas, que se ordenan en 29 pares de autosomas y un par de cromosomas sexuales (Nicholas, 1998).

Para realizar un estudio citogenético se requiere en primer lugar de una buena toma de muestra, ya que como requisito a ello se tienen 2 acciones muy importantes a seguir. Una de ellas es que el anticoagulante a utilizar sea Heparina, ya que otro tipo podría afectar el crecimiento celular por el secuestro de iones (Ca^{++} y Mg^{++}) o bien afectar la morfología celular. La otra acción importante es que la muestra esté totalmente estéril ya que la presencia de cualquier microorganismo perjudica el crecimiento celular a tal grado que se obtiene al final solo bacterias u hongos, pero ninguna célula en metafase. En el caso de estos cultivos el principal problema radicó en que, en los corrales es difícil conseguir que la muestra sea totalmente estéril ya sea por la dificultad de limpiar y asear la zona de punción o por la misma conducta inquieta que en ocasiones muestran los animales (Díaz y Bonilla, 2006).

También se tuvieron que realizar algunas modificaciones metodológicas, ya que la técnica con la que se cuenta es la utilizada para sangre total humana. Estas modificaciones comprendieron principalmente el cambiar de KCl por Citrato de Na como sal para la solución hipotónica, la cual redituó en metafases con cromosomas más dispersos para un mejor análisis. El número de metafases para el análisis es también muy importante, se sugiere que si no existen en apariencia malformaciones congénitas se inicie el análisis con 10 metafases por cada ejemplar y que a medida que se encuentran discrepancias con el número o estructura cromosómica, se amplíe el número de metafases en el estudio. En este caso, los 4 bovinos analizados

por tinción normal con Giemsa no presentaron alteración cromosómica en las primeras 10 metafases estudiadas por animal; Sin embargo se amplió el estudio a 25 metafases para aumentar la sensibilidad del análisis. Posteriormente, es requisito indispensable para descartar alteraciones cromosómicas estructurales realizar el estudio cromosómico con algún método de bandeo. El método elegido fue el de bandeo G ya que es en este donde comúnmente se basan los estudios clínicos y de investigación de la mayoría de las especies (Díaz y Bonilla, 2006). Debido a esto se cuenta con un ideograma de bandas G que es la representación esquemática del cariotipo de una especie con las bandas que son características de cada cromosoma y que al ser comparadas con las metafases obtenidas en el estudio permiten analizar el cariotipo de cada uno de los 4 bovinos. En este caso es muy importante tener muchas laminillas de muy buena cantidad de metafases ya que de ello depende el tener buenas imágenes que nos permitan analizar las bandas y compararlas con el ideograma.

En este caso, no siempre se tuvo en todos los animales las laminillas óptimas para este procedimiento, por lo que varía el número de metafases bandeadas que se estudiaron en cada uno de los ejemplares. En estos casos se recomienda que por lo menos se analicen de 5 a 10 metafases y si no se encuentra ninguna alteración o sospecha de la misma puede darse como cariotipo normal. En el estudio no se encontraron alteraciones estructurales estudiando las metafases bandeadas pero más adelante mencionaremos con que éxito se consiguió en bandeo para cada uno de los casos.

El estudio cromosómico realizado a estos animales fue de tipo semicelular esto quiere decir que la célula estimulada a dividirse para conseguir las metafases fue el linfocito. Esta selección celular se logra debido a la acción mitogénica de la PHA (fitohemaglutinina) que estimula a dividirse exclusivamente al linfocito T. Se sabe que la sangre es un tejido que se diferencia muy tempranamente durante el desarrollo embrionario de los mamíferos y por lo tanto estas células podrían ser representativas del estado citogenético de casi todas las células de un organismo. No obstante sabemos que las mutaciones o aberraciones cromosómicas también pueden surgir posteriormente durante o después del desarrollo embrionario pero en tejidos específicos, como podría ser el caso de las células germinales.

Si esto ocurriera, entonces podría suceder que el estudio cromosómico a células somáticas fuera normal, pero el tejido cromosómicamente alterado pasaría inadvertido (Díaz y Bonilla, 2006).

Considerando que cada uno de los ejemplares biológicos es un organismo independiente, a continuación se realizará la discusión por cada uno de los bovinos a los que se les realizó el estudio citogenético.

“Juanito”. Bos taurus, raza Simmental.

De los 4 bovinos analizados es el único de la raza Simmental y por lo tanto con el que se tuvo que variar un poco la técnica para la obtención de un buen cultivo celular.

Se tuvieron dos factores de importancia para el estudio de este bovino: 1) la contaminación de la muestra debido a la escasa colaboración del semental; y 2) las metafases al microscopio se veían muy cerradas, por lo que los cromosomas no alcanzaban a separarse complicando el análisis. Optando por aumentar el tiempo del choque hipotónico 5 min más, observando de esta forma, mejores resultados.

De las 25 metafases analizadas se fotografió una con muy buena separación entre los cromosomas, con tamaño aceptable y una buena tinción, donde puede observarse en el cariotipo teñido completamente con Giemsa que no se encuentra alguna alteración cromosómica, lo cual se corroboró con el Bando G, al estudiar 10 metafases considerando que Juanito es un semental cromosómicamente normal.

“Quique”. Bos taurus, raza Jersey.

En el estudio de este bovino se tuvo una peculiaridad ya que los últimos cultivos se contaminaban con hongos, por lo que solo se obtuvieron 5 metafases para el estudio con Bando G. Pero a pesar de ello las metafases obtenidas reflejaron un tamaño y separación adecuados entre los cromosomas como puede observarse en la imagen del cariotipo. Al analizar y comparar las bandas de los cromosomas con el ideograma, no se observó ninguna alteración cromosómica considerándose un bovino cromosómicamente normal.

“Beno”. Bos taurus, raza Jersey.

En el cultivo celular de este toro hubo una acción más potente de la colchicina ya que los cromosomas se observaban más acortados de lo normal. Se sabe que la colchicina actúa sobre proteínas como la tubulina y otras que se encuentran sobre el cromosoma teniendo como resultado una acción de condensación de la cromatina mucho mas intensa. Pero a pesar de ello pudo hacerse el análisis sin problemas teniendo como resultado del análisis de 10 metafases con Bando G y las 25 metafases teñidas completamente con Giemsa que este semental no presenta ninguna anomalía cromosómica considerándose un toro sano desde el punto de vista citogenético.

“Belcebú”. Bos taurus, raza Jersey.

En este bovino el análisis de las 25 metafases se pudo realizar adecuadamente; Sin embargo en el bando G se tuvieron problemas debido al tiempo que tenían de preparación las laminillas, esto propició que se diera un tiempo mas largo de tripsinización y que la calidad de las bandas no fuera adecuada. No obstante, basados en los resultados con tinción común con Giemsa y utilizando como auxiliar del análisis microscópico el programa de Photoshop mejorando la calidad de la fotografía con bando G, se concluyó que Belcebú tiene un cariotipo normal con sus 58 autosomas y sus 2 cromosomas sexuales normales.

Por otra parte, los resultados que reflejan los promedios de los estudios andrológicos realizados a los 4 bovinos es que son aptos para usar su semen como sementales en inseminación artificial. En un principio se creería que estos estudios darían una baja en los toros con cariotipos anormales debido a que como son células no balanceadas no tendrían la misma capacidad que los espermatozoides con cariotipos normales, pero esto no es así ya que consultando la bibliografía se ha encontrado que los espermatozoides de toros portadores de alguna translocación al menos la Robertsoniana, dan resultados similares a los toros con cariotipos normales y que tienen un poder fertilizante similar a los mismos (Molteni, et al, 2005).

El semen de estos 4 bovinos ya se venía utilizando por inseminación artificial desde tiempo atrás y no se había documentado que el éxito de este procedimiento estuviera fuera de los casos esperados de concepción en las hembras inseminadas. Tampoco se detectaron casos de aborto frecuente, ni de la aparición de terneros con mal formaciones o mortinatos. Los resultados del estudio citogenético correlacionaron con el buen estado reproductivo de los bovinos. Sin embargo lo más conveniente sería primero realizar el estudio cromosómico y posteriormente ser utilizados como sementales ya que garantiza que estos sementales no son portadores de alguna alteración cromosómica, así el diagnóstico cromosómico es importante, porque se puede establecer a temprana edad la normalidad cromosómica del reproductor, lo que evita tener que esperar su desempeño reproductivo para evaluarlo (Vera et al, 1997:2002).

Por último, la conveniencia de este análisis, especialmente en los toros de los centros de cría, resulta importante ya que, la mayoría de las alteraciones cromosómicas producen mortalidad embrionaria y es la vaca la que aborta, el ganadero atribuye el problema a la hembra y no al toro, quien en muchos de los casos es el portador de la alteración. Lo que se traduce en que el toro portador puede pasar desapercibido (Vera et al, 1997).

Indagando un poco sobre la Inseminación Artificial en la República Mexicana se obtuvo la siguiente.

Realizado un estudio con información de los Centros de Inseminación artificial y Laboratorios de procesamiento de semen dentro de la República Mexicana se obtuvo para el año 2000 que:

1. 1,330,600 dosis correspondientes a un 53% del semen disponible es procesado dentro del país, 1, 171,241 dosis que corresponden a un 47% del semen disponible son importadas.
2. Solo un 4.3% de las vacas en el país son aptas para ser inseminadas artificialmente.
3. La cantidad de dosis que provienen de toros con prueba de comportamiento o de toros probados genéticamente aproximan a un total de 1,145,929, de las cuales el 91, 812 de las dosis son de procedencia nacional y el 1,054,117 de las mismas es semen importado.

4. Con los datos anteriores se asume que tan solo un 1.97% de las vacas en el país son inseminadas con sementales que cuentan con algún índice genético.

Interpretando estos datos, en la República Mexicana el número de dosis reportadas demuestra que el procesamiento de semen nacional es de gran importancia, por lo que el ganado que se insemina con semen nacional es de gran importancia. Pero no se sabe si estos toros ayudan a mejorar genéticamente el hato nacional, ya que no existen en el país programas de pruebas de progenie que permitan elegir a los mejores sementales que contribuyan a desarrollar un procesamiento de semen nacional de alta calidad genética (Sánchez, 2000).

CONCLUSIONES

VII. CONCLUSIONES.

De acuerdo a los resultados, estos 4 bovinos tienen un cariotipo normal, por lo que se considera que desde el punto de vista citogenético su semen puede ser usado para la inseminación artificial.

El análisis citogenético en bovinos sementales es un estudio importante para disminuir o en su caso erradicar la presencia de aberraciones cromosómicas en la descendencia y por consiguiente el tener una mejor calidad del semen de estos sementales.

GLOSARIO.

Autosoma dominante: Un gen en uno de los cromosomas no sexuales que se expresa siempre, incluso si solamente una copia está presente. La ocasión de pasar el gen al descendiente es el 50% para cada embarazo. Cualquier carácter de herencia dominante no ligado al sexo.

Autosómico recesivo: Término que se utiliza para describir un rasgo o patología que requiere la presencia de dos copias de una mutación de un gen en un locus determinado para que se exprese el fenotipo observable; se refiere específicamente a los genes de uno de los 22 pares de autosomas (cromosomas no sexuales) . Cualquier carácter de herencia recesiva no ligado al sexo.

Aberración cromosómica o alteración cromosómica: Estructura o número cromosómico alterados; incluye deficiencia, duplicación, inversión, Translocación, aneuploidia, poliploidia o cualquier otro cambio del patrón normal.

ADN repetitivo: Fragmentos de ADN que están repetidos a lo largo del genoma, bien en tándem o bien dispersos. El número de repeticiones (número de copia) es variable.

ADN satélite: Un tipo de ADN repetitivo en tándem, que forma bandas “satélite” cuando el ADN genómico se fracciona mediante centrifugación en gradientes de cloruro de Cesio.

Ambiente: Conjunto de factores geográficos, climáticos y bióticos en el que viven los organismos.

Anastomosis: Comunicación entre dos vasos o nervios. Cuando dos vasos se unen boca a boca, se habla de anastomosis por inosculación, a boca única. Si la unión de dos vasos paralelos se establece por los dos cabos del vaso más corto se dice anastomosis en paralelo o by-pass

Anastomosis de vasos sanguíneos: Es la unión de vasos sanguíneos de pequeño calibre a uno de mayor o grueso calibre. Suele deberse a que el metabolismo actúa por mediadores químicos para volver a irrigar una región isquémica anastomosando vías sanguíneas de los alrededores.

Argentafin: que presente afinidad hacia las sales de plata y admite esta tinción

Astenozoospermia: a la alteración de la motilidad espermática. La astenozoospermia es la alteración del semen apreciada con mayor frecuencia en los pacientes con infertilidad.

Bucle de inversión: Estructura formada en la primera división meiótica por un cromosoma con una inversión para o pericéntrica.

Células somáticas: Todas aquellas células distintas de las células germinales o precursora de una célula germinal o gametos de un organismo. Cualquier célula del cuerpo, excepto los gametos.

Centrómero: Secuencia de ADN necesaria para la segregación adecuada de cromosomas durante la mitosis y la meiosis; región de los cromosomas mitóticos donde se forma el cinetocoro y que parece una constricción, es decir, es una región especializada del cromosoma en la cual las fibras del huso se unen durante la división de célula. Región del cromosoma que separa los dos brazos y en la que se unen las dos cromátidas.

Ciclo celular: Secuencia ordenada de eventos en los cuales una célula eucarionte duplica sus cromosomas y se divide en dos; normalmente consta de cuatro fases: G_1 antes de que tenga lugar la síntesis de ADN; S cuando se replica el ADN; G_2 luego de la síntesis de ADN; y M cuando tiene lugar la división celular, para dos células hijas. En ciertas condiciones, las células abandonan el ciclo celular durante G_1 y permanecen en estado G_0 como células que no se dividen.

Corion: Envoltura externa que recubre el embrión de un mamífero, ave o reptil, y que colabora en la formación de la placenta. Es una membrana concéntrica al amnios

Cromátide: Copia de un cromosoma replicado formado durante la fase S del ciclo celular, que está unida a un centrómero a la otra copia; también denominada *cromátide hermana*. Durante la mitosis, las dos cromátidas se separan y cada una se convierte en un cromosoma de una de las dos células hijas. Filamentos de ADN idénticos que se observan en los cromosomas durante la división celular, como resultado de la replicación del ADN en la fase S previa.

Cromatina: Complejo de ADN, histona y proteínas no histonas a partir de la cual se forman los cromosomas eucariontes. La condensación de la cromatina durante la mitosis produce los cromosomas visibles en la metafase. Material formado por ácidos nucleicos y proteínas que se observa en el núcleo de la célula en interfase.

Cromosoma homólogo: Cromosomas que se emparejan o sufren sinapsis en la meiosis. Cromosomas que son idénticos respecto de la situación de sus loci y del centrómero. Cada homólogo deriva de un progenitor diferente.

Desnaturalización: De proteínas o ADN. Proceso por el cual una proteína pierde su estructura original y en consecuencia cambian muchas de sus propiedades físicas. Una proteína se puede desnaturalizar por calor, cambios en el pH del medio, presencia de diversas sustancias químicas como detergentes, etc. La aplicación en el caso del ADN es la separación de sus dos hebras.

Diploide: Célula u organismo con dos complementos cromosómicos, de forma que posee un número total de cromosomas que es doble del haploide. El número diploide se representa por $2n$. La mayoría de las células animales excepto los gametos tienen un sistema diploide de cromosomas. El genoma humano diploide tiene 46 cromosomas (22 pares de autosomas y dos cromosomas sexuales).

División celular: Separación de una célula en dos células hijas. En los eucariontes superiores comprende la división del núcleo (mitosis) y el citoplasma (cinetocinesis); a menudo se utiliza el término mitosis para referirse tanto a la división nuclear como a la citoplasmática.

Emaciado: Demacrado, flaco. Una manifestación del Síndrome de desgaste.

Electroeyaculación: Es un procedimiento usado para obtener muestras de semen de machos mamíferos sexualmente maduros. Esta técnica se aplica en programas de mejoramiento y de investigación en varias especies, entre otros.

Espermatogénesis: es el mecanismo encargado de la producción de espermatozoides; es la gametogénesis en el macho. Este proceso se desarrolla en los testículos. La espermatogénesis tiene una duración aproximada de 64 a 75 días en la especie humana, y se extiende desde la adolescencia y durante toda la vida del macho.

Eucromatina: La cromatina genéticamente activa, desenrollada en interfase y que se tiñe mas intensamente durante la mitosis en la cual adquiere un estado condensado en forma de hélice.

F₁: Símbolo utilizado para representar la primera generación filial; pro genie heterocigota producida por el cruzamiento de dos sujetos no relacionados o por el cruce de una cepa dominante homocigota con una recesiva.

Fenotipo: Características físicas y/o bioquímicas observables de la expresión de uno o varios genes. Conjunto de rasgos clínicos de un individuo con un genotipo determinado.

FISH Fluorescent in situ hybridization (**hibridación in situ con fluorescencia**): Técnica que se utiliza para identificar, en una muestra problema, la presencia de Cromosomas determinados o regiones específicas de Cromosomas cuya secuencia es conocida, (sondas de ADN), y que marcamos con fluorescencia. La detección se realiza tras la hibridación (reconocimiento de la secuencia y fusión) de la sonda de ADN marcada sobre el ADN cromosómico desnaturalizado de la muestra problema. 1ª fase. Preparación de la sonda. Una sonda es un segmento de ADN marcado con fluorescencia que es complementario a la región cromosómica de interés. 2ª fase. Hibridación. Los cromosomas desnaturalizados, fijados en el portaobjetos del microscopio, son expuestos a la sonda marcada con fluorescencia. La hibridación (fusión) tiene lugar entre la sonda y el ADN cromosómico complementario (es decir, se acopla). 3ª fase. Visualización. Tras la hibridación, se examina el portaobjetos al microscopio con luz fluorescente. Las señales fluorescentes indican la presencia de ADN cromosómico complementario, la ausencia de tales señales implica que no hay ADN cromosómico complementario.

FISH subtelomérica: Técnica en la que se utilizan Sondas de ADN específicas para las áreas subteloméricas de los brazos largos y cortos de cada Cromosoma, que permite la detección de deleciones y translocaciones subteloméricas crípticas y submicroscópicas, que pueden ser causa de retraso mental.

Gameto: Célula germinal madura, funcional que contiene el número haploide de cromosomas de la célula somática. Los gametos provenientes de sexos opuestos (óvulo y espermatozoide) se fusionan para formar el cigoto.

Genotipo: Constitución Genética de un organismo o célula; se refiere también al grupo específico de Alelos heredados en un locus.

Germoplasma: La variabilidad genética total, representada por células germinales, disponibles para una población particular de organismos.

Gonosoma: cromosoma sexual (X e Y).

Haploide: Célula u organismo con una sola copia del complemento cromosómico, como sucede en los gametos tras la meiosis. El número haploide se simboliza con la letra n (en humanos, el número haploide es $n=23$ cromosomas).

Herencia: Proceso por el cual determinados rasgos o características se transmiten de padres a hijos. Implica la separación y recombinación de genes durante la meiosis y las posibles influencias posteriores sobre el material genético durante la embriogénesis.

Herencia Mendeliana: Método en el cual los rasgos genéticos se pasan de padres al descendiente. Nombrado para Gregor Mendel, que primero estudió y reconoció la existencia de genes y de este método de herencia. Es un patrón de herencia monofactorial, puede ser autosómica (dominante o recesiva) o ligada al cromosoma X.

Heterocigoto: Individuo que tiene dos alelos diferentes en un Locus determinado, uno en cada cromosoma. En el caso de una mutación un alelo es normal y otro anormal.

Heterocromatina: Cromatina transcripcionalmente inactiva que muestra alta condensación durante la interfase y se replica al final de la fase S del ciclo celular (heterocromatina constitutiva). La heterocromatina facultativa está constituida por eucromatina que adquiere las características de la heterocromatina en determinados estadios del desarrollo.

Hibridación: Unión entre dos individuos con fenotipos o genotipos distintos, o bien procedentes de dos poblaciones o especies diferentes. En biología molecular, el emparejamiento específico entre cadenas complementarias de ADN ó ARN.

Homocigoto: Célula Individuo con alelos idénticos en uno o más loci. Tales individuos darán lugar a gametos idénticos y por consiguiente serán raza pura.

Interfase: periodo en el ciclo de la célula cuando la ADN se repliega en el núcleo; seguido por mitosis. Período del ciclo celular comprendido entre dos divisiones sucesivas.

Intrón: Es una secuencia no codificadora de ADN que separa a dos exones. El intrón inicialmente se transcribe en la molécula de ARN mensajero pero después es eliminado durante el proceso de maduración del ARN.

Malformación congénita: Alteración del desarrollo anatómico que se presenta durante la vida intrauterina.

Meiosis: División celular que tiene lugar durante la formación de los gametos en especies de reproducción sexual, mediante la cual una célula germinal diploide da lugar a cuatro gametos haploides.

Metafase: Segunda fase de la división celular, en la que los cromosomas (o tétradas en la primera división meiótica) se colocan en el plano ecuatorial del huso acromático.

Microsatélite (sinónimos: ADN satélite, repeticiones cortas en tándem): Segmentos repetitivos de ADN que comprenden de dos a cinco nucleótidos (repeticiones de dinucleótidos/trinucleótidos/tetranucleótidos/pentanucleótidos) dispersos por todo el genoma en las regiones no codificadoras que hay entre o dentro de los genes (intrones), se utilizan frecuentemente como marcadores en el análisis de ligamiento debido a la alta variabilidad natural existente en el número de repeticiones entre los individuos. Estas regiones son propiamente inestables y susceptibles a mutaciones.

Mitosis: Tipo de división celular que da lugar a la producción de 2 células cada una de las cuales con los mismos cromosomas y complementos genéticos que la célula materna.

Monosomía: Presencia de sólo uno de la pareja de cromosomas homólogos. La monosomía parcial se refiere a la presencia de una sola copia de un segmento de un cromosoma.

Mosaicismo (Sinónimo: Mosaico cromosómico): Coexistencia en un individuo de dos o más líneas celulares con distinta constitución cromosómica pero que proceden del mismo cigoto. Ejemplo en humanos, 46,XY/47,XY+21.

Mosaicismo de línea germinal: Presencia simultánea de dos o más líneas celulares genética o citogenética confinadas a la línea germinal (óvulos o espermatozoides); anteriormente se denominaba mosaicismo gonadal.

Mosaico genético: Un organismo en el cual diversas células contienen diversa secuencia genética. Éste puede ser el resultado de una mutación durante el desarrollo o de la fusión de embriones en una etapa de desarrollo temprana.

Mutación de línea germinal: Presencia de un gen alterado en el óvulo o espermatozoide (célula germinal) que puede transmitirse a las generaciones siguientes.

Mutación de novo (sinónimos: mutación génica de novo, mutación génica nueva, mutación nueva): Alteración en un gen que está presente por primera vez en un miembro de una familia, como resultado de una mutación producida en una célula germinal (óvulo o espermatozoide) de uno de los progenitores o cigoto.

Mutación somática: Mutación que afecta a una célula somática (y a la población celular originada por ésta) pero no a las células de la línea germinal. Por tanto, no se transmitirá a la descendencia del individuo portador.

Mutación: Cualquier alteración hereditaria producida en un gen con respecto a su estado natural; puede ser patológica o una variante no patológica.

No-Disyunción: Error en la separación de cromosomas homólogos (en mitosis o en la primera división meiótica) o de cromátides hermanas (en la segunda división meiótica) hacia polos opuestos, que provoca aneuploidías en las células hijas.

Nomenclatura citogenética: Conjunto de reglas y abreviaturas usadas convencionalmente para describir los cariotipos y cromosomas.

Oligozoospermia: cuando el número de espermatozoides es inferior a 20 millones por ml ó 40 millones en el total del eyaculado.

Organogénesis: Es el conjunto de cambios que permiten que las capas embrionarias ectodermo, mesodermo y endodermo, se transformen en los diferentes órganos internos.

p: En nomenclatura citogenética, brazo corto (del francés, “petit”) de un cromosoma.

Portador: Individuo clínicamente sano que transmite una enfermedad, por poseer un alelo patológico. Suele aplicarse a individuos heterocigotos para un gen recesivo, o a individuos heterocigotos para un gen dominante que no expresan la enfermedad.

Promotor: Región de ADN que contiene diferentes dominios de unión a factores de transcripción y que determina el lugar donde la ARN polimerasa comienza la transcripción de un gen.

q: En nomenclatura citogenética, brazo largo de un cromosoma.

Región subtelomérica: Región cromosómica más cercana al telómero (extremo del Cromosoma) que está compuesta por secuencias repetitivas de ADN muy polimórficas, situadas típicamente en las proximidades de las áreas ricas en Genes. Las microdelecciones y las reordenamientos sutiles que alteran los genes en las regiones subteloméricas pueden causar retraso mental; para detectar estas anomalías normalmente es necesario utilizar hibridación fluorescente in situ (FISH), puesto que permite la evaluación de las regiones subteloméricas.

Satélite cromosómico: Segmento distal de un cromosoma que está separado del resto del mismo por un pedúnculo o constricción secundaria. No confundir con ADN satélite.

Secuencia de DNA: La orden relativa de pares bajos, sea en un fragmento de DNA, gene, cromosoma, o un genoma entero.

Segregación: Proceso de separación de los alelos de un locus, durante la meiosis, al separarse los dos cromosomas homólogos de un par, cada alelo pasa a un gameto distinto. En sentido más amplio se aplica a la separación de alelos y su distribución a células hijas diferentes, que se produce tanto en la meiosis como en la mitosis.

Sonda: Secuencia específica de ADN o ARN prefabricada, que se marca con uno de los diversos métodos disponibles y se utiliza para detectar la presencia de una secuencia complementaria cuando se une (hibrida) a ella.

Tasa de mutación: Número de mutaciones por gameto y por generación que se producen en uno cualquiera de los locus. Se representa por la letra griega μ .

Técnica de bandas: Empleo de una de las diversas técnicas de coloración disponibles para teñir los cromosomas que se encuentran en una fase determinada del proceso de división celular. Los cromosomas adquieren de este modo un patrón específico de franjas (bandas) claras y oscuras que permiten identificarlos y evaluar su estructura.

Telómero: Segmento que se encuentra en el extremo de cada brazo del cromosoma, compuesto por diversas secuencias repetidas en tandem de la secuencia T-T-A-G-G-G de ADN que regulan la replicación cromosómica en el proceso de división celular. Cada vez que se divide una célula, se pierde parte del telómero y finalmente, cuando éste desaparece, la célula muere.

Translocación: Anomalía cromosómica debida al cambio de posición de un segmento cromosómico. El segmento translocado puede situarse en el mismo cromosoma (Translocación intracromosómica) o en otro cromosoma (Translocación intercromosómica). La Translocación producida por intercambio de segmentos entre dos cromosomas sin pérdida de material genético se denomina Translocación recíproca ó equilibrada cuando da lugar a cromosomas monocéntricos.

APÉNDICE.

Preparación de soluciones.

○ Citrato de sodio 0.85%

Para un volumen de 100ml.

1. Se pesan 0.85 gramos de Citrato de Sodio.
2. Disolver en agua desionizada con ayuda de un agitador magnético.
3. Llevar a un aforo de 100ml
4. Colocar en un frasco limpio y rotularlo.
5. Mantenerlo a 37°C.

○ Solución fijadora (3:1, Metanol:Ácido Acético).

Para un volumen de 100ml.

1. Con ayuda de una probeta medir 75ml de Metanol y colocarlos en un frasco (previamente limpio).
2. Medir 25ml de Ácido Acético y colocarlos en el frasco anterior.
3. Mezclar y mantenerlo frío.

○ Colorante de Giemsa en solución (1:10).

Para un volumen de 50ml.

1. En un vaso Coplin colocar 2.5ml de colorante de Giemsa.
2. Agregar 5ml solución buffer de fosfatos pH 6.8.
3. Agregar agua destilada c.b.p. 50ml.

○ Colchicina 0.04%.

Para un volumen de 100ml.

1. Pesar 0.04 gramos de colchicina.
2. Disolverlos en agua destilada y llevar a un aforo de 100ml.

Nota: Utilizar guantes y cubreboca al preparar esta solución.

○ Fitohemaglutinina.

1. Lavar 20gr de frijol con agua corriente. Dejarlos en remojo toda la noche a 4°C.
2. Transcurrido el tiempo decantar el agua, poner los frijoles en una licuadora y hacer una pulpa fina con 30ml de solución salina fisiológica (NaCl 0.85%). Pasar la pulpa a un frasco con tapa y agregar otros 70ml de SSF.
3. Continuar la extracción por 24 hrs. a 4°C agitando ocasionalmente.
4. Posteriormente puede centrifugarse en una centrífuga clínica para quitar los residuos gruesos de la pulpa del frijol, para posteriormente centrifugar a 4°C por 15 min a 14 000rpm.

5. Retirar los sobrenadantes y de ser necesario centrifugar hasta que no se observen sólidos.
6. Diluir 1:25 con SSF. Esterilizar por filtración inmediatamente.
7. Congelar la fitohemaglutinina en alícuotas pequeñas para su uso.

○ **Buffer de fosfatos 0.06M pH 6.8.**

Para un volumen de 500ml.

Solución A. Pesar 4.0827 gr de KH_2PO_4 y disolver en agua desionizada llevando a un aforo de 500ml.

Solución B. Pesar 4.2588 gr de Na_2HPO_4 y disolver en agua desionizada llevando a un aforo de 500ml.

Solución trabajo se adicionan 3ml de Buffer A + 2 ml de Buffer B.

○ **Solución de tripsina.**

Para un volumen de 50ml

1. Pesar 20 mg de tripsina grado reactivo.
2. Disolver en agua desionizada con ayuda de un agitador magnético.
3. Llevar a un aforo de 50ml.

○ **Solución de Bicarbonato de sodio 7%**

Para un volumen de 100ml

1. Pesar 7 gr de Bicarbonato de sodio.
2. Disolver en agua desionizada con ayuda de un agitador magnético.
3. Llevar a un aforo de 100ml.

○ **Solución de EDTA al 1%**

Para un volumen de 50ml.

1. Pesar 0.5 gr de EDTA.
2. Disolver en agua desionizada con ayuda de un agitador magnético.
3. Llevar a un aforo de 50ml.

REFERENCIA.

1. Ansari, H.A., Jung, H.R., Hediger, R., Fries, R., Konig, H., Stranzinger, G., 1993. A balanced autosomal reciprocal translocation in an azoospermic bull. *Cytogenet. Cell Genet.* 62 (2/3), 117-123.
2. Arroyo Agustín. 2007. <http://www.cuencarural.com/ganaderia/bovinos/defectos-geneticos-en-bovinos/>
3. Asociación argentina de criadores de jersey (2007 año de revisión) <http://www.viarural.com.ar/viarural.com.ar/ganaderia/asociaciones/jersey/origen.htm>
4. Asociación Colombiana de Criadores de Ganado Jersey-AsoJersey (2007 año de revisión) <http://www.unaga.org.co/asociados/jersey.htm>
5. Asociación Colombiana de Criadores de Ganado Simmental y sus cruces AsoSimmental. (2007 año de revisión). <http://www.unaga.org.co/asociados/simmental.htm>
6. Asociación Mexicana de Criadores de Ganado Jersey de Registro A.C. (2007 año de revisión) <http://www.jerseymexico.com/index.php>
7. Castillo Taucher Silvia, Fuentes S. Ana María, Alejandro M. Paulos, Pardo V. Andrea. *Rev. méd. Chile* v.130 n.5 Santiago mayo 2002. Application of the cytogenetic techniques multiple Fish and multiple Band.
8. Coates. J. W., Schmutz, S. M. and Rousseaux, C. G. 1987. A survey of malformed aborted bovine fetuses, stillbirths and non-viable neonates for abnormal karyotypes. *Can. J. Vet. Res.* =:258-263.
9. Cupps, P.T. 1991. *Reproduction in Domestic Animals*, fourth ed. Accademic Press Inc./Harcourt Brace Jovanovich Publishers, San Diego, CA.
10. Derivaux, J. 1982. *Fisiopatología de la reproducción e inseminación artificial de los animales domésticos*. Trad. por José Gómez Piquer. La Habana, Cuba Edit. Pueblo y Educación.
11. Di Berardino, Di Meo, Gallagher, Hayes H., Iannuzzi L. 2001. International System for Chromosome Nomenclature of Domestic Bovids (ISCNDB 2000) *Cytogenet Cell Genet* 92:283-299.

12. Di Meo G. P., Perucatti A., Chaves R., Adegas F., De Lorenzi L., Molteni L., De Giovanni A., Incarnato D., Guedes-Pinto H., Eggen A. & Iannuzzi L. 2006. Cattle rob(1;29) originating from complex chromosome rearrangements as revealed by both banding and FISH-mapping techniques. Laboratory of Biochemical Genetics and Cytogenetics, INRA, Jouy-en-Josas. France.
13. Di Meo, Molteni L, Perucatti A et al. 2000. Chromosomal characterization of three centric fusion translocations in cattle using G-, R- and C-banding and FISH technique. *Caryologia* 53: 213-218.
14. Díaz Barriga A. S., Bonilla S. R. 2006. "Técnicas básicas en Citogenética (Elaboración y análisis de cariotipos)". 2ª Ed. Edit.: UNAM, FES-Cuautitlán. Estado de México.
15. Dunn, H. O. and Johnson, R. H. 1972. A 61, XY cell line in a calf with extreme brachygnathia. *J. Dairy Sci.* 55:524-526.
16. Dyrendhal I, Gustavsson I. 1979. Sexual functions, semen characteristics and fertility of bulls carrying the 1/29 chromosome translocation. *Hereditas* 90: 281-289.
17. Fraser AF, Broom DM. *Farm animal Behaviour and Welfare*. Bailliere Tindall. Londres, RU. 170-190.
18. Fuguay, J.; Cuadra, E.; Smith, A. 2002. Anatomía y fisiología del tracto reproductivo de la hembra: Prácticas avanzadas en fisiología de la reproducción. Mississippi State University.
19. Galina C., Valencia T. 2006. "Reproducción de animales domésticos". 2ª ED. México. Edit.: Limusa.
20. Generad, biotech. Fish en Interfase (2008 año de revisión) http://www.genetadi.com/servicios_diagnosticos/tecnicas/es_fish.asp
21. González Glez. Abundio (2007 año de revisión) <http://fmvz.uat.edu.mx/bpleche/bpleche/BPL10.htm>
22. Gordon Ian. 1996. "Reproducción controlada del ganado vacuno y búfalos". España-Zaragoza. Edit.: ACRIBIA.

23. Griffiths Anthony J. F., Gelbar William M. T., Miller Jeffrey H., Lewontin Richard C. 2000. *Genética moderna*. Madrid. Edit.: Mc Graw Hill.
24. Gustavsson I, Rockborn G. 1964. Chromosome abnormality in three cases of lymphatic leukaemia in cattle. *Nature* 203: 990.
25. Gustavsson I. 1969. Cytogenetics, distribution and phenotypic effects of a translocation in Swedish cattle. *Hereditas* 63: 68 Y 169.
26. Gustavsson I. 1979. Symposium: Cytogenetic farm animals. Distribution and effects of the 1/29 translocation in cattle. *J. Dairy Sci.* 62:825-935.
27. Gustavsson I. 1980. Chromosome aberrations and their influence on the reproductive performance of domestic animals Y a review. *Z Tierzuchtg Zuchtgsbiol* 97: 176-195.
28. Hafez E. S. E., Hafez B. 2002. "Inseminación artificial en animales" 7ª ED. México. Edit.: Mc Graw-Hill Interamericana.
29. Hafez, E.S.E., 1993. *Reproduction in Farm Animals*, sixth ed. Lea e Febiger, London, PA.
30. Hanada H, Muramatsu S, Abe T, Fukushima T. 1981. Robertsonian chromosome polymorphism found in a local herd of the Japanese Black cattle. *.Ann &net SC1 Anim;* 13:205-211.
31. Herrera, J.C., (Ene-Jun 2007), Molecular cytogenetics in plant genome analysis; La citogenética molecular y su aplicación en el estudio de los genomas vegetales. Colombia. http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S003498872002000500005&script=sci_arttext&tlng=es
32. Iannuzzi L, Di Berardino D, Gustavsson I, Ferrara L, Di Meo GP. 1987. Centromeric loss in translocations of centric fusion type in cattle and water buffalo. *Hereditas* 106: 73-81.
33. Iannuzzi L, Di Meo GP, Perucatti A et al. 2001. A new balanced autosomal reciprocal translocation in cattle revealed by banding techniques and HSA-painting probes. *Cytogenet Cell Genet* 94: 225-228.

34. Iannuzzi L, Di Meo GP. 1995. Chromosomal evolution in bovinds: a comparison of cattle, sheep and goat G- and R-banded chromosomes and cytogenetic divergences among cattle, goat and river buffalo sex chromosomes. *Chromosome Res* 3: 291-299.
35. Iannuzzi, L.; Di Meo, G. P.; Perucatti, A.; Eggen, A.; Incarnato, D.; Sarubbi, F.; Cribiu, E. **Pericentric inversion in the cattle Y chromosome**. 2001. Laboratory of Animal Cytogenetics and Gene Mapping, IABBAM, National Research Council (CNR), Naples, Italy.
36. Iturbide, A. 1987. Seminario Centroamericano sobre reproducción y mejoramiento bovino. Tegucigalpa, Honduras. 142p.
37. King WA, Linares T, Gustavsson I. Bane A. 1980. Presumptive translocation type trisomy in embryos sired by bulls heterozygous for the 1/29 translocation. *Hereditas*; 92:167-169.
38. Klug S. W., Cummings R. M., 1999. "Conceptos de genética". 5ª ED. España. Edit.: Prentice Hall.
39. Klug William S., Cummings Michael R., Spenser Charlotte A. 2006. *Conceptos de genética*. 8ª Ed. Madrid. Ed. Pearson Educación.
40. La genética y su relación con la biotecnología. 2007. http://www.porquebiotecnologia.com.ar/educacion/cuaderno/ec_20.asp?cuaderno=20#arriba.
41. Logue DN, Harvey MJA. 1978. Meiosis and spermatogenesis in bulls heterozygous for a presumptive 1/29 Robertsonian translocation. *J Reprod Fertil*; 54: 159-165.
42. Long S. 1985. Centric fusion translocations in cattle: a review. *Vet Rec*. 116: 516-518.
43. Long. S. E. 1984. Autosomal trisomy in a calf. *Vet. Record* 115: 16-17.
44. McDonald Dave, página actualizada en junio de 2002 y revisada en febrero de 2008. Hibridación in situ con fluorescencia (FISH: Fluorescent In Situ Hybridization). <http://biomodel.uah.es/citogene/dynacare/fishinfo.htm>

45. McKenzie AJ, Thwaites CJ, Edy TN. 1975. Oestrous, ovarian and adrenal response of the ewe to fasting and cold stress. *Aust. J. Agric. Res.* 26: 545-551.
46. Molteni L., Meggiolaro D., De Giovanni Macchi A., De Lorenzi L., Crepaldi P., Stacchezzini S., Cremonesi F., Ferrara F. 2005. Fertility of cryopreserved sperm in three bulls with different Robertsonian translocations. *Animal Reproduction Science* 86: 27-36
47. Mori, M., Sasaki, M., Makino, S., Iskikawa, T. and Kawata, K. 1969. Autosomal trisomy in a malformed newborn calf. *Proc. Japan Acad.* 45:955-959.
48. Moro P., Tejedor T., Monteagudo I., Intxausti del Casal, Arruga L. 1998. Análisis genéticos en la raza PONI VASCO-POTTOKA. Resultados preliminares. *Arch. Zootec.* 47: 181-188.
49. Nicholas F. W. 1990. "Genética Veterinaria". Zaragoza, España. Edit.: Acriba.
50. Nicholas F. W. 1998. "Introducción a la genética veterinaria". Zaragoza, España. Edit.: Acriba.
51. Nicholas F. W. 2004. "Introduction to veterinary genetics". Edit.: Oxford, Blackwell.
52. Origen de las razas (Fleckvieh-Simmental y Low Line-Mini Angus) (2007 año de revisión). http://altagenetica.com/_wsn/page2.html
53. Ortega Cerrilla María Esther y Gómez Danés Alejandro Ángel. 2006. Aplicación del conocimiento de la conducta animal en la producción pecuaria http://www2.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S037818442006001200004&lng=es&nrm=iso...&tlng=es
54. Pierce A. B. 2006 "Genética un enfoque conceptual". 2ª ED. Madrid-España. Edit.: Médica Panamericana.
55. Pollard JC, Littlejohn RP. 1996. The effect of pen size on the behavior of farm red deer stags confined in yards. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 47: 247-253.

56. Popescu C.P. 1977. Observations sur le caryotype normal et anormal des bovins. *Can. Vet. Jour.*, Vol. 18, no. 6. 143-149.
57. Popescu C.P. 1990. Chromosome of the cow and bull. *Domestic Animal Cytogenetics*. Academic Press. USA. 41-71.
58. Popescu CP, Pech A. 1991. Une bibliographie sur la translocation 1/29 de bovins dans le monde (1964 y 1990). *Ann Zootech* 40: 271-305.
59. Popescu CP. 1978. A study of meiotic chromosomes in bulls carrying the 1/29 translocation. *Ann Biol anim Bioch Biophys*; 18:383-389.
60. Popescu CP. 1980. Cytogenetic study on embryos sired by a bull carrier of 1/29 translocation. *Proc 4th Eur Colloq Cytogenet Domest Anim*; 182-186.
61. Popescu, C.P. 1996. From chromosome shape to chromosome mapping: 30 years of domestic animal cytogenetics. *Arch. Zootec.* 45: 117-124.
62. Popescu, C.P., 1989. *Cytogénétique des mammifères d'élevage*. INRA, Paris, France. Shi, D.S., Lu, K.H., Gordon, I., 1990. Effects of bulls on fertilization of bovine oocytes and their subsequent development in vitro. *Theriogenology* 33: 324.
63. Popescu, C.P., 1989. *Cytogénétique des mammifères d'élevage*. INRA, Paris, France.
64. Rangel-Figueiredo T, Iannuzzi L. 1993. Frequency and distribution of Rob(1;29) in three Portuguese cattle breeds. *Hereditas* 119: 233-237.
65. Raza simmental. (2007 año de revisión). <http://www.geocities.com/wallstreet/exchange/8492/simmental.html>
66. Rosales-Alday J., Elzo A. M., Bermúdez M. M., Vega M. V. 2004. Parámetros y tendencias genéticas para características de crecimiento predestete en la población mexicana de Simmental. *Téc. Pecu. Méx.* 42 (2): 171-180.
67. Rushen J, Taylor AA, Paille AM. 1999. Domestic animals fear of humans and its effect on their welfare. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 65: 285-303.
68. SAGAR. 1998. Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural. Programa Nacional de los Recursos Genéticos Pecuarios. México.

69. Salamanca Gómez Fabio. 1990. Citogenética humana fundamentos y aplicaciones clínicas. Edit.: Médica Panamericana. México D.F.
70. Sánchez Ortiz Humberto. 2000. Estado actual del procesamiento del semen de bovino y la inseminación artificial en la República Mexicana. Tesis MVZ. Facultad de Estudios superiores Cuautitlán. UNAM. México.
71. Schmutz SM, Flood PF, Moker JS, Barth A, Mapletoft R, Cates W. 1990. Incidence of chromosomal anomalies among western Canadian beef cattle. *Can J An SC*; 70:779-783.
72. Strachan Tom, Read Andrea P. 2006. Genética humana. 3ª Ed. México. Edit.: Mc Graw Hill.
73. Succi, G., 1996. Zootechnia Speciale, eighth ed. Citt`a Studi Edizioni, Milano, Italy.
74. Tibisay Vilanova Lourdes, Ballarales Pedro Pablo. 2005. La evaluación andrológica: justificación y métodos. Universidad Centrocidental LisandroAlvarado http://www.avpa.ula.ve/docuPDFs/libros_online/manualganaderia/seccion6/articulo18-s6.pdf
75. Tschudi, P. Ueltschi, G., Martig, J. and Kuepfer, U. 1975. Autosomale Trisomie als Ursache eines hohen Ventrikelseptumdefekts bei einem Kalb der Simmentalrasse. *Schweiz. Arch. Tierheilkd.* 117:335-340.
76. University of Florida. 1990. Conferencia internacional sobre ganadería de los trópicos.
77. Valle A., Fuentes A., Puerta M. 2004. Influencia de factores climáticos sobre las características seminales de toros Holstein y Pardo Suizo nacidos en el trópico. http://www2.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S037878182005000100006&lng=es&nrm=iso
78. Vallenzasca, C., Martignoni, M., Galli, A., 1990. Finding of a bull with Y/17 translocation. *Hereditas* 113 (1), 63-67.
79. Vera O., Bastidas P., Muñoz G. 1997. Análisis cromosómico precoz y manejo reproductivo adecuado como herramientas para mejorar la reproducción de ganado bovino. *Arch. Ltinoam. Proa. Anim.* 5(Supl.1): 524-526.

-
80. Vickery SS, Manson GJ. 2005. Stereotype and preservative responding in caged bears. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 91: 247-260.
 81. Von Herzog, A. and Hoehn. H. 1968. Autosomale Trisomie bei einem Kalb mit Brachygnathis inferior und Ascites congenitus. *Dtsch. Tierärztl. Wochenschr.* 605-605.
 82. Warwick, E; Legates, J. 1992. Cría y mejora del ganado. 8 ed. México D.F. Mc Graw Hill.
 83. www.drscope.com/pac/mg/b1/index.htm, (2008, año de revisión). Programa de actualización continúa paramedicina general. Genética.
 84. Zemjanis, R. 1994. Reproducción animal, diagnóstico y técnicas terapéuticas. Trad. por Daniel Pacheco Leal. México, D. F. UTEHA, Noriega Editores.

