

Las terneras mellizas ¿fértiles o infértiles?



Ximena Cardona L.
 Bióloga
 Universidad de Antioquia
 ximenacl@colanta.com.co
 Colombia

Juan F. Vásquez C.
 Médico Veterinario
 Máster en Ciencias Animales
 Universidad de Antioquia
 juanvc@colanta.com.co
 Colombia

Cuando en los hatos de producción lechera se presenta un parto múltiple heterosexual, es decir el parto de un macho y una hembra, la hembra es inmediatamente descartada porque se tiene el concepto de que son infértiles, mejor conocidas como “machorras”. Lo anterior en parte es cierto.

En los bovinos, al igual que en los humanos, se presentan los gemelos y los mellizos. Los gemelos son producto de la fecundación de UN óvulo con UN espermatozoide y la posterior división en DOS embriones, por tal razón ambos serán exactamente iguales y siempre del mismo sexo. Los mellizos en cambio, son el producto de la fecundación simultánea de DOS óvulos con DOS espermatozoides. Los mellizos serán diferentes fenotípicamente y pueden ser o no del mismo sexo (figura1).

El desarrollo simultáneo de dos fetos en el útero materno bovino posibilita la fusión de las membranas fetales permitiendo el intercambio en forma bidireccional de sangre, células y

hormonas entre los fetos (Ayala *et al.*, 2007). Cuando se trata de mellizos heterosexuales, el tráfico de células dará como resultado el Síndrome Freemartin, donde la hembra tendrá en sus tejidos células femeninas propias y células masculinas provenientes de su hermano. Igual situación ocurrirá en su hermano macho, es decir, tendrá células masculinas y células femeninas provenientes de su hermana (Chu *et al.*, 1964).

Fenotípicamente, en el nacimiento y los primeros meses de vida, la apariencia y los genitales externos de una hembra melliza indican sexo femenino; sin embargo, a nivel de los órganos reproductores internos se observan distintos grados de subdesarrollo (vaginas ciegas, ovarios hipoplásicos, agenesis total o parcial de cuernos uterinos) o puede observarse evolución de órganos reproductores masculinos (epidídimos, vesículas seminales, tejido testicular); lo que se traduce en hembras estériles e improductivas (Wilkes *et al.*, 1980).

Para la detección del síndrome Freemartin se han utilizado históricamente diferentes técnicas diagnósticas. Una de ellas es la “Prueba de tolerancia a homoinjerto”, que consiste en transplantar piel del hermano macho a su hermana. Si la hembra es Freemartin, es decir, si se dio la fusión de las membranas fetales entre los fetos, compartirán antígenos y, por lo

tanto, la hembra será altamente tolerante al trasplante de piel del mellizo. Esta prueba de tolerancia es complicada y el macho no siempre está disponible.

Otra prueba diagnóstica realizada es la “Prueba del lapicero” o “Prueba de fondo de vagina”, que consiste en introducir un lápiz a través de la vulva de la ternera y si este no ingresa más de 15 centímetros es síntoma del síndrome Freemartin. Esta prueba es subjetiva pues el desarrollo del tracto vaginal depende de la edad y raza de la ternera. Ante la inexactitud y subjetividad de estas pruebas diagnósticas, desde la década de los noventa se comenzaron a realizar diagnósticos a partir de estudios de las células (Padula, 2005).

Es importante determinar oportunamente la presencia del síndrome Freemartin en terneras mellizas y, de esta manera, conocer de manera precisa y temprana el estado de fertilidad del animal. Un buen diagnóstico ahorra tiempo y dinero en la cría y levante de animales infértiles y, así mismo, evita el descarte de hembras productivas, especialmente si se trata de animales genéticamente valiosos.

El Departamento de Asistencia Técnica de COLANTA, entre enero de 2009 y noviembre de 2010, realizó un

Figura 1. Parto heterosexual de mellizos bovinos. Se observan diferencias fenotípicas y de sexo.



estudio para el diagnóstico del síndrome Freemartin con 65 hembras bovinas nacidas de parto múltiple heterosexual, reportadas por ganaderos proveedores de La Cooperativa a su Departamento de Asistencia Técnica. Estos animales provinieron principalmente de sistemas de lechería especializada y doble propósito del norte y oriente antioqueño.

A cada una de las hembras reportadas se le realizó una toma de muestra de sangre de cinco mililitros (figura 2) en la vena yugular o caudal. La sangre fue colectada en tubos con anticoagulante y transportada a 4 grados centígrados hasta el laboratorio de Genética Animal de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Antioquia para su procesamiento. A las muestras de sangre se les extrajo el ADN (material genético) mediante la técnica descrita por Miller *et al.*, 1988 para detectar, a través de técnicas de la Genética y la Biología Molecular, como era la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) y la electroforesis, la presencia o ausencia del gen SRY (López, L. Vásquez, N. 2004), gen exclusivo de las células masculinas que se encuentra en el cromosoma “Y”, que solo tienen los machos. En otros términos, se buscaba detectar si en la muestra de sangre de la ternera existía o no la presencia de células masculinas provenientes del hermano mellizo macho.



Figura 2. Toma de muestra de sangre de melliza para diagnóstico del síndrome Freemartin.

La técnica PCR es una biotecnología considerada a nivel mundial como rápida, altamente sensible, específica y 100% confiable. Por raza, del total de terneras analizadas el 80% (52) es Holstein, 3% (2) Holstein x Ayrshire, 3% (2) Holstein x Gyr, 3% (2) Jersey, 1,5% (1) Jersey x Holstein, 1,5% (1) Simmental, 1,5% (1) Angus, 1,5% (1) Jersey x Simmental x Holstein, 1,5% (1) Brahman x Holstein, 1,5% (1) Rojo Sueco y 1,5% (1) Jersey x Holstein x Sueco Rojo y Blanco x Ayrshire.

Las terneras número 11 y 12, de 20 días de edad, fueron diagnosticadas como positivas para el síndrome Freemartin y se les realizó un análisis anatomorfológico postmortem en las instalaciones de FrigoColanta (planta de beneficio ubicada en el municipio de



Figura 3. Sector periférico adyacente de los ovarios de una ternera, en donde se determinó la presencia de túbulos seminíferos incipientes.

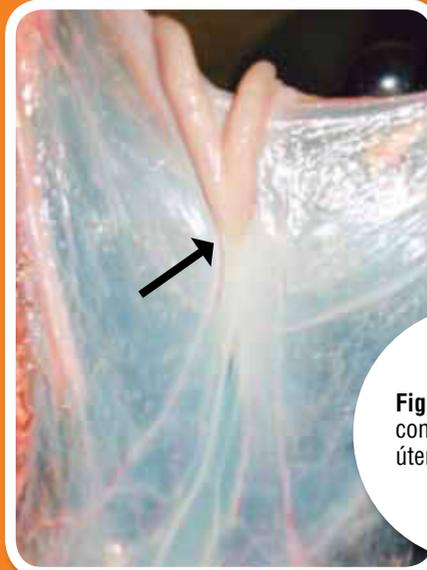


Figura 4. Falta de continuidad del útero al cérvix.

Tabla 1. Resultados obtenidos del análisis molecular del gen SRY de 65 muestras de terneras nacidas por parto múltiple heterosexual en Colombia.

# Muestra	Raza	Municipio	Resultado	# Muestra	Raza	Municipio	Resultado
1	Ang	Angostura	Normal	34	Ho X Ayr	Guarne	Freemartin
2	Ho	Medellín	Freemartin	35	Ho	San Pedro	Freemartin
3	Ho	San Pedro	Freemartin	36	Ho	Guarne	Freemartin
4	Ho	San Pedro	Freemartin	37	Ho	Yarumal	Freemartin
5	Ho	Entrerríos	Freemartin	38	Ho	Yarumal	Freemartin
6	Ho	San Pedro	Freemartin	39	Ho	Entrerríos	Freemartin
7	Rs	San Pedro	Normal	40	Ho	Santa Rosa	Freemartin
8	Ho	San Pedro	Normal	41	Ho	Santa Rosa	Freemartin
9	Ho	San Pedro	Freemartin	42	Je	Entrerríos	Freemartin
10	Je	San Pedro	Freemartin	43	Ho	San Pedro	Freemartin
11	Brah X Ho	Belmira	Freemartin	44	Ho	Carolina	Freemartin
12	Ho	Belmira	Freemartin	45	Ho	Santa Rosa	Freemartin
13	Ho	Entrerríos	Freemartin	46	Ho	Belmira	Freemartin
14	Ho	Entrerríos	Freemartin	47	Ho	Santa Rosa	Freemartin
15	Ho	Carolina	Freemartin	48	Ho	Santa Rosa	Freemartin
16	Ho	Belmira	Freemartin	49	Simm	Carolina	Freemartin
17	Ho	Entrerríos	Freemartin	50	Ho	Medellín	Freemartin
18	Ho	Entrerríos	Freemartin	51	Ho	Entrerríos	Freemartin
19	Ho	Armenia	Freemartin	52	Ho	Santa Rosa	Freemartin
20	Ho	Carolina	Freemartin	53	Ho	Armenia	Freemartin
21	Ho	Belmira	Freemartin	54	Ho	Bello	Freemartin
22	Ho	Entrerríos	Freemartin	55	Ho	San Pedro	Freemartin
23	Ho	Entrerríos	Freemartin	56	Ho	Belmira	Freemartin
24	Ho X Gyr	San Pedro	Freemartin	57	Ho	Santa Rosa	Freemartin
25	Je X Ho	San Pedro	Freemartin	58	Ho	Entrerríos	Freemartin
26	Ho	Entrerríos	Freemartin	59	Ho	San José	Freemartin
27	Jexhoxsrbxayr	Belmira	Freemartin	60	Ho	Santa Rosa	Freemartin
28	Ho	Santa Rosa	Normal	61	Ho	Santa Rosa	Freemartin
29	Ho	San Pedro	Freemartin	62	Ho	San Pedro	Freemartin
30	Ho	Copacabana	Normal	63	Ho	San Pedro	Freemartin
31	Je X Simm X Ho	Yarumal	Freemartin	64	Ho	Bello	Normal
32	Ho X Gyr	Bello	Normal	65	Ho	Belmira	Freemartin
33	Ho X Ayr	Donmatías	Freemartin				

Santa Rosa de Osos, Antioquia). Uno de los animales presentó aspecto de sus genitales externos aparentemente normal. En la otra se pudo ver hipertrofia (aumento) del clítoris.

Las figuras 3 y 4 pertenecen al tracto reproductivo de la ternera número 11. La figura 3 muestra el aspecto de los ovarios. En el izquierdo se observa

un tejido de color claro principal, y un sector periférico adyacente de color rojizo (señalado por la flecha), en donde después el análisis se determinó la presencia de túbulos seminíferos incipientes. En condiciones normales, los túbulos seminíferos se encuentran en los testículos masculinos, lo que demuestra que la estructura encontrada corresponde a un testículo rudimentario. La figura 4

muestra la misma pieza estirada, tomada de los extremos del ligamento ancho. En ella se puede ver la falta de continuidad del cuerpo del útero al cérvix. Apenas se visualiza un cordón fibroso (ver flecha).

La literatura reporta que el Freemartinismo se presenta en un rango que oscila entre el 85 y el 95% de las hembras provenientes de parto múltiple heterosexual (Ayala *et al.*, 2007). En este estudio, el 89% de los animales fueron positivos al síndrome. Tanto los resultados reportados por la literatura como los arrojados por el presente trabajo confirman la alta frecuencia del síndrome en mellizas heterosexuales. La frecuencia de aparición del síndrome no ha diferido significativamente entre estudios durante los últimos 36 años, independientemente del sistema de diagnóstico utilizado. Lo que sí se ha crecido en años recientes es la frecuencia de los partos múltiples, producto, al parecer, del aumento en la selección lechera (Wiltbank *et al.*, 2000). A su vez, el incremento en la incidencia del síndrome, durante los últimos años en las ganaderías, ha aumentado la tasa de descarte de hembras y los costos de levante de animales infértiles.

Al parecer, el factor racial por sí mismo no es determinante en la presentación del síndrome. Animales de alta producción,

independientemente de la raza, serán propensos a desarrollar partos múltiples y, por lo tanto, a presentar Freemartinismo. Si bien en el presente estudio el 80% de las hembras Freemartin pertenecieron a la raza Holstein, también es la raza predominante en la mayoría de las fincas muestreadas. En conclusión, el factor predisponente al síndrome es el nivel de selección para producción lechera que tenga el animal, mas no la raza.

Las hembras Freemartin contienen en el genoma de sus células el cromosoma "Y". La expresión de muchos de sus genes, incluyendo SRY, contribuye al desarrollo irregular de las estructuras reproductivas internas con lesiones tales como vaginas ciegas, ovarios hipoplásicos (ovarios infantiles) y agenesia total o parcial de cuernos uterinos (desarrollo incompleto de los cuernos uterinos); o bien puede observarse desarrollo de órganos reproductores masculinos como epidídimos, vesículas seminales y tejido testicular (Wilkes *et al.*, 1980).

En el presente estudio, la mayoría de las hembras se muestrearon en los primeros 60 días de vida. En este momento existen pocos signos de masculinización evidente. En algunas hembras se encontraron genitales



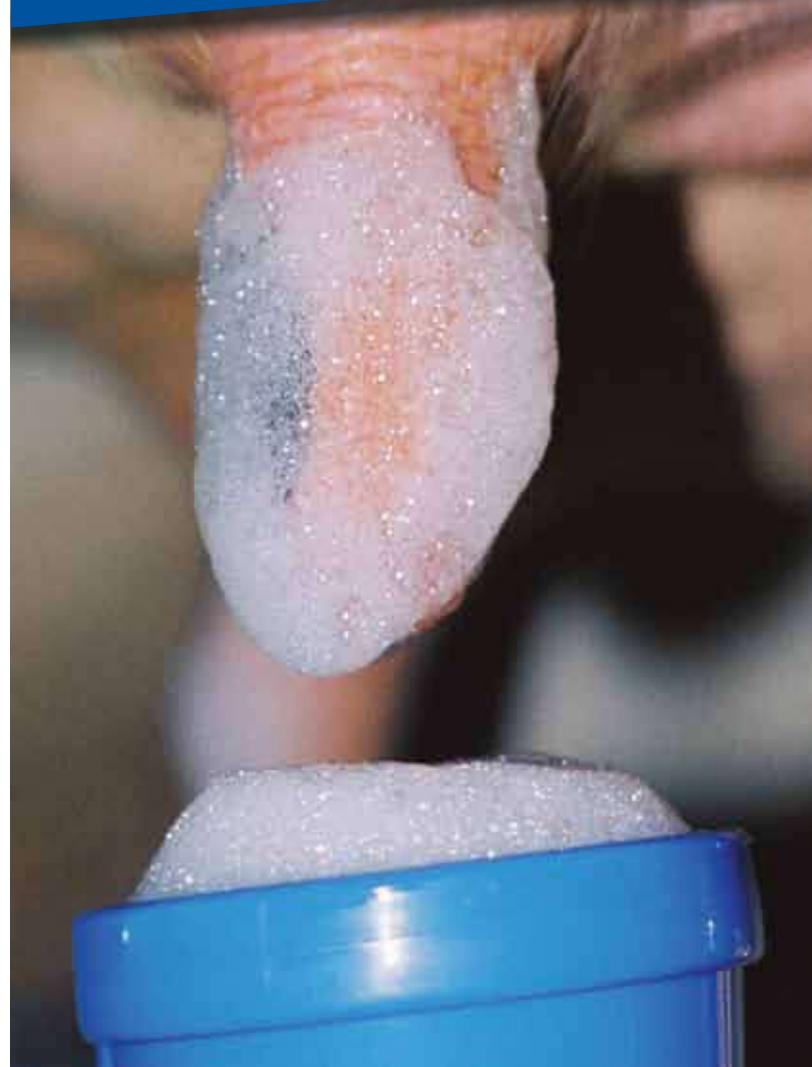
externos aparentemente normales, pero el diagnóstico molecular confirmó el síndrome. En otras se visualizaron algunos indicios de la presencia de Freemartinismo, en características como hipertrichosis (mechón de pelos) en labios y comisura vulvar, y desarrollo hipertrófico (aumento) del clítoris.

El análisis anatomopatológico permitió ver lesiones internas reportadas por la literatura (Wilkes *et al.*, 1980), como la presencia de tejidos mixtos en la zona ovárica, las cuales después de la confirmación por examen histopatológico presentaron tejido reproductor masculino incipiente denominado ovotestis (Valencia *et al.*, 2005).

La importancia de determinar oportunamente la presencia del síndrome Freemartin en terneras mellizas heterosexuales radica en poder conocer de manera precisa y temprana el estado de fertilidad del animal, ahorrando tiempo y dinero en la cría y levante de animales infértiles. Así mismo facilita el uso de hembras positivas en actividades como detección de celos, donde se ha reportado que las Freemartin poseen libido superior a hembras normales (tan alta como la de un toro) (Ayala *et al.*, 2000) y sin los riesgos de accidentes en instalaciones, operarios y otros animales, generados por el uso de toros.

La incursión de biotecnologías tales como la PCR han posibilitado el diagnóstico de múltiples enfermedades genéticas e infecciosas del bovino. Su sensibilidad, especificidad, rapidez y bajo costo están incrementando sus aplicaciones en beneficio de la producción pecuaria.

Pezones perfectamente limpios. Naturalmente saludables.
Biofoam



Su solución - cada día

Biofoam es una espuma de limpieza de pezones diferente a todo lo que usted ha visto.

Ventajas de la espuma:

- Cubre todo el pezón, de la punta a la base, marcando bien la zona de aplicación.
- Se adhiere al pezón proporcionando mayor tiempo de acción contra la suciedad.
- Forma una película activa - como las burbujas estallan, promueve una acción mecánica que ayuda a remover la suciedad.
- Menores pérdidas - la espuma se adhiere al pezón y no escurre.

15 Segundos

30 Segundos



Pruébelo!

info.colombia@delaval.com

DeLaval

Agradecimientos

Los autores agradecen a los asociados productores de leche y al personal del Departamento de Asistencia Técnica de la Cooperativa COLANTA por su desinteresada colaboración en el reporte de los casos y la toma

de muestras de sangre, respectivamente. De igual manera, al Laboratorio de Genética Animal de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Antioquia por el préstamo de sus instalaciones para la realización de las pruebas.

Referencias

AYALA, M. et al. Estudio anatomopatológico, citogenético y molecular del síndrome freemartin en el bovino doméstico (*Bos taurus*). REDVET, En: Revista Electrónica de Veterinaria. 2007, vol 8, no. 9, p. 1 – 15.

AYALA, M.; VILLAGOMEZ, D. y SCHWEMINSKI, S. Estudio citogenético y anatomopatológico del síndrome freemartin en bovinos (*bos taurus*). En: Veterinaria. México. 2000, no.4.

CHU, E.; THULINE, H y NORBY, D. Triploid-diploid chimerism in a male tortoiseshell cat. En: Cytogenetics. 1964, vol. 3, p. 1 - 18.

LÓPEZ, E. y VÁSQUEZ, N. Genotipificación

del gen de la kappa caseína y determinación del sexo en embriones bovinos mediante PCR. En: Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias. 2004, vol. 17, p. 231 – 240.

MILLER, S. A.; DYKES, D. D. y POLESKY, H. F. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. En: Nucleic Acids Res. 1988, vol.16, p. 1215.

PADULA, A. M. The freemartin syndrome: an update. En: Animal Reproduction Science. 2005, vol. 87, p. 93 – 109.

VALENCIA, F.; JOHNSON, F. y DUQUE, A. Identificación anatómica, citogenética y molecular de un caso de síndrome

de Freemartin. En: Revista Lasallista de Investigación. 2005, vol. 2 , no. 2, p. 45 - 49.

WILKES, P; WIJERATNE, W. and MUNRO, I. A study of the cytogenetics and reproductive anatomy of freemartin heifers. En: European Colloquium of Cytogenetics of Domestic Animals (4: 1980, Uppsala, Sweden). Department of Animal Breeding and Genetics. Faculty of Veterinary Medicine Swedish. University of Agricultural Sciences. P. 104 – 117.

WILTBANK, M. C. et al. Mecanismos that prevent and produce double ovulation in dairy cattle. En: J Dairy Sci. 2000, vol. 83, p. 2998 - 3007.

Proteja su inversión
**con una leche
garantizada**



En menos de 7 minutos y en tan solo 3 pasos, cargue, active, lea y listo

Pruebas portátiles, simples y autónomas **SNAP® ST** para **detectar residuos de antibióticos Betalactámicos.**

En donde este, antes de enviar su producción o de mezclarla en los tanques, verifique su calidad con una sencilla prueba.



AQUALAB SAS

Tecnología, Diagnóstico y Ensayos Científicos en Áreas Ambientales, Meteorológicas e Industriales



SNAP

La seguridad de una prueba garantizada en sus manos

Cra. 10 No.97-14
PBX 6108597
FAX: 6184062 | 0186aqua@etb.net.co
Bogotá - Colombia