

Segundo Documento de Líneas Directrices

para la Elaboración de Planes Nacionales de Gestión
de los Recursos Genéticos de Animales de Granja

Gestión de pequeñas
poblaciones en peligro



Food
and
Agriculture
Organization
of
the
United
Nations

Organisation
des
Nations
Unies
pour
l'alimentation
et
l'agriculture

Organización
de las
Naciones
Unidas
para la
Agricultura
y la
Alimentación



*Initiative for
Domestic
Animal
Diversity*

*Initiative pour
la Diversité
des Animaux
Domestiques*

*Iniciativa para
la Diversidad
de los Animales
Domésticos*

Prólogo	1
Utilización de estas Líneas Directrices	1
1. Introducción	3
1.1 Importancia del ganado	3
1.2 Razones de la desaparición de la diversidad animal	4
1.3 Estrategia mundial para el manejo de los recursos genéticos de los animales de granja	8
1.4 Objetivos para la conservación	10
1.5 Opciones de conservación	12
1.6 Objetivo y estructura de estas líneas directrices	13
2. Encuesta y Análisis de la Situación Presente	16
2.1 Comprender la diversidad	18
2.2 Fuentes de información existente sobre una raza	20
2.3 Concebir y conducir un censo	22
2.4 Análisis de los datos de un censo.	25
2.5 Organizar a los productores para el control de desempeño	27
2.6 Conducir una encuesta	28
2.7 Concebir el cuestionario de la encuesta	30
2.8 Clasificación del estado de riesgo	34
3. Tomar en Cuenta las Opciones	38
3.1 Atraer apoyo para los proyectos	40
3.2 Poner en marcha los planes nacionales de acción	42

3.2.1	Cría animal y biodiversidad.	42
3.2.2	Sustentabilidad	44
3.2.3	Una repartición equitativa.	45
3.3	Oportunidades para mejorar el desempeño económico	46
3.3.1	Determinar los hechos relativos al desempeño económico.	47
3.3.2	Incorporar la raza indígena en un esquema de cruzamiento.	48
3.3.3	Selección en la raza indígena.	50
3.3.4	Examinar las potencialidades para un nicho del mercado para productos de calidad.	51
3.3.5	Desarrollar nuevos productos.	52
3.3.6	Estímulos financieros.	53
3.3.7	Mejorar el manejo.	54
3.4	Elegir la opción de conservación	55
3.4.1	Clasificación de las estrategias de conservación.	55
3.4.2	Prioridades entre las estrategias para una conservación activa.	57
3.4.3	Aspectos particulares de la criopreservación.	58
3.4.4	Tomar la decisión.	60

4. La Concepción de Programas de Conservación *In Vivo* **63**

4.1	Una introducción a algunos conceptos genéticos relevantes	63
4.1.1	Variabilidad genética y tasa de consanguinidad.	63
4.1.2	Intervalos de generaciones.	68
4.1.3	El parentesco medio de una población.	69
4.2	Ocuparse de la historia de la población	70
4.2.1	Cuellos de botella.	70
4.2.2	Defectos genéticos.	71
4.2.3	Poblaciones en extinción genética.	73
4.3	La estructura genética de la población conservada	74
4.3.1	El tamaño efectivo de la población deseada.	74
4.3.2	Crioconservación como medio de reducir la consanguinidad.	76
4.3.3	Selección de padres y madres.	77
4.3.4	Utilización comercial.	80

4.3.5 La introducción de nuevos animales no emparentados. 82

4.4 La estructura física de la población conservada 84

4.4.1 Selección de machos y hembras que integrarán un núcleo. 84

4.4.2 Localización del núcleo. 85

4.4.3 Sistemas de acoplamiento en un núcleo disperso. 86

4.4.4 Registros. 86

4.5 Seguimiento, registros e investigación 87

4.5.1 Registros y bases de datos. 87

4.5.2 Seguimiento. 87

4.5.3 Incorporar algo de investigación. 88

4.6 Desenvolverse sin registros genealógicos 89

4.7 Una nota sobre la utilización de material congelado 90

4.7.1 Eliminar los defectos genéticos. 91

4.7.2 Núcleos dispersos. 93

4.8 Pericia requerida 93

5. Crioconservación 95

5.1 Las Bases de la Criopreservación 97

5.1.1 Semen. 100

5.1.2 Embriones colectados *in vivo*. 101

5.1.3 Embriones producidos por maduración y fecundación *in vitro*. 102

5.1.4 ADN. 106

5.1.5 Células somáticas. 107

5.2 Objetivos realizables utilizando material congelado 109

5.2.1 Recrear una raza desaparecida. 110

5.2.2 Desarrollo de una nueva raza. 113

5.2.3 Apoyo a una población conservada *in vivo*. 114

5.2.4 Investigaciones para identificar genes simples de gran efecto. 115

5.2.5 Estudios de ADN. 116

5.2.6 Objetivos realizables para el banco de germoplasma en su conjunto. 117

5.3 Obtención de animales donantes para la criopreservación	118
5.4 Recapitulación de las normas y procedimientos	121
5.4.1 Instalaciones.	122
5.4.2 Procedimientos para los controles veterinarios.	123
5.4.3 Técnicas para congelar y descongelar el semen.	124
5.4.4 Técnicas para congelar y descongelar embriones.	125
5.4.5 Plan de acoplamiento para la colecta de embriones.	126
5.4.6 Colecta y tratamiento de las muestras de ADN.	128
5.5 Almacenaje de las muestras	128
5.5.1 Identificación.	128
5.5.2 División de las muestras en dos subconjuntos.	131
5.5.3 Ubicación de las muestras.	132
5.5.4 Termos de Nitrógeno líquido.	133
5.5.5 Mantenimiento del stock.	133
5.6 Cuantificar el estatus sanitario del semen y embriones	134
5.6.1 Calificación del semen de mamíferos.	134
5.6.2 Calificación del semen de aves.	136
5.6.3 Calificación de los embriones.	137
5.6.4 Consecuencias de la calificación sobre el almacenamiento.	138
5.7 Tamaño de las muestras a congelar	141
5.8.1 Marco legal para el acceso al material almacenado.	146
5.8.2 Procedimientos para el acceso al material genético.	147
5.8.3 Procedimientos para estudios que sólo utilizan ADN.	148
5.8.4 Reposición del nivel y mantenimiento de los stocks.	149

6. Organización, Comunicación y Formación en Conservación	153
6.1 Organización	153
6.1.1 Soberanía nacional y beneficio para la comunidad.	153
6.1.2 Propiedad sobre los animales y los productos	154
6.1.3 Responsabilidades de los registros y de la selección.	155
6.1.4 Propiedad y acceso a los registros.	155
6.1.5 Normas de base para la cría.	156
6.2 Participación en los proyectos de conservación	156
6.2.1 Criadores individuales o privados.	156
6.2.2 Asociaciones de criadores.	166
6.2.3 El Estado.	157
6.2.4 El Punto Focal Nacional (NFP).	158
6.2.5 Organizaciones no Gubernamentales (ONG).	158
6.2.6 Zoológicos o granjas museos.	159
6.2.7 Compañías privadas.	159
6.3 Sistemas de seguimiento y evaluación	160
6.4 Comunicación	162
6.4.1 Audiencias.	163
6.4.2 Herramientas de comunicación.	164
6.5 Formación	165
6.5.1 Temas a ser enseñados en la educación superior.	167
6.5.2 Formación de productores y de técnicos de vulgarización.	171
7. Comentarios Finales	173
7.1 Un resumen de las líneas directrices	173
7.2 Revisión	175

Anexo 1	Controles y Reglamentos Sanitarios para la Colecta y el Almacenamiento del Semen	176
	A1.1 Aspectos generales de la congelación de semen	186
	A1.2 La estación de cuarentena	178
	A1.2.1 Condiciones para la aprobación de las instalaciones.	179
	A1.2.2 Control sanitario.	180
	A1.2.3 Amansamiento y aprendizaje de los animales.	180
	A1.2.4 Movimiento de animales.	183
	A1.3 El Centro de Colecta de Semen: generalidades	183
	A1.4 El Centro de Colecta de Semen: alojamiento de los animales y sala de colecta.	185
	A1.4.1 Alojamiento de animales:	185
	A1.4.2 La sala de colecta.	185
	A1.4.3 Control del estado de salud durante el período de colecta.	186
	A1.5 El Centro de Colecta de Semen: Unidad de Procesamiento y Almacenado.	188
	A1.5.1 Laboratorio de procesamiento del semen.	189
	A1.5.2 Sala de lavado y de desinfección del material.	189
	A1.5.3 Sala de prealmacenado del semen.	190
	A1.5.4 Sala de almacenado del semen.	190
	A1.6 Acreditación de las instalaciones y del personal	191
	A1.7 Aspectos particulares de los programas de conservación	192
	A1.7.1 Exigencias obligatorias.	193
	A1.7.2 Controles sanitarios individuales.	194
	A1.7.3 Clasificación de los donantes y del semen.	194
	A1.7.4 Consecuencias de la calificación sobre el almacenado.	196

Anexo 2 Controles y Reglamentaciones Sanitarias para la Colecta y el Almacenamiento de los Embriones 199

A2.1 Producción y almacenamiento de los embriones	199
A2.2 El concepto de la acreditación oficial de los equipos de colecta de embriones.	200
A2.2.1 Competencia del personal.	201
A2.2.2 Equipamiento apropiado.	202
A2.2.3 Laboratorio permanente.	202
A2.2.4 Condiciones sanitarias de las donantes.	203
A2.3 La calificación del estado sanitario de los embriones.	204

Anexo 3 Procedimientos Técnicos para la Congelación del Semen 206

A3.1 Congelación del semen de toro	206
A3.2 Congelación del semen de cerdo	207
A3.3 Congelación del semen de carnero	208
A3.4 Congelación del semen de conejo	210
A3.5 Congelación del semen de caballo	211
A3.6 Congelación del semen de macho cabrío	212
A3.7 Congelación de semen de gallo	213
A3.8 Congelación de semen de Búfalo	215
A3.9 Congelación del semen de Pavo y Pato	216

Anexo 4 Procedimientos Técnicos para la Congelación de los Embriones 217

A.4.1 Congelación de embriones bovinos	217
A4.2 Congelación de embriones de Ovinos y Caprinos	218
A4.3 Congelación de embriones de conejo	219

Anexo 5	Protocolos Técnicos para la Extracción del ADN	221
	A5.1 Extracción del ADN a partir de la sangre de mamíferos	222
	A5.2 Extracción del ADN a partir de la sangre de aves	223
Anexo 6	Principios que Sustentan las Simulaciones para Determinar el Tamaño de las Muestras	226
	A6.1 Simulación de las necesidades de semen.	226
	A6.1.1 Objetivo 5.2.1: recreación de una raza utilizando el semen.	226
	A6.1.2 Objetivo 5.2.2: Desarrollo de nuevas razas.	227
	A6.1.3 Objetivo 5.2.3: Apoyando a la conservación <i>in vivo</i> .	227
	A6.1.4 Objetivo 5.2.4: Investigación en la identificación de genes simples de gran efecto.	227
	A6.2 Simulación de las necesidades de embriones.	227

▶ Prólogo

▶• Utilización de estas Líneas Directrices

La FAO ha lanzado, en 1992, un programa especial para el manejo de los recursos genéticos animales, el cual es un testimonio de la importancia de los recursos genéticos animales (RGA) y de la alta proporción de los que se encuentran actualmente en peligro de desaparición, y está alineado con el mandato de la FAO y de la Convención sobre la Diversidad (CBD).

Uno de los objetivos de este programa es desarrollar líneas directrices para el uso de los países. La recopilación principal (FAO, 1996), destinada particularmente a los niveles de decisión política, está concebida para ayudar a los países a comenzar la identificación de los principales elementos y objetivos de un plan de manejo de recursos genéticos, y a definir las direcciones estratégicas requeridas para alcanzar tales objetivos. La Recopilación principal está completada y reforzada por cuatro documentos secundarios dirigidos esta vez a aquellos que deben ejecutar las políticas, administrativa y técnicamente, y cubren los siguientes temas: caracterización, descripción de los sistemas de cría, utilización activa y desarrollo de las razas, y manejo de las poblaciones en peligro para proveer una guía para la organización de los sectores identificados en el documento principal. Estas Líneas Directrices consideran los aspectos, opciones y técnicas específicas del manejo de las poblaciones en peligro.

Muchos han contribuido al desarrollo de estas Líneas Directrices, cuya versión actual ha sido preparada por: Drs. J.A. Woolliams¹, D.P. Gwaze², T.H.E. Meuwissen³, D. Planchenault⁴, J.P. Renard⁵, M. Thibier⁶ y H. Wagner⁷

¹ Roslin Institute (Edinburgh), Roslin, Midlothian EH25 9PS, U.K.

² Ministry of Mines, Environment and Tourism, Harare, Zimbabwe.

³ ID-DLO, Lelystad, The Netherlands.

⁴ Bureau des ressources génétiques (BRG), Paris, France.

⁵ INRA, Jouy-en-Josas, France.

⁶ Centre national d'études vétérinaires et alimentaires (CNEVA), Paris, France.

⁷ FAO, Rome, Italy.

Las Líneas Directrices toman la forma de un manual “paso a paso”: la primera etapa consiste en evaluar la situación actual por medio de censos y encuestas; la segunda etapa, elegir entre las diferentes opciones de conservación; la tercera etapa, la elaboración del protocolo técnico para la opción elegida; la cuarta etapa consiste en elaborar un plan completo del proyecto para la organización, la comunicación y la formación de recursos humanos.

La Líneas Directrices constituyen un manual sobre “como practicar la conservación de las pequeñas poblaciones de animales en peligro”. Ellas serán periódicamente revisadas para incorporar la información y la experiencia adquirida sobre la conservación de los RGA.

▶ 1. Introducción

- *Importancia del ganado*
- *Razones de la desaparición de la diversidad genética*
- *La estrategia mundial para el manejo de los recursos genéticos animales*
- *Objetivos de la conservación*
- *Opciones de conservación*
- *Metas y estructura de las Líneas Directrices*

▶• 1.1 Importancia del ganado

¿Porqué ocuparse de la conservación?

La domesticación de las especies domésticas de animales granja comenzó hace alrededor de 12000 años, cuando los hombres comenzaron a mantener animales para el trabajo, para la alimentación, por su fibra y para otros usos agrícolas. Actualmente, aproximadamente 40 especies de mamíferos y de aves han sido domesticadas, todas igualmente importantes para la alimentación y la agricultura. Pero lo esencial de la producción mundial está provisto por 14 especies solamente, representando unas 5000 razas.

Se estima que 1960 millones de seres humanos, o sea el 40% de la población mundial, depende de la ganadería para la totalidad o para parte de sus necesidades cotidianas. Alrededor del 12% de los seres humanos dependen casi totalmente de rumiantes como la vaca, el yak, la oveja y la cabra. El ganado transforma forrajes y residuos de cultivos, ambos no comestibles por el ser humano, en alimentos importantes desde el punto de vista nutricional. Aproximadamente sólo el 40% de la superficie total de los países en desarrollo puede ser utilizada de una u otra forma para la producción agropecuaria. Los animales representan en forma directa el 19% de la alimentación mundial. Aportan también tracción y abonos para los cultivos, lo cual lleva su contribución a un

25%, y de esta manera los hace esenciales para alcanzar una seguridad alimenticia sustentable. Además, el ganado sirve de reserva financiera de gran importancia en muchos de los sistemas mixtos y pastoriles, contribuyendo de forma importante a disminuir los riesgos. En total se estima que un 30% de las necesidades humanas en alimentación y agricultura son provistas por los animales. Debido al rápido crecimiento demográfico, el consumo de productos alimenticios y agrícolas también crece. Así, los animales son un componente crucial para la satisfacción de las necesidades globales futuras y contribuirán seguramente a mejorar la calidad de vida de numerosas comunidades rurales.

Numerosas razas de ganado doméstico están amenazadas o en peligro. Basada en una encuesta realizada en el mundo entero, la Lista Mundial de Vigilancia para la Diversidad de los Animales Domésticos (WWL-DAD:2, FAO/UNEP 1995) clasifica al 27% (390/1433) de las razas como “amenazadas” o “en peligro” (será definido más precisamente en el Capítulo 2). Una extrapolación a las 5000 razas que se piensa que existen, da una cifra de 1200 a 1600 razas amenazadas en el planeta. Globalmente, se estima que aproximadamente 50 razas desaparecen cada año, o sea a razón de una por semana. En tanto que muchas razas han alcanzado tamaños de población que les hacen prever un futuro muy poco seguro si no se hace nada para conservarlas, otras están ya en peligro de desaparición inmediata.

►• 1.2 Razones de la desaparición de la diversidad animal

¿Cuales son las fuerzas presentes?

Varios factores ponen a las razas en situación de riesgo y amenazan la diversidad de los animales domésticos. La causa de lejos más importante de erosión genética, es la tendencia creciente a nivel mundial de apoyarse en un número muy limitado de razas modernas adaptadas a las condiciones de “altos insumos-gran productividad” de la agricultura industrial. Esta tendencia es extremadamente preocupante ya que aproximadamente 50% de la variabilidad total es entre razas, el resto

siendo común a todas las razas. De tal manera que ir hacia algunas razas eliminaría una parte importante de la variabilidad en la especie concernida, además de comprometer las combinaciones genéticas disponibles en otros recursos genéticos únicos. Este fenómeno está además amplificado por la posibilidad de acceder al material genético en el mundo entero y por el desarrollo y el fácil desplazamiento de las razas fuertemente seleccionadas.

Razones para la pérdida de recursos genéticos de animales de granja

- Introducción de material genético exótico
 - Políticas agrícolas débiles
 - Limitación del desarrollo de algunas razas
 - Demanda cambiante de los mercados
 - Degradación de los ecosistemas
 - Desastres naturales
 - Agitación política e inestabilidad
-

En los países desarrollados, el progreso en selección y en tecnologías de la reproducción indujo sustanciales ganancias de producción en algunos de los sistemas productivos. Las bases de este éxito, fueron la posibilidad de desarrollar y de aplicar estas tecnologías y acceder a un gran número de poblaciones portadoras de genes o de combinaciones de los genes deseados. Este fenómeno fue aún más amplificado por la posibilidad de acceder a material genético en el mundo entero y al desarrollo y fácil desplazamiento de las razas fuertemente seleccionadas. Esto ha sido positivo de un lado y negativo por otro en la medida en que los programas de mejoramiento desde hace un siglo se han concentrado sobre algunas razas en cada especie utilizando altos niveles de insumos, y sobre dos o tres caracteres, realizando toda la actividad de mejora en ambientes relativamente protegidos. La proliferación ha sido amplificada por la aplicación de las tecnologías reproductivas, principalmente por la inseminación artificial. Otras biotecnologías modernas, como la transferencia de embriones y el clonado, cuando este sea más eficaz, agravarían aún más el problema si no se toman precauciones apropiadas.

El resultado en la actualidad es que un gran número de razas que están muy bien adaptadas a condiciones precisas de ambiente y de nutrición, están desde ahora amenazadas, si es que no han ya desaparecido.

En el curso de la historia de la cría del ganado doméstico, en el mundo entero, se han creado un gran número de razas de las cuales muchas ya han desaparecido. Si como con las especies salvajes, la magnitud del tiempo de creación de variantes se acercase al de desaparición de otras, no habría por que inquietarse.

Pero no es el caso desde hace 100 años: se ha constatado un incremento considerable de la tasa de desaparición de razas y variedades que sobrepasa de lejos a la de creación de otras. Esto representa una pérdida dramática de variabilidad genética en el stock mundial. Nada más que en Europa, 60 razas de ganado han desaparecido durante este siglo y otras 200 están consideradas como en peligro (Majjala *et al.*, 1984). En muchos otros países, que viven de las modificaciones y desarrollo rápidos de su agricultura, existe una tendencia a concentrar los programas de mejora del ganado sobre relativamente pocas razas sin identificar totalmente, evaluar y tomar medidas para la conservación de la gran gama de razas locales disponibles (Hodges, 1990).

Para el mundo en desarrollo, se mencionan varios factores principales responsables de la disminución de la variabilidad genética animal:

- La introducción de material genético exótico por el cual razas, exóticas u otras a menudo no adaptadas, son introducidas y después rápidamente difundidas por el sesgo de un cruzamiento incontrolado. Esto ha sido frecuentemente la consecuencia de malos consejos, a menudo dados junto a proyectos financiados desde el exterior, y ha sido exacerbado en muchos casos por comparaciones mal hechas y engañosas entre las razas indígenas y el material genético exótico. El resultado neto ha sido que razas indígenas han sido perdidas;
- Las modificaciones de las preferencias de los criadores por otras razas son el resultado de influencias económicas cortoplacistas. Estas influencias pueden provenir de políticas agrícolas débiles promoviendo soluciones inmediatas que no

son sustentables a largo plazo o a cambios (a veces temporarios) de la demanda del mercado por un determinado producto;

- El ecosistema completo en el cual la raza ha sido desarrollada, puede estar amenazado, y la declinación de la raza puede revelar la presencia de fuerzas mayores;
- Los desastres naturales como las sequías;
- Las guerras y otras formas de agitación política e inestabilidad.

Las razas indígenas adaptadas al ambiente local en los países en desarrollo tienen a menudo bajas cifras absolutas de producción, en tanto que la productividad misma es relativamente alta si se toman en cuenta las condiciones de producción y la pobreza de los insumos utilizados. Las razas indígenas producen y se reproducen a pesar de la existencia de un ambiente a menudo muy duro y son consideradas como una ventaja importante por el hecho que han desarrollado en el curso del tiempo, caracteres de adaptación de gran valor.

El cerdo Meishan.

Esta raza originaria de la China, es reputada por el tamaño de su camada. La raza ha sido utilizada para producir líneas comerciales dotadas de parámetros reproductivos elevados, por los seleccionadores de porcinos comerciales. Estos desarrollos también han revelado la presencia de un gen mayor que tiene efecto sobre el tamaño de la camada.

Hay pocas dudas que los algo más de 160 países en desarrollo albergan a la mayoría de los recursos genéticos animales mundiales, de los cuales la mayor parte presentan un interés a más o menos largo plazo para otros países. La libertad de acceso a esta reserva de genes será también provechosa para los países en desarrollo.

►• 1.3 Estrategia mundial para el manejo de los recursos genéticos de los animales de granja

¿Que esfuerzos son desplegados para resolver el problema?

La FAO ha lanzado, en 1992, un programa especial para el manejo de los recursos genéticos animales, el cual es un testimonio de la importancia de los recursos genéticos animales (RGA) y de la alta proporción de los que se encuentran actualmente en peligro de desaparición, y está en línea con el mandato de la FAO y de la Convención sobre la Diversidad (CBD).

Este Programa tiene como objetivos establecer mecanismos prácticos y un conjunto de acciones clave a poner en acción en los países apuntando en particular a:

- desarrollar y utilizar mejor los recursos genéticos animales adaptados a las principales condiciones de producción mundiales, caracterizados por el uso de insumos moderados o pobres, de forma de permitir una intensificación sustentable de sus sistemas agrícolas; y
- superar la seria amenaza de erosión genética que pesa sobre las más de 5000 razas sobrevivientes en las 14 principales especies de animales de granja.

La estructura del Programa reposa sobre cuatro componentes principales:

- Un mecanismo intergubernamental por el cual los gobiernos puedan influir directamente sobre el desarrollo de las políticas, en el marco de la Comisión sobre los Recursos Genéticos para la Alimentación y la Agricultura;
- Una estructura mundial basada en los países, con tres elementos centrales: (i) puntos focales y redes, englobando la disponibilidad de un Punto focal nacional a cargo de la puesta en marcha y del mantenimiento de las redes en el país y de mantener los intercambios técnicos con la FAO sobre el Programa Mundial para los RGA; (ii) un mecanismo de

participación para implicar lo mejor posible a todos los interesados; y (iii) la utilización de un Sistema de Información para la Diversidad de los Animales Domésticos (DAD-IS; ver en Internet « <http://www.fao.org/dad-is> ») controlado por los mismos países;

- Un programa de actividades técnicas de seis elementos: (i) caracterización; (ii) utilización y conservación *in situ*; (iii) conservación *in situ* y *ex situ*; (iv) líneas directrices y planificador de acciones; (v) el desarrollo de un sistema de comunicaciones y de información y la formación de recursos humanos para el mismo; y (vi) la coordinación;
- Expertos para encuadrar el desarrollo y la estrategia y optimizar la relación costo-beneficio de las participaciones nacionales.

Como se mencionó más arriba, uno de los objetivos de este Programa es el desarrollo de líneas directrices para el uso de los países. La recopilación hecha por FAO en 1996, está principalmente dirigida a los hacedores de las políticas y está concebida para ayudar a los países a comenzar a identificar los principales elementos y objetivos de un plan de manejo de los recursos genéticos y a definir las direcciones estratégicas requeridas para alcanzar los objetivos. La Recopilación principal ha sido completada y reforzada por cuatro documentos secundarios dirigidos esta vez a aquellos que deben ejecutar las políticas, administrativa y técnicamente, y cubren los siguientes temas: caracterización, descripción de los sistemas de cría, utilización activa y desarrollo de razas y manejo de las poblaciones en peligro para proveer una guía para la organización de los sectores identificados en el documento principal. Estas Líneas directrices consideran los aspectos, opciones y técnicas específicas del manejo de las poblaciones en peligro.

►• 1.4 Objetivos para la conservación

¿Cómo puede ayudar la conservación?

Los objetivos de conservación de los RGA incluyen lo económico, lo social y lo cultural, el ambiente, la reducción de los riesgos, la investigación y la formación. Estos objetivos han sido resumidos como sigue por Hodges, (1987) y Henson, (1992).

- la diversidad animal debe ser mantenida por su potencial económico, permitiendo responder rápidamente a los cambios de condiciones del mercado, las preferencias de los consumidores o las condiciones del ambiente.
- la diversidad animal tiene un rol social y cultural importante. Los animales son parte integrante de ceremonias y de costumbres de grupos étnicos. En las sociedades modernas proveen posibilidades recreativas. Las granjas museos pueden servir de útiles pedagógicos en las zonas urbanas. La industria del turismo puede ser importante en muchos países y puede depender de un ambiente particular, del cual las razas locales son una parte integrante.
- la diversidad animal es parte integrante de un agroecosistema. La pérdida de esta diversidad haría pesar un mayor riesgo sobre el sistema de producción, reduciría la capacidad de responder a los cambios, contribuiría a degradar el ambiente en cuestión y podría aún conducir a su destrucción. Las zonas marginales y los sistemas de producción con insumos moderados o pobres, así como la integración incrementada del ganado en la producción agrícola, serán importantes para la producción de alimentos en el mundo en desarrollo. El mantenimiento y el desarrollo de las razas adaptadas, son esenciales para hacer que esto pueda ser sustentable y sin efectos negativos sobre el ambiente.

- la diversidad de los animales domésticos es un seguro importante para poder responder a las posibles necesidades futuras, desconocidas actualmente. Depender sólo de algunas razas es arriesgado: la concentración sobre un pequeño número de razas resulta en la pérdida de genes o de combinación de genes, sin interés actualmente, pero que podrían serlo en el futuro. Conservar la diversidad de los animales domésticos reduce el riesgo e incrementa la seguridad alimenticia. El problema no es sólo la aceleración de la pérdida de diversidad sino también la falta de combinación de genes inmediatamente disponibles, en especial los concernientes a la adaptabilidad a ambientes particulares, cuando los RGA se han perdido.
- la diversidad de los animales domésticos debe ser conservada para la investigación y la formación. Esto puede incluir a la investigación biológica fundamental en inmunología, nutrición, reproducción, genética o adaptación a los cambios climáticos u otras conmociones ambientales. Razas distantes genéticamente son necesarias en la investigación sobre la resistencia y la susceptibilidad a las enfermedades, ayudando a comprender mejor los mecanismos subyacentes, y para el desarrollo de tratamientos más eficaces o para el control de las enfermedades. La actividad de la conservación sirve a la formación de los que toman parte en la misma, lo que provoca una toma de conciencia, conocimiento y reducción del riesgo.

Objetivos para la conservación

- Potencial económico
 - Consideraciones sociales y culturales
 - Consideraciones ecológicas
 - Reducción de los riesgos
 - Investigación y formación
-

►• 1.5 Opciones de conservación

¿Que significa la conservación en la práctica?

Las opciones de conservación pueden ser divididas en conservar a los animales *in situ*, en el ambiente en el cual ellos se han desarrollado, o *ex situ*, todos los otros casos. Esta segunda opción puede a su vez ser dividida en conservación *ex situ in vivo* y la congelación.

La CBD, en su Artículo 8, da una clara prioridad a la conservación *in situ*, considerada como la recuperación y el mantenimiento de especies o de razas en el ambiente en el cual ellas se han desarrollado. Esta opción debe ser la preferida ya que los animales continúan evolucionando en su habitat original.

El Artículo 9 describe a la conservación *ex situ* como: (i) el mantenimiento de pequeñas poblaciones cerradas, fuera del ambiente en el cual estuvieron adaptadas, en implantaciones artificiales o semiartificiales; y (ii) la congelación (criopreservación) de material como el semen, embriones, ADN, células u ovocitos. La criopreservación *ex situ* no permite la prosecución de los procesos evolutivos de las razas tal como se habrían producido en su ambiente natural.

Las conservaciones *in situ* y *ex situ* son complementarias y no deben excluirse mutuamente. La decisión dependerá de una evaluación precisa de la situación y de las posibilidades de utilizar una u otra opción. Por ejemplo, se debe tener presente que el material genético congelado puede jugar un rol importante en apoyo de las estrategias de conservación de los animales.

►• 1.6 Objetivo y estructura de estas líneas directrices

¿Cómo sacar provecho de la continuación de este documento?

Los objetivos de estas líneas directrices son proveer argumentos técnicos y ayuda para la toma de decisión entre las diversas opciones disponibles, así como para proveer lineamientos sobre como concebir y establecer programas de conservación y bancos de germoplasma. Las consideraciones y reflexiones intentan ser pertinentes para todas las especies de animales de granja y, cuando esto es necesario (por ejemplo en congelación), se dan consejos precisos para una determinada especie.

Este documento está concebido para proveer las bases técnicas necesarias a quien quiera instalar, poner en marcha y hacer el seguimiento de programas de conservación. El Capítulo 2 explica como evaluar el estado de los recursos genéticos animales en el país. Estos resultados son utilizados en el Capítulo 3 para decidir la opción de selección apropiada. El Capítulo 4 describe la concepción de los planes de conservación *in vivo*, y el Capítulo 5 los planes de criopreservación. Las técnicas disponibles para la congelación son a menudo complejas y precisas y por tal razón demandan una descripción más detallada. Sin embargo se aclara que no es intención poner más el acento en esta opción que sobre los planes de conservación *in vivo*, que inversamente, pueden llegar a tener formas más variables y menos precisas. En realidad los planes de conservación *in vivo* son considerados prioritarios. El Capítulo 6 trata sobre el manejo de los planes de conservación, poniendo el acento sobre la propiedad, el personal y la formación. El Capítulo 7 reúne los comentarios de conclusión, con algunas consideraciones generales sobre los costos comparativos de los planes de conservación.

Bibliografía

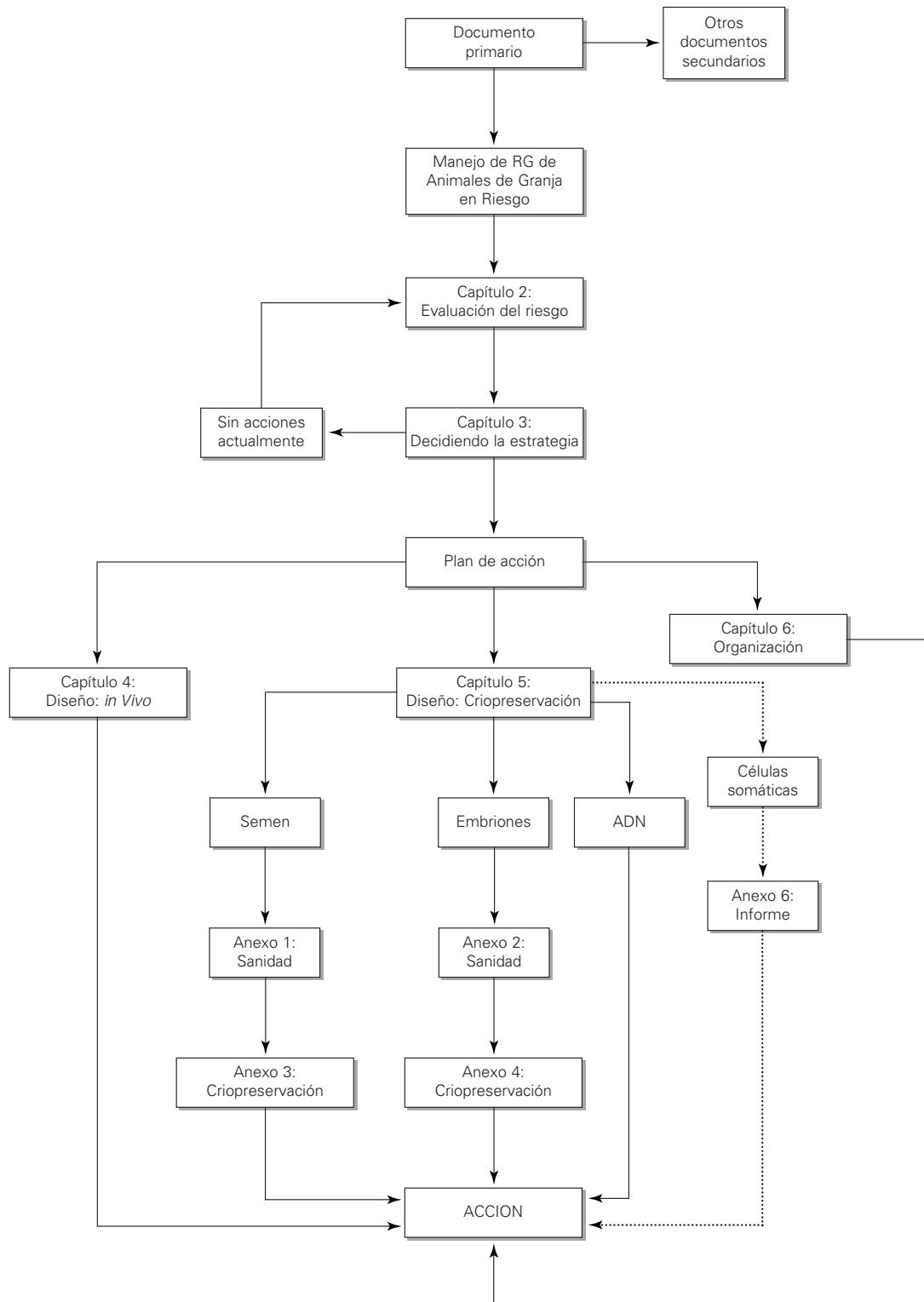
Hodges, J. (1987) (editor). Animal genetic resources - strategies for improving use and conservation. *FAO Animal Production and Health Paper 66*.

Henson, E. L. (1992). *In-situ* conservation of livestock and poultry. *FAO Animal Production and Health Paper 99*.

FAO/UNEP (1995). World watch list for domestic animal diversity, 2nd edition. B. Scherf (ed.). Food and Agriculture organisation of the United Nations, Rome.

FAO (1998). Primary Guidelines for Development of National Farm Animal Genetic Resources Management Plans. Domestic Animal Diversity Information System, Stage 2.0 7 September (<http://dad.fao.org/dad-is/reference/library/library.htm>). FAO, Rome.

Figura 1.1: La estructura de las Líneas Directrices



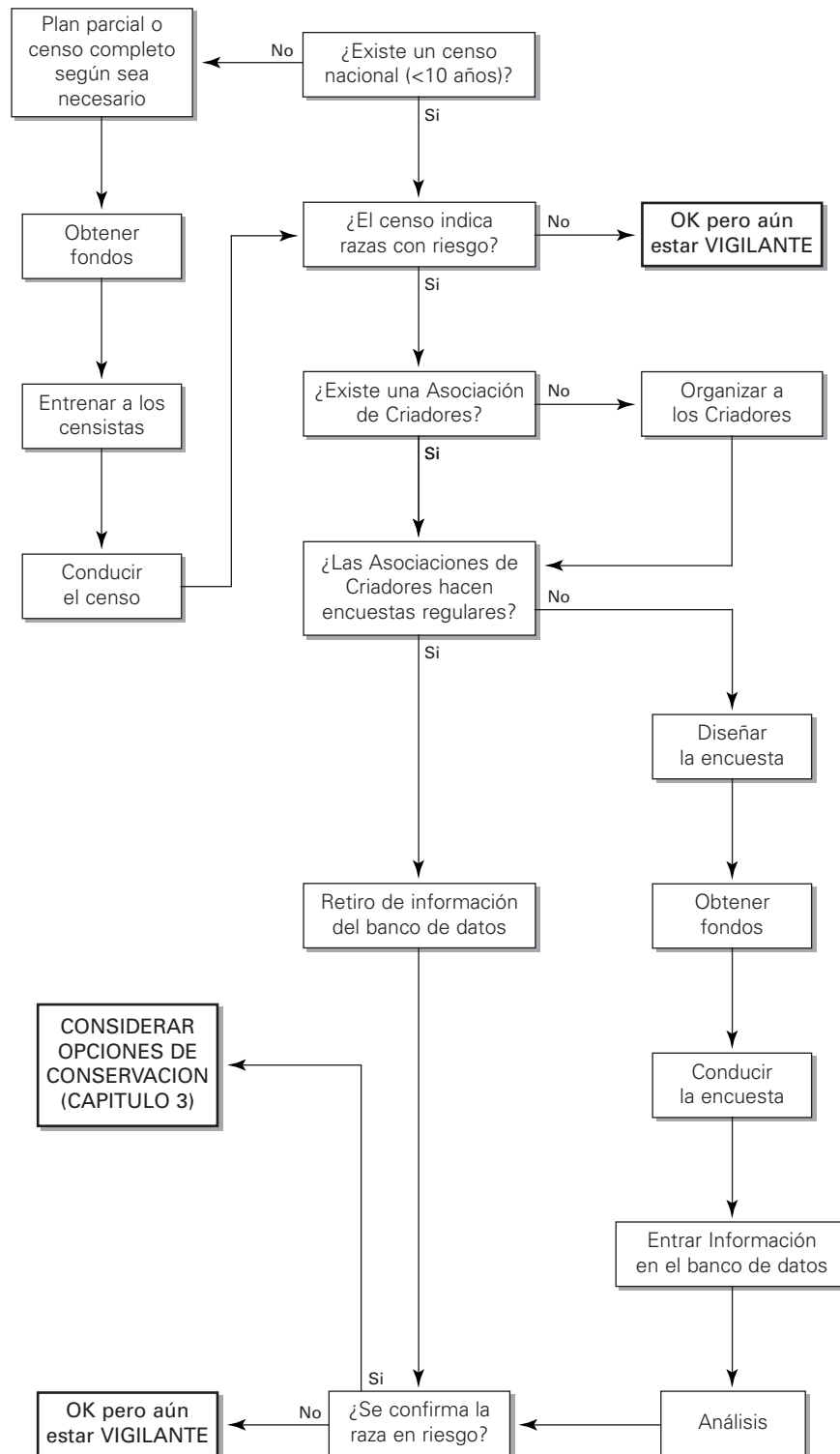
▶ 2. Encuesta y Análisis de la Situación Presente

- *Comprender la diversidad*
- *Fuentes de información sobre una raza*
- *Concepción y funcionamiento de un censo*
- *Análisis de los datos del censo*
- *Organizar los controles de producción por parte de los productores*
- *Conducir un censo*
- *Concebir un cuestionario para un censo*
- *Clasificar el estado de riesgo*

La primera etapa en conservación, es estar al tanto de los recursos genéticos animales que existen en el país. Esta información puede ser obtenida al comienzo a partir de registros escritos u orales. Los proyectos de conservación demandarán, sin embargo, que el estado actual de los recursos sea establecido con certeza. Esto hace necesario la puesta en marcha de un censo parcial o total para obtener la información de base sobre las razas que existen en un país y que tamaño tienen. Esta información comenzará a tener en cuenta asimismo, las necesidades de conservación.

No obstante, no es posible ir más lejos sin saber un poco más sobre la dinámica de la población de las razas (¿el tamaño es creciente o decreciente?), para que sirva cada raza y como puede ser manejada. Esta información puede ser obtenida a partir de censos regulares, conducidos en colaboración con las organizaciones de criadores de las razas involucradas. Los resultados de los censos permiten clasificar a las razas según el riesgo de desaparición, que es uno de los primeros puntos a tomar en cuenta en la elección de prioridades para una conservación activa, y podrían dar indicaciones sobre las razones que pueden explicar la amenaza.

Figura 2.1: Evaluación del riesgo



►• 2.1 Comprender la diversidad

¿Que es una raza y cual su rol en la diversidad?

La diversidad observada hoy en las especies de granja puede ser vista como el resultado de una larga historia de la acción humana con influencias geográficas, sociológicas y económicas. Para cada raza, las principales influencias que han contribuido a la población final son complejas e incluyen efectos de los primeros animales, de las migraciones, de las mutaciones, de la selección natural y de la selección realizada por el hombre. Aún en nuestros días, una u otra de estas influencias puede ayudar a crear nuevas poblaciones animales, exactamente como ellas han contribuido, desde el comienzo, a la desaparición de numerosas poblaciones.

Para estar en condiciones de imponer su propia presión de selección a sus animales, el hombre debe primero controlar algunas de las principales componentes de las tasas de mortalidad determinadas por la selección natural. El hombre es capaz de controlar el tamaño de la población de manera tal que haya suficiente alimento para su rebaño seleccionado y es capaz de conservar forrajes para los períodos del año en que este forraje falta. Es capaz asimismo de proteger a su rebaño de los predadores y de proveer una protección contra las condiciones climáticas extremas, así como es capaz de proteger a su ganado de las enfermedades y los parásitos. El debilitamiento de la presión de selección natural tiene un efecto inmediato sobre la aptitud a sobrevivir (o fitness) de los individuos de sus rebaños y le permite imponer sus propios criterios de selección (para carne, leche, tracción, etc.). El resultado final de estas presiones de selección combinadas, del hombre y de la naturaleza, en sus múltiples formas, es la amplia gama de poblaciones o de razas diferentes que existen hoy día o que han existido en el pasado.

El término más corrientemente utilizado para designar a las poblaciones o variedades de ganado es “raza”. Se han publicado numerosas definiciones técnicas sobre lo que significa “raza”. Así por ejemplo:

«grupo de animales seleccionados por el hombre para tener un aspecto uniforme que es heredable y que lo distingue de otros grupos de animales de la misma especie. Es el producto de una elección artificial de caracteres, que no son estratégicamente necesarios para la sobrevida pero son favorables para el hombre por razones económicas, estéticas o rituales, o porque ello eleva el estatus social del propietario de los animales» (Clutton-Brock, 1981).

El registro de las genealogías ha reforzado esta definición proveyendo una información sobre los ascendientes y sobre el parentesco para muchas de las razas “desarrolladas”. El concepto de raza, sin embargo, engloba a toda población que entra dentro de caracteres definibles. En esencia, el término raza puede aplicarse a cualquier grupo de animales localizados en una zona geográfica definida, que tienen algunas características en común y son reconocidos por las poblaciones locales como un tipo local. Este concepto más amplio ha conducido a aceptar el término “razas” (tal como ha sido utilizado en la Convención para la Diversidad Biológica, por la FAO, en sus líneas directrices) como un término cultural.

Hall y Ruane (1993) consideraban que en el Viejo Mundo el número de razas estaba correlacionado con las poblaciones humanas y los territorios, lo que implica que en el pasado las condiciones que han favorecido el crecimiento de las poblaciones humanas también favorecieron la diversificación de las razas. Los mismos autores afirman que las regiones periféricas o aisladas tienen la mayor proporción de razas por millón de habitantes, lo que querría decir que el alejamiento puede también provocar la diversificación.
(ver también Darwin, 1864).

En una clasificación evolutiva, una población primaria caracteriza el agrupamiento más importante de razas, ocupando la posición (el eslabón

perdido) entre las especies salvajes y las razas estandarizadas (o fijadas) (Lauvergne 1982). Aunque este aspecto no sea directamente el tema de estas líneas directrices, es importante comprender esta noción de poblaciones primarias ya que ellas son el primer esfuerzo hecho por el hombre hacia la domesticación de los animales de granja y han precedido a las razas estandarizadas que salieron de las mismas. Estimulando los censos y la conservación de las razas, podrán ser identificadas aquellas que son las más próximas de las poblaciones primarias y esto podría ayudar a clarificar el proceso de evolución después de la domesticación. Esto tendría como consecuencia que genes que han sido perdidos en las razas más especializadas y estandarizadas podrían ser recuperados. Tales perspectivas, desarrolladas más adelante en las líneas directrices secundarias para la caracterización de los RGA, ayudan a establecer prioridades para la conservación de la multitud de razas genéticamente diferentes que nosotros hemos heredado.

►• 2.2 Fuentes de información existente sobre una raza

¿Dónde existe información sobre una raza?

La primera etapa para la conservación de los recursos genéticos de los animales domésticos en un país consiste en hacer un inventario de toda la documentación existente sobre el tema. La historia de las poblaciones de ganado puede ser muy rica y haber sido guardada en diferentes documentos.

Los trabajos nacionales o regionales sobre las poblaciones de ganado o sobre el desarrollo agrícola hacen referencia a un gran número de nombres de razas diferentes que se refieren todas a una misma población de base. Asimismo, varias familias diferentes pueden compartir el nombre de una sola raza. Es por ello que este trabajo bibliográfico es un elemento esencial para conocer a las poblaciones iniciales de un país y de su historia.

Ha habido un gran número de reuniones de grupos discutiendo sobre los recursos genéticos en muchas regiones diferentes del globo y se han producido numerosos documentos, publicaciones, tesis, informes y planes. Aunque las actividades que prosiguieron a esas discusiones hayan sido decepcionantes en muchas oportunidades, todas han dado lugar a buenas descripciones de muchas razas diferentes. Fuera de los informes de estos grupos, se encuentran numerosas contribuciones individuales tales como: tesis veterinarias, literatura etnológica e informes de entrevistas con especialistas, antiguos criadores, cronistas, etc. Puede también existir una síntesis de esta información (ejemplo: Epstein, 1971).

Sin embargo, la suma de información disponible variará según las razas. Para razas de los países desarrollados la información puede ser detallada y exhaustiva, comprendiendo representaciones de animales considerados como representativos. Para los países en desarrollo, la suma de información puede ser muy limitada (sobre todo bajo la forma escrita) y sólo es posible localizar y caracterizar una raza indígena si su existencia en tanto que raza ha sido reconocida!. Puede llegar a ser más provechoso consultar la literatura sobre las razas indígenas de otros países, sobre todo de aquellos que han tenido lazos históricos con la zona en estudio. Cuando la información es limitada, una importante fuente de información puede ser recogida a partir de los productores, en particular de los de mayor edad.

Con el reconocimiento por la CBD de la soberanía de los países sobre sus recursos genéticos, las naciones son responsables de la descripción y de la documentación de sus propios recursos. Para ayudar a los países a obtener, reunir, registrar esta información y fundamentar sus decisiones, la FAO ha desarrollado el Sistema de Información sobre la Diversidad de los Animales Domésticos (DAD-IS) con esa intención.

Con la historia en la memoria y sabiendo que razas diferentes pueden estar relacionadas entre ellas, es ahora posible pensar en identificar la información más completa sobre la situación actual.

►• 2.3 Concebir y conducir un censo

¿Que representa la organización de un censo?

Una instantánea de la distribución actual de los RGA en un país o una región es esencial para planificar las etapas siguientes con precisión. Un censo es una buena manera de alcanzar este objetivo y bajo su forma más simple puede no ser más que el conteo de cabezas; pero que con un cuidadoso diseño y análisis puede producir mucha más información (ver 2.4) con sólo un pequeño esfuerzo complementario.

La información de un censo es obtenida en dos etapas: (i) un censo parcial para identificar a las razas que pueden estar en peligro; (ii) un censo completo (o lo más completo posible) de aquellas razas identificadas en el censo parcial como pudiendo estar en peligro.

Tanto el censo parcial como el completo deben estar bien planificados con respecto a sus objetivos precisos, a los datos buscados, al diseño experimental y al del cuestionario, al entrenamiento necesario, a la obtención y análisis de los datos, al almacenamiento de los datos y a la publicación de los informes.

En nuestro contexto, el censo es el momento donde los encuestadores (enumeradores) encuentran a los productores en una oportunidad para obtener una información segura sobre el número de cabezas así como cualquier información accesoria que se desee. Un censo completo es por la misma razón muy costoso y entonces puede justificarse realizar primero un censo parcial. Existen fondos disponibles con el fin de conducir censos (contactar FAO, PNUE, Banco Mundial) en la medida en que se admite que una buena conservación está basada sobre una información de calidad y confiable.

En las Líneas Directrices se sugiere un conjunto mínimo de preguntas a realizar a los productores y estas deben estar hechas en una forma tal que sean fáciles de comprender:

- el número de razas diferentes en la granja
- el número por cada raza
- la estructura demográfica por sexo y por grupo de edades para cada raza
- los principales usos de cada raza
- la localización geográfica
- la edad de los propietarios
- algunas informaciones sobre la familia del propietario (por ejemplo número de niños, nivel de educación, estatus social, etc.).

Un censo debe ser conducido sobre el terreno en un período corto para evitar efectos comerciales o climáticos. Por ejemplo, en los sistemas de producción estacionales, el número de animales varía de forma dramática según que el conteo de animales se haga antes o después de la parición, o antes o después del refugo. Ignorar estos factores introducirá equívocos serios en los datos haciéndolos ininterpretables y perdiendo así la inversión. También se debe tomar una decisión sobre cuando y en que período se llevará a cabo el censo.

Se recomienda enfáticamente utilizar una ayuda estadística para el diseño del censo. Este apoyo deberá tener en cuenta diversos temas: que informaciones serán necesarias para alcanzar los objetivos fijados al censo en términos estadísticos (y si los objetivos iniciales no son realizables, cuales son los objetivos razonables?); distribución de las tareas entre los censistas para evitar las potenciales confusiones; la estratificación del censo por regiones, especialmente si el período de encuesta no puede ser suficientemente corto en relación con el ciclo productivo o estacional; las informaciones a recolectar para servir en los análisis que seguirán; los métodos de registro; el almacenamiento de los registros de los censistas

para su uso posterior; el tipo de base de datos que está disponible para almacenar los registros con destino a su análisis; la transferencia de las informaciones de los registros obtenidos por los censistas hacia la base de datos; la forma de análisis y el análisis propiamente dicho.

Es necesario reclutar un gran número de censistas y es importante determinar lo que un censista puede hacer en un día. Se debe dar un entrenamiento apropiado a los censistas para estar seguro que, entre otras cosas: hagan las preguntas de forma de obtener la información deseada; comprenda completamente el objetivo de sus preguntas de manera que sean capaces de responder a cualquier pregunta de los productores sobre lo que se busca con el censo; que puedan interpretar correctamente lo que les será mostrado o dicho por el productor.

Esta preparación, con el manejo y análisis de los datos, contribuye al elevado costo de un censo. Muchos países en desarrollo no han realizado todavía un censo completo de su población animal. Los datos de un censo parcial no son más que estimaciones y si estas estimaciones están basadas sobre muestras de pequeño tamaño o mal concebidas, la imagen del recurso genético animal será en el mejor de los casos, vaga.

Para las pequeñas poblaciones en peligro, cuando están muy localizadas y no hay migraciones, puede ser suficiente con censar únicamente a la región involucrada. El costo será inferior y menor el trabajo. En ese caso, debemos aceptar que la instantánea provista por el censo tiene un centro claro pero límites vagos ya que las relaciones entre las diferentes razas no pueden ser estudiadas.

En los países desarrollados, donde numerosos cambios económicos pueden afectar el tamaño efectivo de una población y, a veces, su localización, se puede recomendar la renovación del censo completo cada diez años. En los países en desarrollo, que representan la mayor parte de los recursos genéticos animales disponibles, el costo impide los censos completos a intervalos regulares, pero censos parciales pueden llevarse a cabo más frecuentemente. Los inconvenientes geográficos pueden por otra parte hacer imposible un censo completo. Se debe entonces esperar a encontrar fondos para un censo completo lo antes posible.

►• 2.4 Análisis de los datos de un censo.

¿Que informaciones puede proveer un censo?

En todos los casos será necesario un apoyo estadístico para ayudar a resumir la enorme cantidad de información generada por un censo y así llegar a una interpretación válida de los datos colectados.

Los resultados de un censo bien planificado mostrarán para cada raza:

- el número de animales
- la estructura demográfica por sexo y por grupo de edades
- el número de rebaños en que se cría la raza
- la distribución del tamaño de los rebaños para la raza
- la distribución del tamaño total de los rebaños en los cuales la raza es criada
- la localización geográfica de la raza
- la distribución de las edades de los propietarios
- algunas informaciones sobre la familia de los propietarios
- las asociaciones con fines agrícolas o comerciales
- las asociaciones con los criadores de otras razas
- algunos aspectos sociológicos
- una mínima descripción del sistema de producción en el cual la raza es criada

Los resúmenes sobre la población nacional total serán obtenidos adicionando la información de las diferentes razas.

Informaciones complementarias pueden después ser desarrolladas utilizando el material disponible en otras bases de datos. Así, combinando los datos del censo con informaciones externas tales como los datos climáticos, sanitarios, sociológicos y económicos, puede ser posible explicar ciertas correlaciones observadas entre el número de animales por raza, las localizaciones geográficas, el tamaño de la familia del productor y el tamaño del rebaño.

Toda esta información es importante para planificar los censos siguientes y para tener una primera noción de las relaciones entre las razas y su ambiente. Esto transforma la visión general que se tiene de las razas tradicionales, obtenida a partir de la búsqueda bibliográfica (2.2), en lo que se está produciendo realmente en nuestros días. En particular:

- un censo es una herramienta que permite identificar las acciones urgentes para proyectos de conservación identificando aquellas razas que tienen una población pequeña.
- un censo puede actuar como un alerta precoz sobre las futuras necesidades de conservación. Por ejemplo, la situación es diferente si una pequeña población está en manos de productores jóvenes o viejos: en el último caso esto indica que la raza está conservada sobre todo por razones sentimentales; en el primer caso, pueden entrar en juego algunos aspectos económicos.

Un censo es más que datos estadísticos. Su conducción y la publicación de sus resultados aumenta la percepción de los principios de la conservación y del valor dado a los recursos genéticos. Es el punto de partida de una vigilancia continua bajo la forma de programas de seguimiento. Si existen programas de mejora, el censo los consolidará. Si no existe ningún programa de mejora y no hay datos disponibles, un censo es un buen precursor para su iniciación.

►• 2.5 Organizar a los productores para el control de desempeño

•¿Como obtener una información más detallada?

Para ir más allá de la información contenida en el censo, es conveniente actuar a través de organizaciones de propietarios interesados en conservar y promover su raza (más adelante nombrados como Asociación de Criadores). Puede ocurrir que tales asociaciones no existan y, en ese caso, se deberá hacer un esfuerzo para estimular a su formación.

Formar una Asociación de Criadores es de interés de todas las partes involucradas por la conservación de la raza ya que la conservación no puede progresar si no hay una cantidad suficiente de productores que apoyen el proceso y que participen en el. Esto es particularmente cierto cuando se espera mantener a la raza *in situ* (ver 1.5) como lo propicia la Convención, ya que los que mantienen la raza, es decir los criadores indígenas, ejercen una considerable influencia tanto sobre la raza como sobre el ambiente en el cual la raza se ha desarrollado. De acuerdo con esto, es deseable resolver este problema lo antes posible en el curso del proceso.

Formar una Asociación de Criadores también es de interés para los propios productores ya que ello les provee un medio de vender y promover su raza, y en general, tener un rol activo en el sostén de la raza.

Una Asociación de Criadores puede tener varios roles posibles aunque dos roles esenciales para la conservación son el desarrollo de un Libro Genealógico y la organización de un control del desempeño de los animales entre los miembros de la Asociación. Esto puede, eventualmente, llevarse a cabo en colaboración con otros organismos tales como instituciones de investigación, ONG o cualquier otra que esté interesada en el proceso de conservación (ver 6.1.2). El seguimiento continuo por la Asociación de Criadores del número de animales y de sus desempeños tendrá un costo financiero, pero la Convención reconoce

esta actividad como una parte importante de la conservación de la biodiversidad. Por tal razón, las instancias de financiamiento tomarán en cuenta las demandas de apoyo bien argumentadas y una Asociación de Criadores debería ser una componente esencial de toda propuesta de conservación bien concebida. La forma que esta Asociación de Criadores puede tomar variará de raza en raza y de país en país y por ello no se propone ningún modelo al respecto.

Una Asociación de Criadores será sin dudas una muestra distorsionada de los productores, en términos de tamaño del rebaño y de la calidad de su manejo. Sin embargo, la importancia de esta distorsión puede ser estimada comparando los rebaños de la Asociación de Criadores con los de los resultados del censo.

Una Asociación de Criadores bien establecida constituye entonces una base importante para el seguimiento regular de la raza por medio de encuestas que resuman la información colectada por la Asociación.

►• 2.6 Conducir una encuesta

¿En que difiere una encuesta de un censo?

En un censo uno no encuentra datos dinámicos; por ejemplo, el número de animales de una raza es creciente o decreciente? Además no hay informaciones que puedan ser utilizadas para desarrollar un plan de conservación que sea durable: cual es el desempeño de la raza, como es la raza? También es muy importante para las decisiones futuras, tener un perfil de la evolución de la raza y no sólo una instantánea. Solo una encuesta regular que asegure un seguimiento continuo de los desempeños de los animales, puede aportar una información dinámica.

La encuesta será casi seguramente organizada a nivel central, por el Ministerio de Agricultura o por sus agentes. La encuesta es conducida solicitando a la Asociación de Criadores que representa la raza que provea la información sobre diversos aspectos del desempeño de la raza.

La concepción del cuestionario será abordada en la sección siguiente. Para obtener las informaciones deseadas, el organizador de la encuesta puede no estar obligado a contactar a cada productor, como en un censo, sino simplemente comunicarse con una persona de cada raza implicada en la encuesta. Si están bien organizadas, es posible llevar adelante encuestas sobre varias razas en forma paralela.

La periodicidad del cuestionario de la encuesta depende del grado de organización de la Asociación Criadores: si está bien organizada y tiene una buena infraestructura de apoyo (Libro Genealógico, apoyo de organismos científicos o técnicos para la colecta de datos), es aceptable realizar una encuesta cada tres años. Si el caso no es como el descrito, se recomienda realizar una encuesta cada año. Esto ayudará a estimular el interés y a mejorar la comunicación dentro de la Asociación de Criadores.

En todas las etapas que siguen, no debe subestimarse la importancia de una buena comunicación y de una buena publicidad. Los resultados de la encuesta, la clasificación en relación al estado de riesgo y las iniciativas de conservación que resulten de la encuesta deben ser puestas a disposición de las Asociaciones de Criadores y de los mismos productores si se quiere mantener y estimular el interés. Una buena publicidad para estimular el interés por las razas en cualquier estado de riesgo será inestimable y puede interrumpir la declinación en el número de animales e incrementar el sentido de propiedad sobre la raza.

A nivel nacional, todas las informaciones sobre los recursos genéticos animales provenientes de diferentes orígenes (bases de datos o encuestas) deben ser colectadas y conservadas en una misma base de datos que se llamará Base de Datos Nacional sobre los RGA. Deberá comprender a todas las razas de una especie dada, no solamente a aquellas que estén en peligro. No debemos perder de vista que, en ciertas condiciones, aún una gran población puede decrecer rápidamente y alcanzar el estado de en peligro en el corto plazo.

Las informaciones de la base de datos pueden ser utilizadas para trabajar sobre problemas científicos o no científicos de otras instituciones. Por

ejemplo, el análisis de las informaciones de una encuesta podría ser utilizado para fomentar una evaluación detallada de las razas en peligro por organismos de investigación tomando la precaución de que se haga una evaluación holística, sobre la vida entera de los individuos.

Es posible prever que las encuestas para todas las razas sean coordinadas por el Punto Focal Nacional. En todos los casos los resultados deben ser puestos a disposición del Punto Focal Nacional para que el lo incluya en el Programa Mundial para los RGA y que el lo comunique por la red nacional. Puede también ser de interés comunicar los resultados a las otras partes interesadas en la conservación y que no están aún incluidas en la red. Finalmente, lo más importante, es que estos resultados deben ser acompañados por la acción.

►• 2.7 Concebir el cuestionario de la encuesta

¿Que preguntas se deben hacer en una encuesta?

Una de las mayores dificultades es la necesidad de disponer de informaciones objetivas, lo cual es crucial para toda comparación entre razas o entre regiones. Las informaciones subjetivas son más fáciles de obtener pero también son mucho menos útiles. La FAO ha progresado mucho comprendiendo varias de las limitaciones y presiones del actual (ej 1997) conjunto de variables recomendadas para la colecta de datos de cada raza; esto en términos de interpretación, de facilidad/dificultad de obtención de datos particulares en ciertos países, de la utilización de los datos y del formateo de los cuestionarios. Está previsto conducir una gran revista, dirigida por la FAO e implicando a los países, que cubrirá la definición de las variables relevantes y los métodos de colecta y de análisis. Esta revista conducirá a mejorar el sistema de banco de datos y, en su momento, será una componente de trascendencia de la tercera fase de DAD-IS.

El desarrollo por etapas de los bancos de datos comprenderá: (i) la progresión desde la colecta de datos básicos (nombre de la raza,

descripción visual, usos, número de animales) hacia datos más avanzados (características de producción, definición del ambiente de producción, definición del manejo); y (ii) la evolución de los bancos de datos sobre los RGA en cada país, manteniendo la compatibilidad con un banco mundial (es decir, permitiendo a los países extraer conjuntos de datos particulares almacenados localmente y pasar esta información por una compilación e interpretación internacional que sean a la vez ricas de sentido y consistentes entre países).

Conservando este espíritu, no se recomiendan acá temas precisos sino más bien se presentan algunos puntos de vista sobre los temas relevantes. Considerando el desarrollo por etapas, puede ocurrir que ciertas perspectivas no sean abordadas en las presentes recomendaciones de la FAO o en las recomendaciones revisadas (a raíz de dificultades de definición o en previsión de dificultades en la colecta de los datos). El lector es invitado a consultar el WWL-DAD:2 para la lista de temas que son incluidos en las recomendaciones actuales de la FAO.

A comienzos de 1977 (15 de enero), el Punto Focal Nacional para Francia lanzó una encuesta para actualizar la base de datos. Se enviaron 51 cuestionarios a 51 interlocutores para las 51 razas bovinas francesas. Dos meses más tarde, sólo el 20% de los cuestionarios fueron devueltos. Después de un primer recordatorio (20 de marzo) la tasa de respuesta aumentó hasta 40% a 80 días después del lanzamiento, para alcanzar el 75% a los 100 días.

Esta experiencia da motivos para pensar que, para una respuesta satisfactoria en el marco de una encuesta sobre los RGA, es importante estimar cuidadosamente la duración de cada fase (colecta, registro, análisis, resultados) y con que rigor pueden establecerse las fechas límites. Períodos demasiado cortos podrían disminuir la calidad e impedir la cooperación y preguntas demasiado complicadas podrían retardar seriamente el trabajo. De tal manera que se debe encontrar una solución de compromiso aceptable!

Una de las ventajas del desarrollo por etapas de la información por encuesta es que la mayor parte de las preguntas serán idénticas y, dos o tres años más tarde, es posible facilitar el trabajo completando por anticipado en parte los cuestionarios con informaciones de la encuesta

precedente y sólo se solicitará así una verificación o comentarios sobre las eventuales modificaciones. Se deberá establecer un compromiso entre la facilidad del llenado de los formularios y la obtención de información exacta y comparable entre razas. Para la mayor parte de los aspectos descriptivos, es preferible alentar a la gente a responder en su propia lengua de manera tal que las respuestas puedan ser obtenidas más fácilmente, más rápidamente y más precisamente; esto traerá sin embargo como consecuencia, mayores dificultades para el tratamiento de los datos obtenidos. La utilización de términos científicos en lugar de términos populares puede evitar la confusión. Todos los términos empleados deben ser claros. La elaboración de un manual de entrenamiento dirigido a los censistas, puede ser de utilidad.

En muchos países, la motivación para completar los cuestionarios disminuye por: (i) falta de un retorno útil; o (ii) falta de compensación por el trabajo suplementario. Para responder al primer punto es primordial transmitir todas las informaciones concerniendo a todas las razas nacionales a las Asociaciones de Criadores y que las informaciones sean enseguida comunicadas a los productores individuales. Para el segundo punto, se debe desarrollar un sistema conveniente de compensaciones.

Perspectivas presentes y futuras en lo concerniente a las informaciones recogidas en las encuestas

Informaciones generales: Al lado del nombre local de una raza y de sus sinónimos, es importante incluir todos los sinónimos ya que ello ayuda a identificar una raza y realizar las comparaciones futuras entre países. La región en la cual la raza está localizada es importante ya que esto permite acceder a otras informaciones importante sobre el clima, las enfermedades endémicas y el ambiente general a partir de otras bases de datos. El uso principal y los usos secundarios de la raza deben ser identificados. Es necesaria una descripción del aspecto físico de la raza tal como el tamaño y el peso, el color, la presencia y la forma de los cuernos y otros caracteres visuales que pueden ser utilizados para definir a la raza. Las informaciones del organismo que ha preparado la respuesta al cuestionario (nombre y dirección) son vitales para las futuras comunicaciones sobre el tema referidas a esta raza.

Desarrollo de la raza. Las informaciones sobre el tamaño de la población de la raza y las tendencias de su evolución demográfica (hembras reproductoras, machos en servicio, machos en IA) son importantes para estimar el grado de riesgo que existe para esa raza (ver 2.8). Las informaciones útiles sobre la estructura de la población comprenden la distribución de las edades de los machos y hembras reproductoras (lo cual sirve para calcular el intervalo de generación, ver 4.2). Los datos sobre la repartición de animales entre los jóvenes capaces de reproducirse en el

futuro y entre los adultos, deberían también ser obtenidos allí donde puede ser claramente definido ya que los jóvenes son importantes para el futuro inmediato de la raza. La proporción de hembras en servicio en pureza, permite estimar la amenaza que pesa sobre la raza por el efecto de los cruzamientos. Cuando ello se justifica, las informaciones adicionales sobre la edad relativa de las hembras acopladas en pureza (por ejemplo las primíparas producen siempre animales puros o siempre cruza) puede ayudar a definir el sistema de cruzamientos y precisar el intervalo entre generaciones. Las informaciones sobre el material congelado (número de dosis de semen, número de embriones) pueden constituir indicadores del estado de desarrollo de la raza y de las actividades de conservación.

Condiciones de manejo. Obtener informaciones sobre las condiciones de crianza es particularmente importante ya que, (i) como ha sido descrito en el párrafo 1.2, las razas indígenas son a menudo amenazadas por comparaciones engañosas con otras razas o con animales cruza; y (ii) constituye un aspecto importante de la sustentabilidad del sistema de producción. Una de las principales causas de la debilidad de las comparaciones es el tratamiento preferencial acordado a ciertos grupos raciales. Sería de gran ayuda si las preguntas pudiesen orientarse hacia la provisión de algunas indicaciones sobre la importancia de todo tratamiento preferencial y los diferentes roles ambientales jugados por los diferentes grupos de razas en la granja. Algunas preguntas relevantes son: tipo de conducta (sedentaria, trashumante, nómada); quien está a cargo del manejo todos los días (el propietario o personal asalariado); la estabulación de los animales, cuando y por cuanto tiempo; la utilización de subproductos de otras producciones de la granja como parte significativa de la ración; la necesidad de alimentos complementarios cultivados fuera de la granja; la necesidad de vacunaciones y contra que enfermedades. Aunque la encuesta pueda buscar ser útil a través de la respuesta a preguntas sobre la rusticidad de la raza comparada con otras, las respuestas en este tema serán en general subjetivas y no pueden substituir a una comparación científica correctamente concebida (ver también 3.2.1).

Desempeño y cualidades especiales de la raza. Esto es indispensable para caracterizar a la raza y debería tratar de estimar la producción económica *a lo largo de toda su vida* (lo cual dependerá mucho de parámetros como la edad al primer servicio, el intervalo posparto de retorno a la reproducción, el tamaño de la camada y la longevidad) y no solo la habilidad de producir los productos comerciales (como producción lechera, número de huevos por año) lo cual constituye la utilización principal de la raza. No se puede realizar una comparación válida entre razas si esto no se lleva a cabo en el marco de un estudio correctamente elaborado, sin embargo los desempeños relativos estimados pueden ayudar a interpretar la dinámica de las poblaciones. La raza puede ser conservada por poseer algunas cualidades especiales, no consideradas en detalle por la encuesta, y es importante asegurarse que habrá una clara oportunidad para que tales cualidades (tolerancia a la falta de agua, resistencia a una enfermedad) puedan ser indicadas a la organización correspondiente. La información sobre el desempeño sólo será útil si es asociada a una información clara sobre las dificultades que existen en el ambiente productivo así como el nivel de alimentación y de otros insumos.

Informaciones complementarias. Será muy útil el establecimiento de vínculos con otras bases de datos provenientes de Asociaciones de Criadores o de organismos de investigación. Los estudios de distancias genéticas pueden ser relevantes. Se deberá ofrecer una oportunidad de presentar los resultados de los programas de conservación. Otras informaciones ligadas a una buena gestión y manejo de los RGA puede llegar a ser solicitada tal como por ejemplo el tamaño del rebaño según la edad del propietario (como fue mencionado previamente en 2.4).

►• 2.8 Clasificación del estado de riesgo

¿Como se puede determinar el riesgo de desaparición?

Desde el punto de vista de la conservación, el resultado más importante del censo y de la encuesta es la clasificación del estado de riesgo de desaparición de la raza. El censo puede dar una primera indicación, pero la encuesta debería permitir afinar el análisis del riesgo haciendo resaltar las tendencias y las causas subyacentes.

Las razas pueden ser clasificadas en siete categorías: desaparecida, crítica, crítica-mantenida, en peligro, en peligro-mantenida, no en peligro y desconocida. La clasificación está basada en el tamaño de la población, el número de hembras reproductoras y la tendencia de la evolución de la población, es decir, si el número de animales aumenta, disminuye o es constante. Es por ello que resulta importante organizar encuestas regulares para permitir una clasificación informada y establecer las prioridades correctas.

► Desaparecida

Una raza es considerada como desaparecida si no es más posible recrear la población. Esta situación es absoluta cuando no hay machos reproductores (ni semen) ni hembras reproductoras (ni ovocitos), ni embriones. En realidad la desaparición puede ser constatada mucho antes de la pérdida del último ejemplar animal, gameta o embrión.

► Crítica

Una raza es clasificada como crítica si el número total de hembras reproductoras es inferior a 100 o el número de machos reproductores es inferior o igual a 5;

o

el tamaño total de una población está próximo de, pero ligeramente superior a 100 animales y este número es decreciente, y el porcentaje de hembras acopladas en pureza es inferior al 80%.

► Crítica-Mantenida

Población crítica pero para la que existen programas activos de conservación o en que las poblaciones son mantenidas por empresas comerciales o institutos de investigación.

► En Peligro

Una raza es clasificada en peligro si el número total de hembras reproductoras está entre 100 y 1000 o el número total de machos reproductores es inferior o igual a 20 pero superior a 5;

o

el tamaño total de la población está próximo de, pero es ligeramente inferior a 100 y creciente, y el porcentaje de hembras acopladas en pureza es superior al 80%;

o

el tamaño total de la población está próximo de, pero es ligeramente inferior a 1000 y decreciente, y el porcentaje de hembras acopladas en pureza es inferior al 80%;

► En Peligro-Mantenida

Población en peligro pero para la que existen programas activos de conservación o donde estas poblaciones son mantenidas por empresas comerciales o por institutos de investigación.

► No En Peligro

Una raza es clasificada como no en peligro si el número total de hembras y machos reproductores es superior a 1000 y 20 respectivamente;

o

si el tamaño de la población se aproxima a 1000 y si el porcentaje de hembras acopladas en pureza es vecino al 100% y si la población total es creciente.

► Desconocida

No necesita definición pero es también un llamado a la acción: a buscarla!

Si una raza es clasificada en el límite, se consideran entonces factores como el número de animales utilizados activamente en inseminación artificial, y/o la cantidad de semen y de embriones acumulados, y/o el número de rebaños, tal como se hace notar en otras partes del cuestionario. El recurso de la IA es un indicador de que el tamaño de la población efectiva puede ser más pequeño que el indicado únicamente por el número de reproductores machos y entonces la clasificación aumentará en prioridad. Por el contrario, la existencia de un stock de material genético correctamente muestreado reducirá la prioridad de conservación (ver capítulo 5).

Si una raza es clasificada crítica, crítica-mantenida, en peligro o en peligro-mantenida, ello es considerado como un riesgo y será candidata a una conservación activa. La etapa siguiente consistirá en determinar cuales son las opciones disponibles y cuales, si las hay, deberán ser puestas en marcha.

Bibliografía

Clutton-Brock, J. (1981). Domesticated animals from early times. p. 26. British Museum (Natural History) and Heinemann, London.

Darwin, C. (1859). On the origin of species. C.A. Watts and Co., Ltd., London, U.K.

Epstein, H. (1971). The origin of the domestic animals of Africa. Vols. I & II. Africana Publishing Corporation, New York, U.S.A.

Hall, S.J. and Ruane, J. (1993). Livestock breeds and their conservation: a global overview. *Conservation Biology* 7: 815-825.

Lauvergne, J.J. (1982). Genetics in animal populations after domestication: the consequences for breeds conservation. *Proceedings of the Second World Congress on Genetic Applied to Livestock Production, Madrid, Vol. VI*, pp. 77-85.

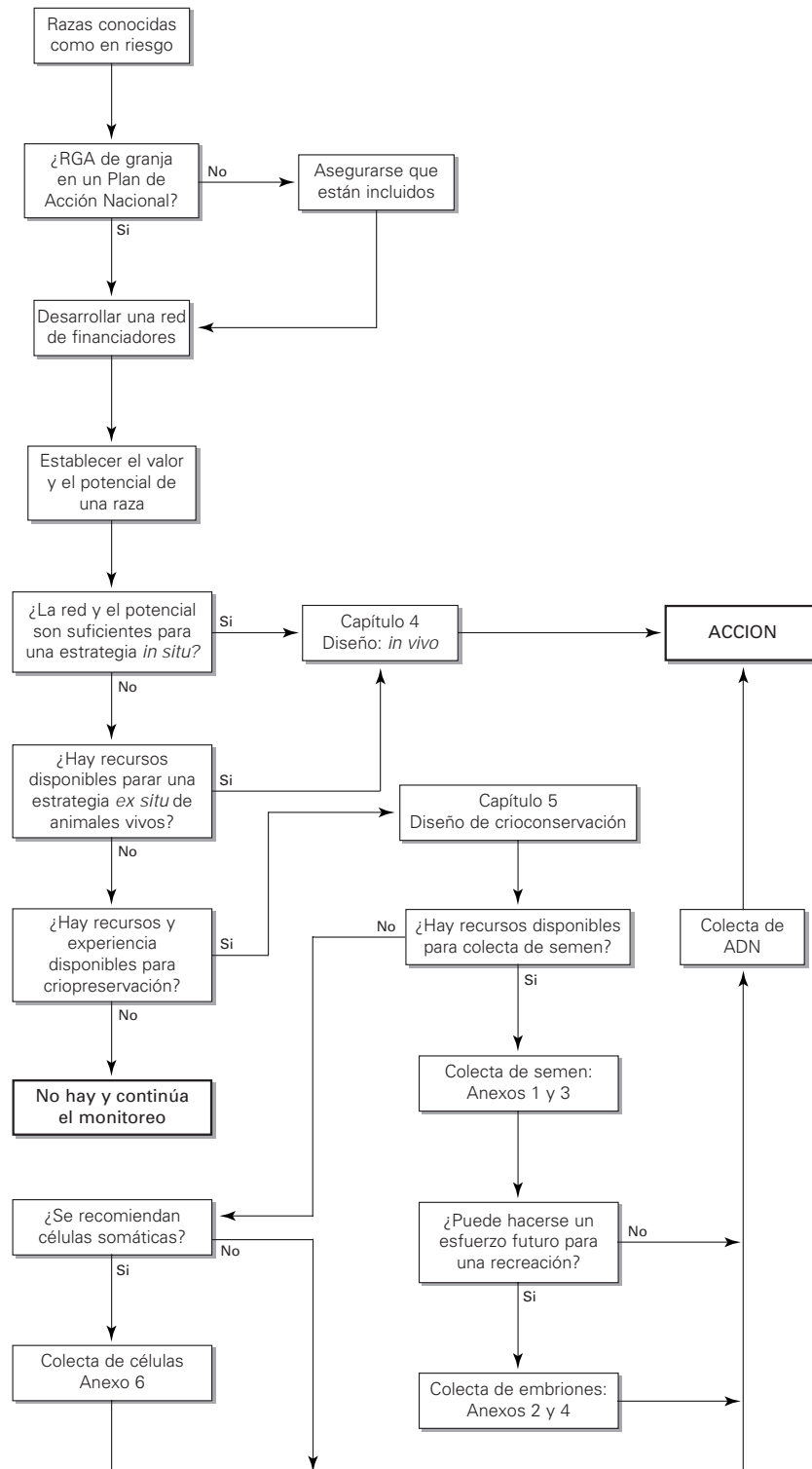
▶ 3. Tomar en Cuenta las Opciones

- *Atraer apoyos al proyecto*
- *Poner en marcha los planes nacionales de acción*
- *Posibilidades de un desempeño económico mejorado*
- *Elegir la estrategia de conservación*

La encuesta y su análisis identificarán las necesidades de conservación de las razas de animales de granja en un país. No obstante, se observará que generalmente el peligro que pesa sobre una raza ha sido aportado por fuerzas económicas y culturales y que estas tendencias continuarán a menos que ellas sean tenidas en cuenta, de lo contrario la actividad de conservación no será sustentable a largo plazo.

También será necesario buscar la mayor cantidad de apoyos posibles, lo que se obtiene ubicando al proyecto de cría en un contexto más amplio. Por tal medio el apoyo puede ser obtenido por gobiernos, organizaciones no gubernamentales, productores y público en general. Actuando así, las oportunidades para una conservación sustentable y las prioridades relativas que ellas ocultan, serán más claras. Finalmente, se pueden formular objetivos generales que tengan una mejor chance de obtener un apoyo, ya sea político o financiero, y que sean realizables. Sobre estas fundamentaciones es posible considerar el protocolo técnico detallado del programa y se pueden desarrollar los planes operacionales y financieros asociados.

Figura 3.1: Decidiendo la estrategia



▶• 3.1 Atraer apoyo para los proyectos

¿Como persuadir a los entes financiadores de apoyar proyectos de cría nacionales?

El hecho que una raza local esté en peligro significa que existen fuerzas selectivas contra ella, ya que el número de animales disminuye. En primer lugar estas fuerzas serán de orden económico, o debidas a malas políticas, a la agitación o a las sequías, ya sea directamente, porque la raza ha sido comparada desfavorablemente con otras razas o especies, o indirectamente, por el hecho de formar parte de un ecosistema sometido a fuertes presiones económicas y, en consecuencia, amenazado con ser destruido. Entonces es posible estimar, con pocas probabilidades de equivocarse, que un proyecto de conservación deberá necesariamente atraer apoyos, y más que probable, recursos económicos de toda una gama de instancias nacionales e internacionales.

Los proyectos de conservación deben ser justificados en el sentido de que ellos aumentarán la producción y productividad animal de forma sustentable y de que tales proyectos son componentes de la Convención sobre la Diversidad Biológica. Ya sea que la primera argumentación sea el incremento de la productividad o la de proteger el ambiente, los financiadores de proyectos (GEF, PNUE, Banco Mundial, FAO, UE) exigirán una evaluación ambiental del proyecto. Esto se hace eficazmente en el marco más amplio de un Plan de Acciones Nacionales, que los signatarios de la Convención se han comprometido a desarrollar. Esto cubrirá la diversidad de la fauna y la flora, domésticos y salvajes. El carácter prioritario del financiamiento de un proyecto, por una instancia gubernamental o por una cooperación internacional, será más fuerte si se puede demostrar que este toma en cuenta numerosos aspectos de la política gubernamental, agrícola, ambiental, cultural, social y, cuando la tracción animal está implicada, de la energía y del transporte.

Documentar la gran importancia de la raza local la eleva por encima del rango de simple elemento productivo, sujeto a las fuerzas económicas del mercado, y permite valorarla según los principios de la Convención sobre la Diversidad Biológica. El trabajo realizado en 2.1 es relevante aquí. Los participantes del proyecto, desde los que aportan fondos hasta aquellos que contribuyen en especies a través de los servicios realizados, pueden extenderse más allá de las agencias nacionales e internacionales involucradas en la agricultura y la cría animal, para englobar también aquellas relacionadas con aspectos ambientales y con las culturas indígenas. Una mayor toma de conciencia en el público, quien está incrementando su estilo de vida urbano, de los problemas que conciernen a la comunidad rural también puede jugar un importante rol influenciando las decisiones de financiamiento.

Financiamiento por las agencias internacionales

Existen dos elementos fundamentales que los proyectos de conservación animal *in vivo* deben tener para atraer a los financiamientos de las agencias internacionales:

- El proyecto debe formar parte de una estrategia nacional para la conservación de todo el ambiente tomando en cuenta al ecosistema, incluidos los vegetales y las selvas, ya que los animales no pueden ser considerados aisladamente de su ambiente.
- El proyecto debe apoyar a comunidades indígenas que deseen conservar su estilo de vida convencional. Las necesidades de las poblaciones indígenas han adquirido un reconocimiento internacional ya que actualmente se reconoce que las poblaciones locales han tenido sistemas de vida sustentables durante milenios por lo que proyectos que apuntan a estimular la utilización y la conservación de las razas tradicionales tienen mayores probabilidades de ser percibidos favorablemente por las agencias de ayuda al desarrollo.

Es difícil obtener un financiamiento a largo plazo de parte de las agencias internacionales de ayuda al desarrollo. Por ello, deberá haber un compromiso financiero de los gobiernos de proseguir los proyectos de conservación, de la misma manera que tales proyectos deben desarrollar planes de conservación para las razas en riesgo al mismo tiempo que se prosigue con la utilización productiva de la raza.

►• 3.2 Poner en marcha los planes nacionales de acción

¿Cuales son los principios en cuestión?

La Convención sobre la Diversidad Biológica define a la biodiversidad como “los recursos genéticos, organismos o partes de ellos, poblaciones o toda componente biótica de los ecosistemas que tengan una utilización, presente o potencial, interesante para la humanidad”. Esta declaración coloca al ganado doméstico en el corazón de tales planes, ya que lo que este ganado produce tiene una utilidad clara y demostrable para la humanidad, pero no puede ser considerado separadamente de su ambiente, incluidos las plantas, los insectos y los otros vertebrados salvajes.

Para construir planes que atraigan financiamiento y un buen apoyo, ellos deben hacer claramente referencia a la Convención que impone los lazos entre el ganado doméstico y: (i) la conservación de la diversidad biológica; (ii) la utilización sustentable; y (iii) una repartición equitativa de los beneficios.

Los argumentos en favor de la conservación de la biodiversidad biológica saldrán de los resultados de la encuesta descrita precedentemente. Los argumentos en favor de un uso sustentable deberán tomar en cuenta la viabilidad de todas las opciones para la utilización y el desarrollo genéticos y económicos y esto requerirá tomar en cuenta las contribuciones agrícolas, ambientales y culturales de las razas de ganado. El reparto equitativo de los beneficios de la conservación requiere que sean consideradas la mejora de la raza, del manejo y la integración de la raza en un esquema de cría (por ejemplo el cruzamiento sustentable).

3.2.1 Cría animal y biodiversidad.

Lo que debe probarse es que la raza indígena tiene una utilidad real o potencial para la humanidad y que conservándola se contribuye a la biodiversidad. La primera etapa consiste en desarrollar una red de interés interactivos (agricultura, ambiente, cultura, social y, cuando está

implicada la tracción animal, energía y transporte) que puede hacer que una raza de ganado tenga alguna prioridad para acciones de conservación nacionales o internacionales.

Una raza dada de animales de granja puede influir en la producción agrícola a través de: productos específicos que sean nuevos o de alta calidad; combinaciones particulares de productos o de calidad de productos; una producción más eficaz gracias a la incorporación de pocos insumos extra para la alimentación del ganado o de insumos de menor calidad (subproductos de otras empresas, forrajes o residuos); la facilidad de cuidados, tal vez por una adaptación al ambiente cuyo resultado es una mayor longevidad, una crianza confiable de los animales de reemplazo, una producción confiable o una buena resistencia a las enfermedades; o también sus características para el manejo en terrenos particulares como los terrenos pantanosos. La documentación sobre estas cualidades puede ser producida a partir de bases de datos si las encuestas han sido bien construidas, es decir, si se han realizado las preguntas correctas (ver capítulo 2).

Una raza de ganado será parte integrante de su ambiente si (por ejemplo): se puede argumentar que ella posee una capacidad única de sobrevivir en ambientes que son generalmente considerados como difíciles ya sea a causa de los alimentos locales, de enfermedades endémicas o por sus condiciones climáticas; los hábitos de pastoreo de una raza o de una especie favorecen una flora particular y haciendo esto, mantienen una combinación vegetal única. En tales casos la raza de ganado puede ayudar a mantener el ecosistema y una economía rural. La justificación para el mantenimiento de la biodiversidad en el ganado es enseguida apoyada por los argumentos en favor de la biodiversidad en los taxons y los argumentos para los derechos de las comunidades indígenas. Según los términos de la Convención, los gobiernos se comprometen a designar y proteger las zonas sensibles desde

un punto de vista ambiental y la asociación de una raza a tal zona será un argumento importante en favor de medidas de conservación.

Ciertos valores culturales también son pertinentes: una mayor utilización del ganado puede ser como animales de tiro, lo que puede ser parte integrante de su sustentabilidad; diversas sociedades pueden dar una importancia social particular a animales de ciertas razas.

Ejemplos

Los bovinos Namchi y Kapsiki son utilizados como dote en Camerún y por tal razón juegan un rol cultural importante (AGRI 13:25)

Los bovinos N'dama pueden sobrevivir en zonas donde la mosca Tsé-tsé propaga las enfermedades causadas por los tripanosomas y su adaptación a tal ambiente le permite tolerar la tripanosomiasis. No solamente esto da un rol especial a la raza en el ecosistema que no puede ser jugado por ninguna otra, sino que también esto permitió crear las bases para una cultura humana indígena.

3.2.2 Sustentabilidad

Para sostener un sistema, entes financiadores y otros participantes deben estar convencidos que este sistema tiene grandes posibilidades de ser sustentable. Para ello las presiones de selección que se ejerzan sobre la raza deben ser identificadas. Si las presiones de selección no son tomadas en cuenta, la sobrevida de la raza local como población no podrá ser asegurada sin el aporte de donaciones a largo plazo y en forma repetida. En ausencia de cualquier plan para reducir las presiones de selección, la respuesta racional de los entes financiadores será que los objetivos de conservación sean alcanzados en forma más fácil y económica mediante la criopreservación.

Cuando una raza es dejada de lado porque la opinión general es que la misma no es rentable o porque no existe más la moda de su crianza, entonces se deberán tomar iniciativas específicas que se detallan en 3.3.

Si la declinación de una raza se debe a desastres naturales como sequías, enfermedades, guerras u otras formas de agitación social, entonces esta declinación puede ser considerada como transitoria por lo que el aprovechamiento a largo plazo de la raza es predecible sin mayores medidas y la sustentabilidad de la población estará asegurada una vez que se haya recuperado el número de animales.

Si la declinación del número de animales medidos por censo o encuesta tiene una causa directa, a través de la degradación del ambiente de la raza local, entonces ocuparse de la declinación implicará también la protección del ambiente. Seguramente que la declinación puede actuar como una señal de alarma precoz anunciando un problema ambiental más importante. Los esquemas que apunten a proteger y conservar el ambiente en su conjunto deberán aportar beneficios a las comunidades locales y en este caso, el ganado no será más que un elemento dentro de un conjunto mucho más amplio. Los argumentos para la sustentabilidad de la raza local serán entonces englobados en los argumentos más amplios sobre la sustentabilidad del ecosistema y/o los medios para sostenerlo.

3.2.3 Una repartición equitativa.

La exigencia de una repartición equitativa es particularmente pertinente cuando la declinación de la raza local es directamente debida a la opinión general según la cual esta raza tiene un mal desempeño económico. En tal caso, ya sea se debe contradecir esta opinión o la rentabilidad de la raza debe ser incrementada (ver 3.3). Hacer que económicamente la conservación de una raza local sea beneficiosa para sus propietarios responde a los objetivos de la Convención que

propicia que los beneficios de la biodiversidad sean equitativamente repartidos: una raza antieconómica puede ser considerado como un as en la manga para los observadores alejados, pero es esencial que para los propietarios locales de la raza esto sea visto como un beneficio. Si esto no puede ser logrado, entonces la forma más factible de conservación (si hay alguna) será únicamente la criopreservación

►• 3.3 Oportunidades para mejorar el desempeño económico

¿Como se puede asegurar la rentabilidad de las razas locales?

El desempeño económico resulta de una estimación holística del interés de criar una raza que incluye: la tasa de renovación teniendo en cuenta la tasa de mortalidad, el intervalo de reposición en reproducción y el tamaño de la camada; los costos de crianza de los animales de renovación teniendo en cuenta la calidad de los alimentos y las necesidades de alojamiento y de todo otro manejo particular; los costos de producción teniendo en cuenta la calidad de los alimentos, las necesidades de capital especialmente para el alojamiento (establos), y los requerimientos de trabajo; los costos veterinarios y el retorno por la venta de sus productos. El desempeño económico está estrechamente ligado a la rentabilidad a largo de toda la vida y es ciertamente *mucho* más que un simple cálculo basado en el valor de un producto primario por cabeza en un momento dado.

Existen al menos tres casos como ejemplos para explicar que una raza sea comúnmente considerada como teniendo una baja rentabilidad: los productos son buscados pero los mismos son menos caros en otros lugares; los productos son buscados pero es admitido que la raza tiene un desempeño de producción de los mismos productos, inferior al de una raza introducida; los productos están en si mismos en declinación. Es la segunda de estas tres hipótesis que será encontrada más frecuentemente,

cuando las cruzas entre una raza local y una raza exótica hayan sido producidas y estos animales sean retrocruzados con la raza exótica.

Las estrategias para hacer frente a la declinación de una raza serán consideradas en el contexto de la percepción corriente que una raza local tiene desempeños más bajos que una raza exótica o un cruzamiento, pero todas estas estrategias, salvo 3.3.1 y 3.3.2 son aplicables a otras causas de bajos desempeños económicos. El Cuadro 3.1 presenta una síntesis de las potencialidades de diferentes aproximaciones en relación con las causas de la declinación. Estas aproximaciones no se excluyen mutuamente.

3.3.1 Determinar los hechos relativos al desempeño económico.

Las comparaciones entre las cruzas y las razas indígenas, en lo concerniente a la productividad, a menudo han sido realizadas con protocolos experimentales mal concebidos que conducen a resultados engañosos. Los animales cruza se benefician por lo general de un tratamiento preferencial y los factores tales como eficacia reproductiva, longevidad y nivel de insumos necesarios, que son factores económicos importantes, no son correctamente tenidos en cuenta. Un estudio detallado de los desempeños holísticos de la raza exótica y/o de sus cruza con la raza indígena, incluidos los riesgos de producción a lo largo del tiempo, demostraría sin dudas que la raza indígena es muy competitiva. Es públicamente notorio que la introducción de razas exóticas en el ambiente de los países en desarrollo a dado lugar a numerosos fracasos.

Esta opción requiere de un estudio de las pruebas publicadas (estudios de investigación y desarrollo, informe de proyectos) disponibles y de una evaluación realizada por un experto sobre el carácter convincente de las pruebas existentes. Para rechazar o confirmar una opinión generalizada se debería realizar una comparación bien concebida y analizada. Esto requerirá la participación de gente con experiencia en genética, estadística y economía implicadas desde el comienzo en la planificación y durante toda la duración de la

experiencia y deberá tomar en cuenta los diferentes insumos y productos en el curso del tiempo así como los riesgos asociados con cada elemento de la alternativa en estudio.

- La pregunta fundamental es: "¿el valor económico de la raza local ha sido subestimado?"

3.3.2 Incorporar la raza indígena en un esquema de cruzamiento.

La evaluación holística del desempeño económico de la raza indígena puede concluir en la superioridad de los animales cruza. Sin embargo, la raza local tendrá todavía un valor económico importante en tanto que las cruza sean superiores a la raza exótica; es sin duda claro que este es el caso, pero una respuesta positiva aporta razones suplementarias para conservar a la raza indígena.

La raza indígena puede ser incorporada de forma provechosa en esquemas de mejora que impliquen el cruzamiento. Tal opción tiene como objetivo explotar el vigor híbrido de las cruza para proveer un genotipo que pueda combinar la capacidad de sobrellevar las dificultades ambientales con la capacidad de producir más del producto primario. Cuanto mayor sea la diferencia entre el ambiente de la raza local y el de la raza exótica, son mayores las probabilidades de éxito de esta estrategia (aunque esto no pueda ser garantizado). Sin embargo, la implicancia en un programa de cruzamientos no garantiza la sobrevivencia de la raza indígena en tanto que entidad diferente.

Son posibles dos vías: (i) cruzamiento continuo en el cual las dos razas puras son mantenidas en poblaciones viables y; (ii) desarrollo de una nueva raza a partir de las cruza en la cual los genes de al menos una de las razas son mantenidos sólo en la nueva raza. Estas dos opciones pueden ser combinadas con una selección, en el primer caso, de los animales de raza pura para mejorar a las cruza y, en el segundo caso, en la nueva raza.

► **Cruzamiento continuo.**

Cuando la eficiencia reproductiva es elevada (como en el cerdo o las aves) este sistema puede ser puesto en marcha utilizando solamente a los padres de la raza local y la raza exótica: las hembras de la raza pura tiene tamaños de camada suficientes como para producir a la vez hembras de reemplazo puras y para reproducir a las cruzas, cuyos productos tienen mayor valor comercial. Esta opción es operativa para el cerdo Tapaong de Togo, donde las hembras son cruzadas con el Large White para producir lechones más rentables; también para el cordero Thimadit de Marruecos, que es seleccionado por su desempeño reproductivo en su propio ambiente montañoso y que produce cruzas de tipo carne que son criadas en la planicie.

Con bajas tasas reproductivas, las hembras deberían producir ellas mismas los reemplazos y será necesario recurrir a sistemas rotativos de acoplamiento en los cuales la hembra cruza es acoplada con la raza local en tanto que su padre haya sido de la raza exótica y *viceversa*. La dificultad práctica de tal opción es la de mantener el esquema de cruzamiento rotativo, con el riesgo de que progresivamente más y más hembras sean acopladas con machos exóticos.

► **Desarrollo de nuevas razas.**

En esta opción, los cruza son reproducidos entre ellos como una raza sintética. En ese caso, existe el riesgo que la raza local desaparezca como entidad. Sin embargo sus genes contribuyen al cruzamiento. Ejemplos de esto son observados con la Jamaica Hope y la Australian Friesian Sahiwal. Esta opción es un resultado equivalente a uno de los principales objetivos de la criopreservación (ver 5.1.2).

- La cuestión fundamental es: "¿los cruza tienen mayor valor económico que la raza exótica importada?"

3.3.3 Selección en la raza indígena.

La mejora puede ser obtenida desde el interior de la propia raza por selección, lo que hace interesante mantener a la raza como entidad diferente. La selección conviene que sea incorporada en operaciones de núcleos (ver 4.4) que son un medio eficaz de manejo de las pequeñas poblaciones en riesgo. Los beneficios de la selección son amplificados por la publicidad hecha al esquema de mejora que promete las ventajas de la raza y de los objetivos del sistema de mejora. Tal publicidad eleva el perfil de la raza que será vista como dinámica y en desarrollo. Tales mensajes por si mismos consolidarán y aumentarán el número de propietarios. Una raza exitosa aprovecha también de los esquemas de mejora bien concebidos.

Esta opción es más fácil de poner en marcha con razas que no tienen aún un número crítico de animales o que el mismo ha comenzado a reconstituirse. Un programa adaptado de conservación con un tamaño de población efectivo de menos de 50 deberá concentrarse en la multiplicación y la diseminación de la base genética antes de poner en marcha la selección, lo cual limitará entonces las razones de selección. Si la raza local es verdaderamente no rentable, la selección por si misma no va a resolver el problema salvo a largo plazo, ya que la tasa de progreso de esquemas de selección bien llevados no alcanzarán más del 1 a 2% por año. Si embargo esta ganancia genética es permanente y acumulativa (es posible tener 5 a 10% de mejora en 5 años) y para una raza sufriendo una erosión progresiva de su rentabilidad y del número de sus animales, un esquema de selección es una opción muy eficaz.

Cuando la demanda del producto es declinante, pequeños cambios en el producto pueden interrumpir e invertir esta tendencia. Esto puede ser fácilmente realizado mediante la selección.

La selección puede tener consecuencias sobre otros caracteres que son considerados como de valor en la raza y esto podría comprometer la adaptación de la raza motivo del programa de conservación!. Esta oportunidad requiere que se consideren cuidadosamente los objetivos de selección para evitar el deterioro de importantes caracteres secundarios asociados con el ajuste y adaptación al ambiente; sin embargo, frente al riesgo de desaparición de una raza local (o a su conservación *ex situ*), dos razas económicamente viables localmente son una ventaja para la biodiversidad comparada con una (que sería la exótica).

Las informaciones sobre las posibles respuestas a la selección pueden ser obtenidas a partir de estudios de investigación y desarrollo tanto sobre la respuesta de los caracteres que se quieren seleccionar como sobre las consecuencias para otros caracteres. Es poco probable que esta información exista para la raza local en cuestión, pero las informaciones sobre otras razas lo más próximas posible en lo concerniente al ambiente y al manejo darán al menos un grado de magnitud. Esto podrá después ser afinado a medida que las informaciones sobre la raza local estén disponibles.

- La cuestión fundamental es: "¿el desarrollo por selección, restaurará la rentabilidad de la raza local?"

3.3.4 Examinar las potencialidades para un nicho del mercado para productos de calidad.

La producción de la raza local puede ser comercializable a un precio más alto que la producción comparable de la raza exótica. Para las razas en peligro, los productos tienen desde el comienzo un valor como rareza, pero es necesario sacar provecho de esto. Si esto es posible, los ingresos podrán crecer en los mercados locales y en la exportación.

Este valor agregado puede aparecer simplemente *porque* la raza local es criada de forma tradicional y sus productos son

tratados y manipulados tradicionalmente. Esto puede ser suficiente para que el producto sea identificado como siendo de alta calidad y por tal hecho justificar un mayor precio en el mercado. Esto puede requerir la necesidad de asociar más estrechamente a la raza con la región, enfatizar en el manejo de la raza y comercializar sus productos de forma apropiada.

Existen otras posibilidades de agregarle valor al producto: remarcar las calidades complementarias de la raza local comparadas con las de la raza exótica (por ejemplo una mayor proporción de grasas bajo la forma de ácidos polinsaturados).

- La cuestión fundamental es: "¿el producto es original al punto de justificar un precio de venta más elevado?"

3.3.5 Desarrollar nuevos productos.

En situación de competencia con otra raza, esta opción no es fácil ya que lo que pueda ser hecho con una raza, seguramente podrá también ser hecho con otra. En consecuencia, esto requiere de mucha imaginación. Una vía a explorar es la identificación de un producto tradicional que no se fabrica más: en ese caso la competencia con otra raza será resuelta por una comercialización asociada con ese nicho particular.

Es útil mencionar que entre los nuevos productos puede figurar la propia raza. Puede ser posible generar beneficios de tipo turístico del propio hecho de conservar la raza incorporándola en granjas museo, eventualmente en combinación con la fauna salvaje de la región. Esta opción posee sus propios problemas. Uno de los riesgos que ella funciones en regiones donde: (i) otras atracciones turísticas permitan generar un ingreso suficiente; o (ii) un número suficiente de agricultores puede mantener la raza como un hobby, en asociación con otras empresas comerciales. Si sólo hay algunos participantes, cada uno con una pequeña

cantidad de animales, será difícil mantener una población viable. Aunque la sustentabilidad de esta opción sea menos evidente, ella puede permitir conservar la raza en el corto plazo y crear las condiciones para la puesta en marcha de otras opciones.

- La cuestión fundamental es: "¿la raza puede ser comercializada para producir ingresos a partir de productos no tradicionales?"

3.3.6 Estímulos financieros.

Tienen por objetivo compensar al productor o a quien mantenga los animales, la diferencia en potencial productivo entre la raza que debe ser conservada y aquella que podría mantenerse en el mismo sistema de crianza y el mismo ambiente pero de mayor interés. Esto permitirá atraer a buenos productores al esquema (Henson, 1992). Aunque los estímulos, sujetos por definición a decisiones políticas, no sean viables a largo plazo, pueden ser utilizados en el corto plazo en tanto se ponen en marcha otras opciones.

Aunque los pagos directos sean otra forma de subvención, se puede esperar que tales subvenciones, otorgadas en el contexto de la Convención sobre la Diversidad Biológica, tengan un status especial en el marco de la Organización Internacional de Comercio.

Los pagos de estímulo pueden tomar formas diferentes: (i) por macho o hembra de raza pura criados; (ii) por producto de raza pura criado hasta el destete; (iii) dando acceso a zonas propiedad del estado para pastoreo; (iv) financiando los acoplamientos (ej. IA gratuita); (v) subvencionando la comercialización de los productos. Las dos primeras no son siempre fáciles a poner en marcha ya que ello supone que los animales puros (o sus productos) se distinguen de los individuos cruza (o sus productos). También puede ser difícil obtener el número de animales en forma precisa y confiable.

El tema de los estímulos puede tener también un interés particular para poner en marcha y hacer funcionar un esquema de cruzamientos sustentable (ver 3.3.2 más arriba), ya que subvencionar las inseminaciones en hembras puras y cruza puede agregar estabilidad al sistema.

Si se realizan pagos de estímulo, debe ser claramente definida la propiedad de los productos y las prioridades de la comercialización o de la distribución de los productos.

- La cuestión fundamental es: "¿un esquema de estímulo puede ser sostenido?"

3.3.7 Mejorar el manejo.

Una mejora del manejo, según las circunstancias, puede aportar ganancias significativas en poco tiempo. Esto tomará a menudo la forma de cuidados suplementarios durante la estación invernal. Sin embargo, esta mejora necesitará casi con seguridad una inversión financiera de los criadores locales (costo de los alimentos suplementarios para el ganado o la mejora de su calidad, alojamiento-estabulación) y esto deberá ser explícitamente incluido en los cálculos de rentabilidad de las mejoras del manejo.

Como con la selección, cambios en el manejo pueden comprometer caracteres de la raza local que son de valor. Por tal razón puede ser aconsejable decidir por anticipado hasta que límites la conducta podrá ser modificada, si fuese necesario. Sin embargo, esta opción debe ser tomada en cuenta si aporta un medio de asegurar la conservación en otra región o por congelación. Es posible argumentar que dos razas viables económicamente representan un beneficio en la diversidad en relación con una sola.

- La cuestión fundamental es: "¿cuando las otras opciones son limitadas, es posible mejorar rentablemente el manejo del rebaño?"

Cuadro 3.1. Una evaluación cruzada de las opciones para recuperar la declinación de una raza en función de las razones de tal declinación. El número de asteriscos indica las probabilidades subjetivas de éxito, a fin de ayudar a decidir las opciones prioritarias. N/A significa no aplicable

	La raza local es corrientemente considerada como no rentable	Los productos locales son más económicos en otra parte	La demanda por los productos es declinante
Demostrar el valor	***	N/A	N/A
Cruzamiento	**	N/A	N/A
Selección	**	**	**
Nicho de mercado	**	***	***
Productos nuevos	*	*	***
Estímulos	**	*	*
Manejo	*	*	*

A causa de las modificaciones ambientales que implica esta opción, es menos prioritaria que otras opciones que permitan el mantenimiento de una población de animales vivos en la región.

►• 3.4 Elegir la opción de conservación

¿Que métodos de conservación utilizar?

3.4.1 Clasificación de las estrategias de conservación.

Las consideraciones precedentes habrán precisado cuales son los proyectos de conservación necesarios y cuales son las opciones factibles para cumplir con la conservación *in vivo* de una raza. Lo que queda por precisar son los objetivos del programa. Para hacer esto es necesario clasificar las

prioridades y elegir las estrategias de conservación que convienen.

Para recapitular un punto muy importante del capítulo 1, la primera elección es decidir si la conservación es *in situ* o *ex situ*.

► **Conservación *in situ*.**

En el contexto de la diversidad de los animales domésticos, es principalmente la cría activa de poblaciones animales para la producción alimenticia y agrícola de forma que la diversidad sea utilizada lo mejor posible en el corto plazo y conservada lo mejor posible en el largo plazo. Las operaciones sobresalientes de la conservación *in situ* comprenden los esquemas de control de desempeño y los programas de desarrollo (mejora). La conservación *in situ* comprende también la gestión y la explotación de los ecosistemas para la producción alimenticia y agrícola sustentable. Es admitido que tal mejora puede modificar la repartición de genes del stock.

► **Conservación *ex situ*.**

En el contexto de la diversidad de los animales domésticos, esto significa conservación fuera del hábitat y de los sistemas de producción en donde se produjo el desarrollo del recurso. Esto comprenderá tanto el mantenimiento de animales vivos fuera de su hábitat y la criopreservación.

La segunda elección es una importante subdivisión cualitativa y técnica de la conservación *ex situ*.

► **Conservación *ex situ in vivo*.**

Esto es simplemente la conservación *ex situ* de stocks de animales vivos. Como para la conservación *in situ*, es admitido que las selecciones humana y natural puedan modificar la secuencia de genes.

► **Crioconservación.**

Esto implica la colecta y la congelación de semen, ovocitos, embriones o tejidos que puedan ser utilizados para regenerar a un animal.

Una última opción debe ser considerada: no tomar ninguna acción de conservación y simplemente dejar que se ejerzan sobre la raza las presiones, la economía, la agitación u otras resolviéndose los problemas por si mismos. En este caso, se deberá aceptar el riesgo de desaparición de una raza sin recurso posible a ningún material conservado.

3.4.2 Prioridades entre las estrategias para una conservación activa.

La Convención sobre la Diversidad Biológica establece líneas claras que conciernen a la prioridad entre las estrategias. El Artículo 8 recomienda las actividades de conservación *in situ* cuando es justificado en tanto que el Artículo 9 apela al desarrollo de esquemas de conservación *ex situ* pero en primer lugar complementando los esfuerzos *in situ*. Por lo tanto, la Convención especifica que la conservación *in situ* es el método de elección en la medida de lo posible.

Una parte integrante de la definición del *in situ* es el concepto según el cual la raza debería continuar ocupando el ambiente en el cual ha sido desarrollada. En el contexto de lo que ha sido dicho anteriormente, entre las 7 opciones del 3.3, los cambios de manejo corren el riesgo de transformar al proyecto en un proyecto *ex situ*. Sin embargo, tal cambio conservaría de todas maneras a la raza en su localización de

origen y por tal razón, continuaría estando en relación con sus cuidadores indígenas y esto debería tener un valor mayor que el retiro completo de la raza de su emplazamiento.

Es posible visualizar esquemas de conservación que mantendrían animales vivos a la vez *in situ* y *ex situ* y preverían los intercambios entre los dos subgrupos. Estrictamente hablando, tales esquemas deberían ser considerados como conservación de animales vivos *ex situ*, aunque el sentido común lleva a pensar que estos serán más sólidos que las otras opciones *ex situ*.

La crioconservación como único medio de conservación debe ser considerada como la estrategia que tiene la menor prioridad.

3.4.3 Aspectos particulares de la criopreservación.

Aunque la criopreservación tenga la más baja prioridad entre las estrategias activas, ella implica un costo elevado para la obtención de las muestras a obtener y por lo tanto debe ser justificada. La mayor parte de los argumentos ya han sido descritos previamente, aunque el enfoque principal hayan sido los esquemas de conservación *in situ*. De cualquier modo, la prioridad de criopreservación debería ser para razas que no tienen programas de conservación *in vivo* viables y, por orden de prioridad: (i) muestran una adaptación fenotípica a su ambiente o tienen productos nuevos; (ii) tienen una importancia social o cultural; (iii) después de haber considerado esas otras prioridades, son razas que parecen genéticamente distantes de las otras razas conservadas sobre la base de los análisis de ADN; y para terminar, todas las otras razas.

La crioconservación permite conservar semen o embriones. En regla general, el costo de producción de embriones es más alto que el costo de producción de semen, a pesar que los costos de conservación son los mismos. Los objetivos

precisos de la criopreservación son discutidos en detalle en el capítulo 5. El semen es tan eficaz o aún más que los embriones para alcanzar tales objetivos, salvo cuando el objetivo es recrear una raza que ha desaparecido. Por tales razones el material a conservar en prioridad es el semen. Cuando se considera que existe una fuerte probabilidad de necesidad de acceso al material para una recreación, la conservación de embriones debería también ser considerada como complemento (aunque esta situación sea poco probable).

Aún cuando las muestras de material genético hayan sido obtenidas y estén conservadas, un programa de criopreservación presenta riesgos. Las muestras deben ser mantenidas siempre en nitrógeno líquido y esto supone facilidades de conservación apropiadas y una provisión regular del nitrógeno líquido (descrito en el capítulo 5). Toda ruptura de este procedimiento conducirá a la pérdida de todo el material conservado.

Uno de los aspectos más útiles de la criopreservación es el apoyo a la conservación *in vivo* (ver 4.7, 5.2.3). En ese caso es un complemento en un programa de conservación más amplio, especialmente para los proyectos de conservación *in situ*, en los cuales la criopreservación del material genético es iniciado como una seguridad en caso de catástrofe o si un problema genético aparece como consecuencia de la acumulación de genes recesivos nefastos para la población viva. Cuando la raza sea utilizada en un nuevo programa de selección en el cual se utilice la selección o el cruzamiento (sobre todo en este caso), cuando se operen cambios en la forma de manejo o cuando ciertos elementos de su ambiente natural cambien, la criopreservación iniciada precozmente puede también ser de buena ayuda. Se debe resaltar sin embargo que la criopreservación no es necesaria para el éxito de la conservación *in situ* sino que sólo es un medio de

reducir los riesgos cuando el financiamiento y las instalaciones lo permiten.

3.4.4 Tomar la decisión.

La decisión final concerniente a la estrategia de conservación para cada caso particular dependerá de: (y) el estado de riesgo de la raza; y para cada forma, (ii) la prioridad dada por la CBD como se describió en 3.4.2 incluyendo una estimación de la sustentabilidad y de la repartición equitativa de los beneficios, (iii) los costos a corto y largo plazo; (iv) la dificultad técnica, y (v) el riesgo de fracaso.

Los costos totales de las diversas estrategias no difieren solamente en amplitud sino también por la escala de tiempo durante la cual los recursos son aplicados. Los costos varían también mucho para una misma estrategia de conservación; por ejemplo, el costo de conservación *in situ* depende mayormente de la competitividad de la raza. Los costos dependen también de la actividad habitual de los participantes; así por ejemplo, el mantenimiento de animales *in vivo* puede estar combinado con la formación de los participantes en las técnicas de manejo y cría en un organismo de formación.

La importancia de la dificultad técnica y de las necesidades asociadas en recursos humanos así como la estimación del riesgo de fracaso dependen del país involucrado: la criopreservación por ejemplo, podrá ser considerada como no presentando ninguna dificultad insalvable en un país industrializado en tanto que será todo lo contrario en un país en desarrollo.

El Cuadro 3.2 resume los costos y beneficios comparados de las diferentes soluciones. Es posible retener lo siguiente:

Cuadro 3.2: Ventaja comparativa de diferentes formas de conservación (cuanto más signos "+" y menos signos "-", más fácil y mejor es la solución).

	Contribución a la biodiversidad	Mantenimiento de la adaptabilidad	Sustentabilidad	Costo de constitución	Costo de funcionamiento
Crioconservación	+	++	+	---	--
Ex situ vivos	++	+	+	-	----
In situ	++++	+++	+++	-	-

► **Conservación *in situ*.**

Un proyecto de conservación *in situ* bien construido evolucionará hacia el autofinanciamiento y podrá aprovechar de una amplia y sólida participación de la comunidad. Esto mejorará la sustentabilidad y reducirá los costos tanto en el corto como en el largo plazo. Los inconvenientes técnicos son muy pocos comparados con la criopreservación. El desarrollo de este capítulo ha sido consagrado fundamentalmente a la promoción de esta estrategia.

► **Conservación *ex situ* viviente.**

La cuestión fundamental para esta estrategia es la existencia de un compromiso financiero a largo plazo para el mantenimiento de generaciones de animales al nivel exigido para una conservación exitosa (ver Capítulo 4). El ganado será mantenido fuera de su ambiente de origen y, en consecuencia, su producción puede no ser rentable y su manejo más complicado. Los inconvenientes técnicos son muy pocos comparados con la criopreservación.

► **Crioconservación.**

La cuestión fundamental para la criopreservación es saber si, en el corto plazo, las instalaciones y la competencia necesarios estarán disponibles. La logística para el acceso y mantenimiento de las instalaciones de conservación deberá ser estudiada antes de poner en marcha la

crioconservación. Sin embargo, los costos de mantenimiento a largo plazo son bajos comparados a la conservación *ex situ* de animales vivos.

Las ayudas a la decisión del presente capítulo han desarrollado las conclusiones de los censos y encuestas según las cuales la conservación debe ser incluida en un patrón para una raza. Los proyectos de conservación están integrados en planes de acción nacionales más amplios, y después de un análisis de las posibilidades y las opciones, la forma que tomará el proyecto de conservación derivará de la aplicación de las prioridades expresadas en la Convención para la Diversidad Biológica. Cuando estas imponen un proyecto animal *in vivo* (*in situ* o *ex situ*) las consideraciones para su concepción son tratadas en el capítulo 4, y cuando es elegida la criopreservación como un último recurso o como un refuerzo, las consideraciones para su concepción son dadas en el Capítulo 5. Puede también ocurrir que las consideraciones realizadas en el capítulo 2 y en el presente capítulo conduzcan a la conclusión que ciertas razas tienen una baja prioridad y que no se debe emprender ningún esfuerzo de conservación.

Bibliografía

Henson, E.L. (1992). In-situ conservation of livestock and poultry. pp. 77-78. FAO Animal Production and Health Paper 99.

AGRI 13:25

► 4. La Concepción de Programas de Conservación *In Vivo*

- *Introducción a algunos conceptos genéticos relevantes*
- *Enfrentarse con la historia de la población*
- *La estructura genética de la población*
- *La estructura física de la población*
- *Seguimiento y registro de desempeños*
- *Enfrentarse con la ausencia de registros genealógicos*
- *Una nota sobre el material congelado*
- *Experiencia requerida*

Este capítulo describirá en detalle como construir técnicamente y hacer funcionar un programa de conservación *in vivo*. Se supone que se ha tomado la decisión de conservar la raza en peligro bajo la forma de animales vivos. El protocolo técnico no será diferente para un esquema *in situ* o *ex situ* y es ampliamente independiente de la especie. El objetivo del programa de conservación es mantener lo que queda de variabilidad genética en la raza.. Para mayores detalles sobre los conceptos genéticos referirse a Falconer (1989) y Wiener (1994).

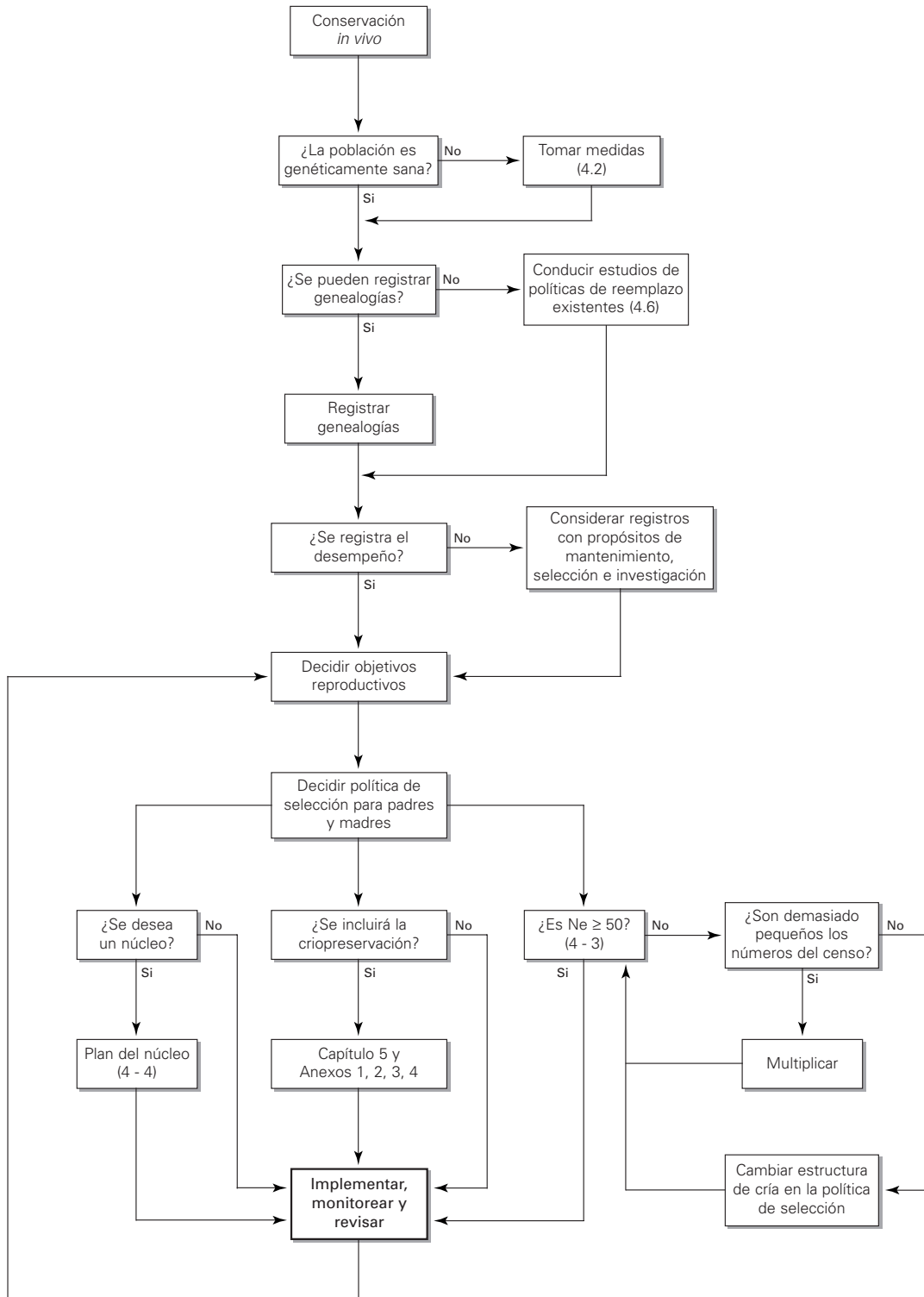
►• 4.1 Una introducción a algunos conceptos genéticos relevantes

¿Cuales son los principios genéticos importantes?

4.1.1 Variabilidad genética y tasa de consanguinidad.

En cualquier población es inevitable que se haya perdido alguna variabilidad genética a lo largo del tiempo.

Figura 4.1: Diseñando un esquema de conservación *in vivo*



Aunque nosotros no podemos medir la variabilidad genética para todos los caracteres, podemos evaluar su velocidad de desaparición y, controlando este parámetro, mantenerla en un nivel bajo. Minimizar la pérdida de variabilidad genética equivale a minimizar la tasa de consanguinidad en una población (ver recuadro). *De esta manera, la tasa de consanguinidad (ΔF) es el parámetro más importante en los programas de mantenimiento de la diversidad genética.*

Definición de la consanguinidad:

La consanguinidad aparece en respuesta al acoplamiento de animales emparentados y su producto es llamado consanguíneo. Tales crías tienen grandes probabilidades de heredar genes idénticos de cada uno de los dos padres. De esta manera, estos animales cruzados aprovecharán menos el vigor híbrido que proviene del hecho de haber heredado genes diferentes. La consanguinidad no puede ser totalmente evitada en las poblaciones pequeñas ya que si uno se remonta suficientemente hacia atrás, se verá que todos los animales están emparentados. El grado de consanguinidad varía y es medido por el coeficiente de consanguinidad, F , que varía entre 0 (no consanguíneo) y 1 (completamente consanguíneo, sin variación genética).

La relación entre pérdida de variabilidad genética (σ_g^2) y tasa de consanguinidad (ΔF):

La tasa de consanguinidad por unidad de tiempo es el cambio en consanguinidad en la unidad de tiempo, expresado como una relación de la consanguinidad que vendrá, es decir, $1-F$. La tasa de consanguinidad tiene formas predecibles y tiene una relación muy importante con la pérdida de variación: si σ_g^2 es la variación genética, entonces la pérdida por unidad de tiempo es:

$$\Delta\sigma_g^2 = \Delta F \sigma_g^2$$

La tasa de consanguinidad es más importante que el nivel real de consanguinidad ya que el nivel real de consanguinidad se refiere a una población de base, que se supone no emparentada y no consanguínea. En la práctica, la población de base es la población al comienzo de los registros de las genealogías, es decir que se trata de una población en la cual padres y madres tienen una ascendencia desconocida.

En consecuencia, las poblaciones que tienen numerosas generaciones registradas en su ascendencia tenderán a tener fuertes coeficientes de consanguinidad, en tanto que las poblaciones para las cuales el registro de la ascendencia ha comenzado recientemente, tenderán a tener coeficientes de consanguinidad muy bajos cualquiera sea la *tasa* de consanguinidad en la población. El coeficiente de consanguinidad (F) no es entonces un parámetro adaptado para describir una población pequeña.

El tamaño genético de una población es más fácilmente descripto por el tamaño efectivo de la población (N_e) el cual es un número generalmente más bajo que el tamaño de la población censada (ver recuadro). *El tamaño efectivo está determinado por la tasa de consanguinidad (y viceversa):* $\Delta F = 1/(2N_e)$.

Entonces, la tasa proporcional de pérdida de variación genética, la tasa de consanguinidad y el tamaño efectivo de la población son parámetros que describen idénticos conceptos.

Algunos aspectos técnicos relacionados con la tasa de consanguinidad ΔF

La tasa de consanguinidad es a menudo predicha por la fórmula: $\Delta F = 1/(8N_s) + 1/(8N_d)$ en la cual N_s es el número de padres y N_d es el número de madres por generación. Esta fórmula es válida *únicamente* cuando la selección es realizada al azar, es decir que no hay selección. Con selección, ΔF es sustancialmente más alto que el previsto por la fórmula de más arriba (Wray y Thompson, 1990). Esta publicación muestra claramente que el parámetro ΔF representa más que meramente el número de padres y madres. De hecho, la fórmula mostrada más arriba debe ser utilizada con precaución. Si se utilizan 5 machos y 25 hembras en una generación y si *la selección es al azar*, $\Delta F = 0.025 + 0.005 = 0.03$.

Se han propuesto parámetros alternativos a la tasa de consanguinidad que podrían tomar mejor en cuenta a los animales fundadores. Por ejemplo, Alderson (1990) ha utilizado el Índice de Conservación Genética (GCI) para calcular un número efectivo de fundadores para un animal: $GCI =$

$1/\sum P_i^2$, donde P_i es la proporción de los genes pasados al animal actual que provienen del fundador i , y \sum representa la sumatoria sobre todos los fundadores. El CGI dependerá de la amplitud de la genealogía disponible, pero si uno se remonta un gran número de generaciones hasta los fundadores, el CGI (y toda la componente P_i) deviene idéntica para todos los descendientes e igual a la mitad del tamaño efectivo de la población tal como ha sido definido en 4.1. De esta manera, como fue demostrado por Wray y Thompson (1990), si uno se remonta muchas generaciones hacia atrás con la totalidad de los registros genealógicos: $\Delta F = 1/(4 \text{ GCI})$. Esta equivalencia de conceptos entre CGI y ΔF nos motiva a considerar ΔF sólo como un único parámetro para describir a las poblaciones de pequeño tamaño.

La variación genética puede también ser generada en una población a través de nuevas combinaciones de genes y por mutaciones. Se trata de un proceso natural que mantiene la variación en las pequeñas poblaciones. La frecuencia con la que esto se produce es baja pero suficiente, a largo plazo, para mantener alguna variabilidad genética en la población. La cantidad de variabilidad genética mantenida en la población a largo plazo, es proporcional al tamaño efectivo de la población. Así, y siempre a largo plazo, el tamaño efectivo de la población o, de forma equivalente, la tasa de consanguinidad, determinan la cantidad de variación genética que es mantenida.

Se recomienda enfáticamente que los ascendientes de los animales sean registrados en un programa de conservación, de manera tal que la tasa de consanguinidad pueda ser calculada. Esto requiere únicamente que se registren al padre y la madre de un animal. Cuando los ascendientes están registrados, los animales de padre y madre desconocidos se supone que constituyen la población de base. A partir de los ascendientes, es posible calcular las relaciones entre todos los animales (Falconer, 1989), lo cual constituye otra herramienta útil. Si no es posible tener el registro de los ascendientes, ver 4.7.

En las Líneas Directrices, el objetivo es tener un tamaño efectivo de población de al menos 50 animales por generación. El tamaño efectivo de 50 corresponde a una tasa de consanguinidad de 1% por generación. Toda población conservada debería tener este tamaño efectivo mínimo de población como primer objetivo (ver 4.3.1)

4.1.2 Intervalos de generaciones.

El *intervalo de generaciones* es la unidad genética de tiempo para las poblaciones. Es una medida del tiempo necesario para reemplazar un conjunto de padres. Como machos y hembras aportan cada uno la mitad de los genes a la población, el intervalo de generaciones es la media de los intervalos de generaciones para los machos reproductores y para las hembras reproductoras. Este intervalo puede variar con el sexo. El intervalo de generaciones para los machos (o para las hembras) es la edad media de los machos (o de las hembras) al nacimiento de sus reemplazos de raza pura. En muchos casos, el intervalo de generaciones para un sexo puede ser estimado según la edad media de los padres de ese sexo al nacimiento de todas las crías, pero esto no puede ser hecho si los cruzamientos forman parte del sistema de producción, ver 2.7.

Definición del intervalo de generaciones:

El intervalo de generaciones para los machos (L_m) es definido como la edad media de los padres machos al momento del nacimiento de las crías que serán su reemplazo. La definición es la misma para las hembras (L_f). El intervalo de generaciones para la población será entonces $\frac{1}{2}(L_m + L_f)$.

Ejemplo:

Si las crías nacen cuando los padres tienen un año y si 60% y 40% de las crías nacen cuando las madres tienen respectivamente uno y dos años, entonces $L_m = 1$, $L_f = 0.6 * 1 + 0.4 * 2 = 1.4$ años. La población tiene un intervalo de generaciones de $L = \frac{1}{2} * (1 + 1.4) = 1.2$ años.

Las Líneas Directrices usan la escala de tiempo genético de la población y entonces consideran tasas de consanguinidad por generación. En general los factores que contrarrestan la consanguinidad, tales como la selección natural, la recombinación entre genes próximos y la mutación, son efectivos por generación. Consecuentemente, la tasa de consanguinidad por generación es más relevante que la tasa de consanguinidad por año para la constitución genética de la población y por ello será considerada aquí. En algunas circunstancias, son deseables largos intervalos de generación ya que en ellos la tasa de pérdida de variación genética es más baja en relación con los procesos de decisión humana los cuales son medidos en términos de años.

La mayor parte de los esquemas de selección practicados implican la *superposición de generaciones* en los cuales son utilizados padres de diferentes edades. A veces los esquemas de selección pueden operar sobre lo que es llamado *generaciones discretas*, en las cuales todos los padres se reproducen a una edad fija para ambos sexos.

4.1.3 El parentesco medio de una población.

Las relaciones complejas entre dos animales pueden ser descritas por un coeficiente, función de sus ascendientes. Puede ser calculado cuando la genealogía de la población es conocida, es decir cuando el padre y la madre de cada animal son conocidos durante una o más generaciones. La utilidad del parentesco como una herramienta se incrementa con el número de generaciones conocidas sobre su ascendencia. Falconer (1989) mostró un método tabular para calcular los coeficientes de parentesco y simultáneamente los coeficientes de consanguinidad. Si fuese necesario, hay algoritmos que usados en computadora suelen ser mucho más rápidos (por ejemplo Meuwissen y Luo, 1992).

El parentesco promedio en un grupo de individuos es igual a un cuarto de la relación promedio entre los machos

(calculada a partir del coeficiente de parentesco para cada par de machos en un grupo) más un cuarto de la relación de parentesco promedio entre las hembras (calculada a partir de cada par de hembras en el grupo) más la mitad de la relación de parentesco promedio entre machos y hembras (calculada a partir de todas las combinaciones macho-hembra).

El coeficiente de consanguinidad de las crías es igual a la mitad del parentesco entre el padre y la madre. Así, si calculamos el parentesco entre todos los machos y hembras posibles, podremos elegir los pares de padres y madres que dan las crías con los menores coeficientes de consanguinidad.. Esto disminuye la consanguinidad inmediata de las crías. Si nosotros buscamos disminuir la consanguinidad a largo plazo, deberemos elegir un grupo de padres y madres que tengan una baja tasa de parentesco promedio entre ellos.

►• 4.2 Ocuparse de la historia de la población

¿Que tipo de problemas pueden estar presentes al comienzo?

4.2.1 Cuellos de botella.

La población en peligro puede haber pasado recientemente por uno o varios cuellos de botella, es decir que el número de sus integrantes ha estado reducido durante algún tiempo. Esto en si no es un problema si la población ha salido del problema sin pérdidas genéticas y sin reducción de su desempeño productivo (se dice que la población es *sana*), pero es probable que algunos genes nocivos hayan migrado hacia altas frecuencias. Si tal es el caso 4.2.2. Un cuello de botella muy reciente puede ser compensado seleccionando por el plan de conservación, animales que estén lo menos emparentados posible (ver 4.4.1).

Fuera de los cuellos de botella, el programa de conservación se esforzará de conservar tanto como fuese posible lo que queda de la variabilidad genética. Si el tamaño de la población es actualmente pequeño, cada animal es importante ya que la pérdida de un animal puede tener un efecto marcado sobre la población total.

4.2.2 Defectos genéticos.

La población puede presentar defectos genéticos en una frecuencia elevada, por ejemplo más del 10% de los animales presentan una enfermedad genética determinada. A menudo los defectos genéticos se manifiestan solamente cuando el gen nocivo está presente en forma homocigota (es decir que el animal afectado lleva dos copias del gen defectuoso, en tanto que el portador heterocigota que tiene sólo una de las copias del gen es sano).

Los siguientes animales deberían entonces ser excluidos (en la medida de lo posible según el número de padres deseado) de la reproducción de alguna generación cualquiera de la población conservada (en orden de prioridad):

- animales mostrando la enfermedad genética (homocigotas);
- hijos de animales que mostraron la enfermedad genética.

El punto importante, es poner en marcha las medidas de control descritas más arriba para controlar la difusión de la enfermedad y asegurar que la utilización de los reproductores sea realizada en forma equilibrada de manera tal que el uso inadvertido de un heterocigota portador tenga sólo un efecto limitado sobre la población. Una vez que la situación está bajo control, la velocidad de desaparición del defecto puede ser tan rápida como la cantidad de animales lo permita, teniendo la precaución de evitar nuevos cuellos de botella y nuevos problemas por la utilización de demasiado pocos padres. Con el tiempo, siguiendo la estrategia descripta, la

frecuencia de genes indeseables disminuirá y la enfermedad será esporádica; sin embargo, ejemplares del gen defectuoso pueden persistir en la población en estado heterocigota.

Cuando el gen defectuoso está en una baja frecuencia, es aconsejable algún test para detectar a los heterocigotas en la medida que facilitará la eliminación completa del defecto evitando a los padres y madres heterocigotas, si el número de animales lo permite. Esto es más fácilmente realizable si se dispone algún test de ADN para el gen en cuestión. En el caso de especies de reproducción rápida y de diagnóstico (aparición) precoz de la enfermedad, en ausencia de algún test de ADN, es posible la realización de un control de la descendencia: los candidatos son acoplados con animales enfermos (si la enfermedad no es mortal) y toda cría enferma indicará que el candidato es portador. Todas las crías de estos tests son eliminadas del programa de conservación si el número de animales de la población lo permite. Cuando se está obligado a utilizar animales portadores como reproductores, un portador no debe nunca ser acoplado con otro portador a menos que esto sea inevitable; esto disminuirá el número de crías enfermas producidas.

Para las poblaciones en que la ascendencia es conocida, existen buenas técnicas de cálculo para medir la probabilidad de que un animal dado sea portador y esta información puede ser utilizada para ayudar en la selección y los acoplamientos; esto puede resultar particularmente útil para retirar a todos los animales portadores cuando algún otro test de detección de heterocigotas no está disponible.

Para esto buscar apoyo ya sea de organismos de investigación o de la FAO.

Existe un interés considerable en identificar las mutaciones simples de genes que causan enfermedades ya que ello provee oportunidades de gran valor científico para producir avances en el conocimiento en fisiología y en ciencia médica y veterinaria. Si la población tiene una enfermedad genética bien definida, es

posible la obtención de un buen financiamiento para proyectos colaborativos con un instituto científico con el fin de identificar al gen defectuoso. Tales financiamientos pueden ayudar a sostener a la población a través de la erradicación de la enfermedad y, según el resultado del proyecto, puede aportar un financiamiento a más largo plazo para la raza.

4.2.3 Poblaciones en extinción genética.

Una población que está en extinción genética es una población que no está suficientemente ajustada (sana) como para reproducirse y el número de animales decrece inevitablemente en cada generación, es decir que la población está condenada a su desaparición. En una extinción genética, la tasa de consanguinidad ha sido sin duda muy alta en el pasado. Esta población puede ser conservada *in vivo* por:

1. cruzamientos de forma limitada con otra raza que esté adaptada al mismo ambiente. Un pequeño número de genes de la raza cruzada puede tener un gran efecto (ver recuadro). Idealmente, la raza introducida debería ser fenotípicamente próxima de la raza a conservar.
2. cambiando el ambiente de los animales, de manera que su ajuste (salud) mejore y que la selección natural pueda mejorar aún más este tipo de ajuste o adaptación. Cuando este ajuste o adaptación ha aumentado, la población puede ser repuesta en su ambiente original y las medidas descritas 4.2.2 pueden ser aplicadas sin dificultad.
3. congelación. Sin embargo, la criopreservación sólo pospondrá la extinción y la única opción viable a la descongelación será ya sea utilizar el semen para su cruzamiento como otra raza, lo cual se asemeja a la opción 1., o poner en marcha la opción 2.

Introducción de genes extranjeros:

Si se introduce una proporción p de genes extranjeros, la reducción proporcional de consanguinidad es $1-(1-p)^2$. De esta forma, con un 10% de genes extranjeros, $p=0.1$, el coeficiente de consanguinidad es 0.81 del que habría sido sin los genes extranjeros, por ejemplo, en lugar de $F=0.30$, F sería 0.24.

►• 4.3 La estructura genética de la población conservada

¿Como debería ser mantenida y mejorada la población conservada?

4.3.1 El tamaño efectivo de la población deseada.

El tamaño efectivo de la población deseada es de aproximadamente 50 animales por generación. Esto conduce a tasas de consanguinidad de 1% por generación. Cuando la selección es realizada por familias, es decir que los hijos reemplazan al padre y las hijas a las madres, la tasa de consanguinidad es tan baja como posible para un número dado de padres y madres. El Cuadro 4.1 muestra algunos números de padres y madres conduciendo a un tamaño efectivo de población de 50 animales por generación. Los números para la selección dentro de la familia sólo son válidos cuando este esquema de selección es seguido de forma muy estricta.. Si no se puede asegurar una estricta selección por familia, se deberían utilizar los números de padres y madres de selección al azar.

Cuadro 4.1: Números de padres y madres necesarias por generación para obtener un tamaño efectivo de población de 50.

Selección al azar		Selección masal ¹⁾		Selección por familia ²⁾	
Padres	Madres	Padres	Madres	Padres	Madres
25	25	35	35	13	13
20	34	30	45	12	14
16	56	25	65	10	50
14	116	20	300	9	1000
Número de machos más pequeño: no es posible					

¹⁾ Estas cifras son representativas pero han sido calculadas asumiendo que $h^2=0.4$ y 6 crías por hembra reproductora a lo largo de su vida

²⁾ Estas cifras son válidas sólo cuando se aplica una selección por familia muy estricta, de lo contrario, es necesario utilizar las cifras de padres y madres utilizadas en la selección al azar.

Se debe notar que las cifras de padres y madres del cuadro 4.1 son por generación. Con un intervalo de generaciones de 4 años y 2 jóvenes machos introducidos cada año en el ciclo reproductivo, el número de padres por generación es de 8. Un alargamiento del intervalo de generaciones conduce a utilizar más machos, si el número de machos jóvenes que entra en el ciclo reproductivo cada año es el mismo. De esta manera, un intervalo de generaciones alargado puede aumentar el tamaño efectivo de una población.

Cuando el tamaño efectivo de la población deseada es logrado, no se debe permitir su reducción ya que el tamaño efectivo de la población durante un largo periodo de tiempo es principalmente determinado por el tamaño efectivo más pequeño en el curso del período.

Predicción de la tasa de consanguinidad

En la selección dentro de la familia, es decir cuando un padre es reemplazado por uno de sus hijos y una madre es reemplazada por una de sus hijas, se llega a la menor tasa de consanguinidad posible para un número dado de padres y de madre, a saber: (Gowe, Robertson y Latter):

$$\Delta F = 3/(32 N_s) + 1/(32 N_d)$$

donde N_s y N_d son las cifras de padres y madres por generación. Esta baja tasa de consanguinidad es también lograda cuando la selección se basa sobre los fenotipos o en un índice de selección tanto como cuando la selección es realizada enteramente dentro de familias. Así, la selección por familia es una forma muy segura de realizar la mejora genética en las poblaciones pequeñas.

La tasa de consanguinidad anterior es aproximadamente la mitad de la consanguinidad que resulta de la elección al azar de padres y madres a través de las familias lo cual se puede predecir con la fórmula de Wright (1931):

$$\Delta F = 1/(8N_d) + 1/(8N_s)$$

Esto es a menudo mal utilizado ya que si los padres y las madres son elegidas según el fenotipo o sobre un índice de selección entre las familias, la tasa de consanguinidad aumenta todavía más y son necesarios los apoyos para ayudar a diseñar los protocolos necesarios para tales circunstancias.

4.3.2 Crioconservación como medio de reducir la consanguinidad.

Así como fue demostrado en 4.3.1, cuanto mayor es el intervalo de generaciones, más baja será la tasa de consanguinidad. Con los animales vivos, el intervalo de generaciones está limitado por la edad máxima de los animales, pero si es posible congelar embriones, el intervalo de generaciones puede ser significativamente alargado. Esta es una de las justificaciones de la crioconservación, en la cual no habrá consanguinidad en tanto los embriones no sean utilizados. Sin embargo, el objetivo acá es concebir un programa de conservación *in vivo*. Si fuese posible congelar el semen, sería factible sólo alargar el intervalo de generación de los padres e inseminar a las hembras con el semen de los machos viejos, muertos después de mucho tiempo. Este es un medio eficaz de aumentar el número de padres utilizados por generación. Las utilidades de la criopreservación para la conservación *in vivo* son resumidas en 4.7.

Una situación interesante se produce si nosotros podemos conservar suficiente semen de un lote de toros como para poder utilizarlo casi indefinidamente para fecundar a las hembras. La tasa de consanguinidad tiende asintóticamente hacia $1/(2N_s)$ (en relación al nivel de consanguinidad actual de los padres, es decir estimando su nivel actual de consanguinidad en cero), con N_s siendo el número de padres congelados. Los genes del semen congelado reemplazarán a todos los otros genes de la población. Este último punto implica que:

1. la selección entre las hembras conduce a una respuesta a la selección muy baja;
2. la adaptación genética es limitada;

Estos dos puntos hacen de un intervalo de generación infinito del lado macho una opción de conservación *in vivo* poco interesante, pero un alargamiento del intervalo de generaciones de los machos por el sesgo de la congelación de semen puede de gran validez en las poblaciones pequeñas.

1

4.3.3 Selección de padres y madres.

La regla a seguir durante las primeras fases de un programa de conservación es que la selección debe ser hecha dentro de familias, es decir que un padre es reemplazado por uno de sus hijos y una madre por una de sus hijas. Esto minimiza la tasa de consanguinidad. Si la selección no es por familia ni al azar, la tasa de consanguinidad puede ser substancialmente más elevada que lo esperado.

La regla según la cual un padre es reemplazado por uno de sus hijos y una madre por una de sus hijas, deja algo de lugar para la selección. Aunque la constitución genética de una población sea mejor conservada cuando la selección es al azar, un programa verdaderamente exitoso de conservación deberá conducir eventualmente hacia una raza aceptable desde el punto de vista comercial y por ello, la Convención sobre la Diversidad Biológica reconoce la necesidad de una mejora de la constitución genética de la población.

Demostración de la selección dentro de familias:

Considerando el simple esquema que sigue en el cual, 2 padres (A y M) son acoplados con 4 madres (B, C, N y O):

$A \times B \Rightarrow D, F, G, H$

$A \times C \Rightarrow I, J, K, L$

$M \times N \Rightarrow P, Q, R, S$

$M \times O \Rightarrow T, U, V, W$

Para la selección dentro de las familias, una de las crías del macho A, es decir D, F, I, o J es seleccionada para servir de padre en la generación siguiente, y uno de los padres P, Q, T, o U es seleccionado para servir de reproductor en lugar del padre M. De la misma forma, G o H es elegida como madre, como también lo son K o L, R o S y V o W. Esta selección da de nuevo 2 machos y 4 hembras. Los acoplamientos entre los dos machos y las cuatro hembras seleccionadas deberán ser tales que las combinaciones padre*madre tengan el menor parentesco posible.

2

Así sería posible seleccionar a partir de los registros fenotípicos en una familia. Si nosotros buscamos mejorar varios caracteres simultáneamente, es posible tanto estimar los parámetros genéticos y establecer un índice para esos caracteres (ver Falconer, 1989), o tratar de combinar los caracteres en un super carácter. Por ejemplo, si nosotros queremos mejorar la velocidad de crecimiento y disminuir el tenor graso en el cerdo, podemos seleccionar por una tasa de crecimiento magra como un super carácter. En el caso de varios caracteres de importancia económica, una aproximación simple consiste en calcular el beneficio para cada animal y tratar este valor como un super carácter.

A menudo las razas en peligro tienen caracteres particulares que se desea conservar prioritariamente. Aún con tamaños de población razonablemente grandes como los recomendados aquí, estas características podrían sufrir una deriva genética en una dirección no deseada. Si esto se produce, se puede siempre seleccionar en contra, y también es posible utilizar el método BLUP-EBV (Best Linear Unbiased Prediction -

Estimated Breeding Values; ver Mrode, 1996) para seleccionar padres y madres que tienen un EBV próximo de la media igual a la media de la población. Esto minimizaría la deriva para este carácter.

La selección contra los defectos genéticos se describe en 4.2.3.

Cuando se acoplan padres y madres seleccionados, el acoplamiento de padres y madres que son hermanos enteros debería ser evitado y, en la medida de lo posible, también debería evitarse con medio hermanos. Aunque evitar los acoplamientos entre animales emparentados tendrá poco efecto en la tasa de consanguinidad a largo plazo, esto reduciría el nivel real de consanguinidad de las crías (las crías nacidas de hermanos enteros o medio hermanos tienen respectivamente $F \geq 0.25$ y ≥ 0.125). Esto es importante ya que evita la depresión producto de la consanguinidad en esas familias lo que se traduciría en reducción de la fertilidad y de la adaptación general de los animales.

Cuando las hembras producen más de una camada, es conveniente la utilización de un acoplamiento de tipo factorial (Woolliams, 1989). La producción de una gran familia de hermanos enteros conlleva a una penalización a causa de consanguinidad si se produce cualquier tipo de selección, natural o artificial. El acoplamiento factorial asegura que diferentes camadas de una misma hembra sean producidas con diferentes machos. Así por ejemplo, si un macho es portador de un gen nocivo y una hembra es siempre acoplada con este macho, toda la descendencia de esta hembra estará en peligro (y por consecuencia su futura contribución en la población); si el acoplamiento es factorial, varias camadas de esta hembra escaparán al peligro antes mencionado.

A medida que la raza se hace más rentable, el número de animales va a crecer y habrá más candidatos para participar en la selección como reproductores. En este momento la selección entre familias puede llevarse a cabo. Es conveniente seleccionar más padres y madres cada generación ya que de lo contrario la tasa de consanguinidad puede sobrepasar los niveles recomendados. La forma más simple de selección entre familias es la selección masal y el Cuadro 4.1 indica los números de machos y hembras que son recomendados en ese caso.

Es posible mejorar la selección masal para obtener velocidades de progreso superiores utilizando índices que incorporen información sobre los padres o una evaluación utilizando el BLUP aún cuando la consanguinidad sea reducida. En estas circunstancias, el número de padres machos y hembras necesarios para mantener la tasa de consanguinidad fijada debe ser revalidado; *si el esquema de mejora es capaz de utilizar estos índices más avanzados, también debe ser capaz de usar las herramientas de apoyo para las decisiones sobre una computadora para controlar la consanguinidad.* (por ejemplo Meuwissen, 1997; Grundy et al., 1998), de esta manera se deberá buscar apoyo técnico. Con estos métodos de selección sofisticados, la organización deberá estar a su altura (registro de los ascendientes, recolección y agrupamiento de los controles de desempeño, entrada de los datos en la computadora) y el costo del programa de conservación va a aumentar, pero esto puede ser justificado si se consideran los futuros ingresos que pueden provenir de este nuevo nicho del mercado.

4.3.4 Utilización comercial.

Un programa de conservación tiene mayores chances de mantener su financiamiento si existe alguna utilización comercial de los animales. Los animales que no son conservados como reproductores pueden ser vendidos y de esa manera ayudar en el financiamiento del proyecto. La

selección dirigida hacia algún nicho particular del mercado puede aumentar el valor de los animales. Ejemplos de esto son la producción y comercialización de quesos particulares, o una mejor adaptación a los ambientes locales. El desarrollo de cruzamientos especiales que produzcan bien en un ambiente muy limitado, puede requerir que la raza pura sea mantenida y de esa manera aumentar el valor de dicha raza. (ver 3.3).

Los posibles nichos de mercado variarán en cada caso y pueden requerir mucha inversión y decisión. Cuando un nicho ha sido identificado, se debe establecer un programa de selección para responder al mismo:

1. El objetivo de la selección debe ser construido. Esto es realizado determinando el incremento del beneficio cuando un carácter es aumentado en una unidad. Esto provee el valor relativo de cada uno de los caracteres los cuales pueden ser sumados para formar el objetivo de la selección. (ver Weller, 1994 para una revisión general de la economía de la genética animal).
2. Se deberá establecer un índice de selección a partir de caracteres medibles y correlacionados lo más posible con el objetivo de la selección (Falconer, 1989).
3. La selección debe ser conducida como ha sido descrito en 4.3.3. Esta selección es razonablemente eficaz. Si fuese posible, los largos intervalos generacionales deberían ser acortados para incrementar la ganancia genética (Falconer, 1989).

Si la raza en peligro es particularmente deficiente para ciertos caracteres, la introducción limitada de algunos genes a partir de una raza foránea, es decir el cruzamiento de algunos animales de la raza en peligro con la raza foránea, puede incrementar el margen de selección sobre ese carácter. Esto

puede conducir al desarrollo de una nueva raza. La fracción de genes provenientes de la raza foránea debería ser minimizada para conservar lo mejor posible a los genes que están en peligro.

4.3.5 La introducción de nuevos animales no emparentados.

A veces se produce un hecho fortuito y se descubren algunos rebaños aislados de la misma raza pero aparentemente no emparentados con los animales del programa de conservación. Esto tendrá en general un efecto muy positivo sobre la tasa de consanguinidad pero hay algunas trampas en su uso:

1. primeramente, que significa no emparentados? Después de cuantas generaciones se puede estar seguro que han estado separados del resto de la población?. Si los ascendientes conocidos son limitados, es necesario tomar todas las precauciones y aún si este «nuevo capital genético» es precioso, puede ser aconsejable solicitar algún tipo de consejo;
2. si los acoplamientos son repartidos sólo sobre la base de una ascendencia común mínima o del parentesco mínimo, los «nuevos» animales pueden llegar a tener una proporción muy importante de acoplamientos ya que ellos no están emparentados con los antiguos animales del programa. Esto podría conducir a crear nuevos cuellos de botella, sobre todo si el «nuevo» ganado está en pequeño número: las generaciones futuras estarán todas emparentadas a través de un pequeño número de animales recientemente incorporados!
3. los «nuevos» animales no están emparentados con los «antiguos» pero pueden estar muy emparentados entre ellos lo cual limitará su utilidad. Los «nuevos» animales

también deben estar lo menos emparentados posible entre ellos.

Teniendo en cuenta estas limitaciones, si la «antigua» población tiene una fuerte tasa de consanguinidad, entonces la «nueva» población puede simplemente ser juntada con la «antigua» lo cual permitirá aumentar el número total de padres.

Si la «antigua» población era de gran tamaño, es decir $N_e \geq 50$, la «nueva» población puede de todas formas ser útil para disminuir la consanguinidad. Una utilización apropiada de los nuevos animales no emparentados se hace minimizando el parentesco medio de los reproductores machos y hembras retenidos entre los animales «nuevos» y «antiguos», sin reducir el número de padres utilizados por generación. Se supone aquí que los «nuevos» animales no están más emparentados entre ellos que los «antiguos». En ese caso ambos grupos de animales deberían contribuir con un 50% de los genes de la nueva población que resultará de la adición de los animales «nuevos» y «antiguos». Por ejemplo, la contribución de un 50% de los «nuevos» animales puede ser obtenida aceptando que todos los machos sean animales «nuevos» y todas las hembras sean de las «antiguas»; el número de machos retenidos en la «nueva» población deberá ser igual al que hubiese sido retenido para su uso en la «antigua» población. En este ejemplo, si no hay suficiente cantidad de machos de la «nueva» población para reemplazar a todos los de la «antigua» población, se deberá seleccionar a algunos de estos últimos para su uso.

►• 4.4 La estructura física de la población conservada

¿Que rol juegan las poblaciones núcleo en los, programas de selección?

Ha menudo es deseable identificar a un subconjunto de la población en el cual concentrar los recursos limitados. Esto salvará al núcleo, población conservada a partir de la cual se podrá hacer la reexpansión. Esta será llamada población núcleo. Es posible entonces concentrar la organización del programa en el núcleo, al menos al comienzo del mismo. Cuando el programa de conservación está sólidamente establecido, el mismo se constituye en una buena base de selección debido a su organización. No es necesario definir a un núcleo, pero es recomendable. Los puntos a tener en cuenta son: tamaño, establecimiento, ubicación y manejo.

4.4.1 Selección de machos y hembras que integrarán un núcleo.

El número de animales requerido será determinado por las finanzas y otros recursos disponibles. Se recomienda que, en la medida de lo posible, el núcleo tenga un tamaño efectivo de población de 50 animales o más (ver 4.3.1). Si los recursos son limitados, el núcleo debería ser tan grande como sea posible. Las cifras reales de machos y hembras reproductores para la puesta en marcha del programa ya han sido descritas en la sección 4.3.1, y esto es igual al número de padres requeridos para las generaciones siguientes. En las especies de reproducción lenta, esto puede requerir varias generaciones o años, antes que ese tamaño de población sea alcanzado. Esto no es un problema si se siguen los principios para minimizar la pérdida de variabilidad que fueron descritos precedentemente.

Si hay suficiente cantidad de animales para permitir una selección de la población del núcleo, se deberá minimizar el

parentesco medio entre los machos y hembras elegidos para producir la primera generación. Los animales no emparentados serán más representativos de la población total. Esta forma de selección sólo es posible cuando: (i) hay más candidatos a la selección que los machos y hembras necesarios; (ii) las relaciones entre los animales son conocidas, es decir, cuando la genealogía de los animales es conocida. Si la ascendencia de los animales no es conocida, machos y hembras deberán ser elegidos al azar o, eventualmente se pueden utilizar marcadores de ADN para determinar las relaciones genéticas de los animales.

4.4.2 Localización del núcleo.

La población conservada puede ser albergada en un rebaño núcleo central o en varios rebaños separados. Es recomendable elegir la segunda opción ya que un rebaño central podría ser aniquilado por enfermedades, incendios u otras catástrofes naturales. Igualmente, los contactos de los productores con los animales se acrecientan cuando los animales son criados en varios rebaños separados. Sin embargo, estos deberán tener un tipo de manejo similar.

Con un núcleo central, existe el riesgo de los esquemas *in situ* a partir de las interacciones genotipo-ambientales (que hacen que los genotipos tengan desempeños diferentes en ambientes diferentes) ya que la población podría adaptarse con el tiempo al ambiente local del núcleo. Con un esquema disperso de núcleos, uno de los riesgos del esquema *in situ* es que la dispersión se extienda más allá del área de origen. Otra consideración respecto de la dispersión, es el problema de tipo práctico de localizar a los productores dispuestos a mantener a esta raza.

Por regla general, las interacciones genotipo-ambiente favorecen la cría de los animales en un ambiente que se parece lo más posible a su ambiente de origen. Los programas de conservación *ex situ* de animales vivos no serán

exitosos cuando las interacciones genotipo- ambientales son demasiado fuertes y, de la misma manera, los programas de criopreservación *ex situ* también pueden fracasar si las interacciones son fuertes y hay aspectos importantes del ambiente que cambian ya que los animales que han sido congelados no podrán adaptarse.

Así, aunque el núcleo disperso sea el recomendable, la extensión de la dispersión dependerá de la situación y será necesario en su definición, utilizar un poco de sentido común.

4.4.3 Sistemas de acoplamiento en un núcleo disperso.

Cuando los animales están siendo criados en rebaños diferentes debe evitarse la aparición de pequeñas poblaciones diferenciadas dentro del rebaño y sin conexiones entre rebaños. Esto es eficazmente evitado utilizando un esquema de acoplamientos rotativo. Por ejemplo, en un esquema de tres rebaños, los machos elegidos en el rebaño A son acoplados a las hembras del rebaño B, los machos del rebaño B son acoplados con las hembras del rebaño C y los machos del rebaño C son acoplados con las hembras del rebaño A.

La congelación puede jugar un rol importante ya que ello permite recurrir a la IA. Esto facilita mucho tal sistema de acoplamientos en todos los casos donde los rebaños no están a distancia de marcha a pie.

4.4.4 Registros.

Una de las dificultades de los programas de conservación con un núcleo disperso es que el registro de las ascendencias y de los caracteres puede llegar a ser de muy mala calidad en algunos o en todos los rebaños. En un programa de núcleo central, las posibilidades del registro de una información precisa son mucho mayores. Los registros exactos constituyen la base del éxito de todo esquema de mejora y entonces será

necesario encontrar un compromiso entre muchos rebaños dispersos que repartan el riesgo de desaparición o pocos núcleos con mayor riesgo pero registros correctos.

►• 4.5 Seguimiento, registros e investigación

¿Que registros deben ser tomados?

4.5.1 Registros y bases de datos.

Se recomienda enfáticamente registrar al menos padre y madre de cada animal de manera que las genealogías pueden ser construidas. Esto supone la identificación de los animales, por ejemplo con anillas en las orejas para las grandes especies. Los caracteres que vale la pena sean registrados comprenden a aquellos que caracterizan a la raza, los que tienen un interés económico, aquellos sobre los que se prevé realizar selección, las enfermedades (genéticas) y otros.

Los registros deben ser incorporados en una base de datos de la cual una copia de salvaguardia será conservada en otro lugar. Se dará preferencia a una base de datos relacional que relaciona a los animales con padres y madres así como con los demás registros. La base de datos también debería orientarse hacia información acumulada en otras bases de datos. Esto servirá de base para responder a los cuestionarios (ver 2.7).

4.5.2 Seguimiento.

El registro de la genealogía permite supervisar el número de animales, el incremento del coeficiente de consanguinidad media de los animales, y también verificar que el objetivo en lo concerniente a la tasa de consanguinidad está siendo alcanzado. Las decisiones de selección más recientes son

mejor seguidas calculando el incremento del parentesco medio entre los animales nacidos en el curso de cada campaña. Para un esquema en equilibrio, el parentesco medio aumenta dos veces la tasa de consanguinidad, es decir a 2% por generación cuando la tasa de consanguinidad es de 1% por generación. El parentesco medio refleja lo que será la consanguinidad en el futuro.

El nivel genético de los caracteres de interés puede ser seguido por evaluaciones más o menos sofisticadas. Es probable que las variaciones climáticas y otras fuentes de error ambiental escondan la tendencia genética en todo aquello que no sea un estudio a largo plazo. Sin embargo, el seguimiento de rutina es importante para estar al día. También puede ser posible detectar la introducción de animales cruzas. Los análisis más sofisticados utilizarán las evaluaciones BLUP (Mrode, 1996). Esto producirá estimaciones de los valores genéticos para todos los individuos de la población (EBVs) que serán corregidos por posibles cambios ambientales tales como un mal año.

Buscar ayuda para el seguimiento si la pericia requerida (estadística y genética) no está disponible.

4.5.3 Incorporar algo de investigación.

Al menos durante los primeros años del establecimiento de un programa de conservación, puede ser útil asociarle algunas actividades de investigación para profundizar un poco los conocimientos sobre la raza, es decir para mejorar la caracterización de su fenotipo y su genotipo. Tales datos pueden sugerir muy bien caminos simples para la conservación, por ejemplo si se ponen en evidencia cualidades no previstas hasta el momento.

Una propuesta bien diseñada para la caracterización puede proveer un medio para la obtención de fondos, tanto

nacionales como internacionales, para apoyar las primeras fases del programa de conservación.

►• 4.6 Desenvolverse sin registros genealógicos

¿Que se debe hacer si no se disponen los registros de los ascendientes?

Muchas partes de los planes de conservación descritos más arriba suponen un sistema de identificación de los animales, tales como anillas para las orejas. Aunque este sistema sea fuertemente recomendado, existen situaciones o especies en que ello no es posible.

Los principios generales para el manejo del esquema se aplicarán pero, será más difícil estimar la tasa de consanguinidad de la población. En tales situaciones se debería tratar de estimar el número de machos y de hembras que son utilizadas por generación. Esta estimación puede formar parte de un censo o de una encuesta como ha sido descrito en 2.7, pero puede también formar parte de un estudio especial. El censo o la encuesta deberían hacer preguntas del estilo de:

1. ¿cuando machos reproductores utiliza el productor en cada estación?;
2. donde encuentra el productor a sus reproductores (puede haber un pequeño núcleo de selección en alguna parte en la población y muchos padres podrían estar emparentados);
3. ¿cuantas hembras reproductoras utiliza un productor por cada padre (el número de hembras por macho multiplicado por el número de machos da el número total de hembras);
4. el tamaño de la camada de la raza;
5. la selección de las hembras de reemplazo.

Utilizando esta información debería ser posible establecer lazos entre grupos de productores y determinar si existe una estructura jerárquica dentro de la raza. Un ejemplo de esto, ocurrido entre las razas ovinas británicas, ha sido descrito por Wiener (1953).

Una vez que esta información ha sido colectada, ella permite, junto con las encuestas sobre las edades de entrada en reproducción, una estimación de la tasa de consanguinidad por generación (es posible encontrar una ayuda de los organismos de investigación o de la FAO). Si la tasa de consanguinidad estimada es superior al 1%, el plan de conservación deberá tratar de obtener que los productores utilicen más machos. Para obtenerlo se puede recurrir a la docencia, a estímulos financieros, a la instalación de otras fuentes de machos, etc.

Hasta que la información esté disponible, el sistema de apareamientos debería asegurar, dentro de lo posible, la participación de un mínimo de 6 pueblos en el esquema de conservación y que se adopte un sistema de rotación de los machos entre los pueblos.

Cuando sea requerido elegir un grupo de machos con una máxima variabilidad, como se mencionó para el caso del establecimiento de núcleos (4.4.1), es posible utilizar el procedimiento descrito en la sección 5.3 para superar el problema de la falta de antecedentes (pedigrí).

►• 4.7 Una nota sobre la utilización de material congelado

¿Como el semen y los embriones congelados pueden ayudar en un programa de conservación de animales vivos?

El primer punto a señalar es que no es obligatoria la utilización de la congelación para conducir un programa de conservación de animales vivos. Sin embargo, su utilización puede ayudar a asegurar el programa y a facilitar su funcionamiento en la operativa diaria. El Capítulo 5 describe como obtener las muestras.

4.7.1 Eliminar los defectos genéticos.

Los defectos genéticos pueden difundirse muy rápidamente en una pequeña población, especialmente si la tasa de consanguinidad no ha sido controlada correctamente. Muchos defectos son transmitidos en forma recesiva y, antes que hayan sido detectados, habrá muchos animales portadores. La sección 4.2.2 ha mostrado como los defectos genéticos pueden ser removidos de una población. Una herramienta suplementaria utilizable, es el recurso de los embriones o semen congelados de las generaciones precedentes de la raza, los cuales serán de mayor interés que los reproductores portadores de la generación en curso. Es necesario hacer dos precisiones: los (las) donantes de material congelado serán seguramente antecesores; y los (las) donantes también pueden haber sido portadoras, ya que las muestras pueden haberse obtenido cuando el defectuoso estaba en baja proporción. Debido a estos dos problemas es de utilidad gen disponer de la genealogía. El primer problema forma parte del manejo normal, evitando los acoplamientos entre padres emparentados (padres, abuelos en este caso) y evitando, en la medida de lo posible, una excesiva contribución de algunos ancestros particulares. Para resolver el problema de que los donantes hayan sido portadores, los ascendientes deberían ser analizados para estimar la probabilidad de cada donante (Se encuentran disponibles técnicas asistidas por computadora para el análisis de genealogías complejas; solicitar ayuda a institutos de investigación así como a la FAO).

El semen y embriones congelados pueden ayudar a la población a sobrellevar un cuello de botella, siempre y cuando el material conservado provenga de muestras adecuadas de la raza y que sean previos al origen del cuello de botella. Cuando la población se encuentra en extinción genética, algunas muestras antiguas de semen o algunos embriones pueden ayudar a salvarla, exactamente de la misma manera que el recurso del uso de animales de una raza diferente tal como fuese sugerido en 4.2.4, siempre y cuando el material conservado sea previo al origen de la extinción y provengan de animales genéticamente sanos.

4.7.2 Núcleos dispersos.

En el caso de núcleos dispersos es necesario hacer pasar el material genético de unidad en unidad, en la medida en que cada unidad sólo tendrá algunos animales. Cuando las unidades están separadas por corta distancia, los animales pueden ser desplazados a pie. Sobre mayores distancias puede ser posible la utilización de semen fresco e IA. Sin embargo se obtiene un mayor grado de elasticidad en tiempo y en organización utilizando semen congelado. Esto necesita del acceso a recursos más sofisticados y a un complemento de formación técnica, pero la colecta del semen será en el momento más adecuado y el transporte cuando sea necesario.

►• 4.8 Pericia requerida

La concepción, la puesta en marcha, el funcionamiento y la adaptación de un programa de conservación particular a circunstancias cambiantes requiere la competencia de alguien formado en genética cuantitativa a un nivel post universitario. Tal persona poseerá la mayor parte de las competencias estadísticas requeridas para el programa. Según la especie, pueden ser requeridas otras habilidades y competencias en tecnología de la reproducción que puedan ser utilizadas en el esquema de conservación. Cuando se trata de pequeñas poblaciones, el valor de cada animal es muy alto. También la pericia para un muy buen manejo y en cuidados sanitarios de la población son necesarias y un veterinario podría muy bien combinar esta experiencia con la requerida en tecnologías de la reproducción.

Los principios generales del manejo de los animales de todos los días así como los procedimientos de registros de la información deberán ser reunidos en un manual. La atención de los detalles, reflejo de un buen entrenamiento, es un factor importante para el éxito del proyecto.

Detalles complementarios sobre el entrenamiento y pericia necesarios serán dadas en el Capítulo 6.

Bibliografía

Alderson, L. (1990). Genetic conservation of domestic livestock. CAB International, Wallingford, U.K.

Falconer, D.S. (1989). Introduction to quantitative genetics. 3rd edition. Longman Scientific and Technical, Harlow, Essex, U.K.

Gowe, R.S., Robertson, A., and Latter, B.D.H. (1959). Environment and poultry breeding problems. 5. The design of poultry control strains. Poultry Science 38: 462-471.

Grundy, B., Kinghorn, B.L., Villanueva, B. And Woolliams, J.A. (1998). A breeding programme for in situ genetic conservation of livestock. In: The potential role of rare livestock breeds in U.K. farming systems. BSAS, Penicuik, Midlothian, U.K.

Meuwissen, T.H.E. (1997). Maximising the response of selection with a predefined rate of inbreeding. Journal of Animal Science 75: 934-940.

Meuwissen, T.H.E. and Luo, Z. (1992). Computing inbreeding coefficients in large populations. Genetics, Selection, Evolution 24: 305-313.

Mrode, R.A. (1996). Linear models for prediction of animal breeding values. CAB International, Wallingford, U.K.

Wiener, G. (1994). Animal Breeding. In Tropical Agriculturalist Series, Macmillan Press Ltd. London. ISBN 0333 57298X

Wiener, G. (1953). Breed structure in the pedigree Ayshire population in Great Britain. Journal of Agriculture Science (Cambridge) 43: 123-130

► 5. Crioconservación

- *Las bases*
- *Objetivos realizables*
- *Elección de donantes*
- *Recapitulación de las normas y procedimientos para la colecta*
- *Conservación de las muestras*
- *Calificaciones sanitarias*
- *Número de muestras*
- *Acceso y utilización*

La conservación ex situ puede ser realizada por congelación (de embriones, de ovocitos, de semen, de células o de ADN) solamente o como un complemento del mantenimiento de animales *in vivo*. El ADN es el modo más simple y menos costoso de todos para conservar estos materiales y puede ser utilizado como fuente de genes individuales para la mejora genética. Sin embargo, el ADN aislado no puede ser utilizado para obtener animales vivos con más que algunos genes particulares de la muestra de ese ADN (y también porque no hay evidencias de que esta técnica puede llegar alguna vez a ser factible). El ADN es particularmente interesante como fuente poco costosa para la investigación y la formación de recursos humanos. Considerando que la investigación es esencial para identificar razas y genes potencialmente útiles, como un prelude para su explotación, el ADN debería ser conservado con ese fin.

En un futuro próximo, al menos, la criopreservación se limitará fundamentalmente a la conservación de semen y embriones. Las condiciones ideales para la colecta de esperma y embriones son encontradas cuando donantes sanos y testados como libres de patógenos son mantenidos en un ambiente libre de enfermedades con gente técnicamente competente y con el equipamiento apropiado. Está contemplado en la naturaleza de los programas de conservación que para

algunas razas amenazadas de desaparición se hagan las colectas en condiciones inferiores a las ideales para salvar a la raza. Este podría ser el caso particular de los países en desarrollo. En la situación de compromiso que va entre salvar un stock de genes a tener un material libre de patógenos, la prioridad se debe dar a la conservación del stock de genes. De tal manera que es indispensable una aproximación gradual a las exigencias sanitarias.

Resultados recientes (Wilmot *et al.*, 1997) han sugerido que en el futuro sería posible producir animales vivos a partir de una célula somática conservada. Esta posibilidad es importante ya que el protocolo para la colecta de células somáticas es mucho menos exigente que el necesario para la colecta de semen o embriones, aún cuando queda por verificar que tales muestras puedan llegar a dar lugar a animales vivos. En consecuencia, la utilización de células somáticas para la conservación en la actualidad (es decir en 1997) se estaría anticipando a los progresos científicos necesarios para realizar totalmente todos los objetivos de la conservación. Sin embargo esta alternativa muestra enormes potencialidades y los progresos científicos en la misma serán seguidos muy de cerca por la FAO. También, aunque las Líneas Directrices reconozcan y discutan la posibilidad de recurrir a las células somáticas, las Líneas Directrices solo recomiendan su utilización si existe la aprobación del proyecto por la FAO.

De acuerdo con ello, en este Capítulo se describen: una recapitulación de la criopreservación; los objetivos posibles en criopreservación; la obtención de animales para la colecta del material a conservar; los lineamientos sobre las instalaciones y técnicas necesarias; los lineamientos sobre el mantenimiento y cuidados del ganado durante la colecta; el cuidado y clasificación sanitaria de las muestras; los números de muestras necesarias para cumplir con los objetivos; el manejo de un banco de germoplasma, incluido el acceso al mismo y su reconstitución. Los requerimientos técnicos de las instalaciones, las técnicas, el mantenimiento y cuidados deben ser tratados cuidadosamente y en detalle y son abordados en anexos aún cuando constituyan una componente *esencial* de este capítulo. La Fig. 5.1 muestra el esquema panorámico de las decisiones para la obtención y la conservación de las

muestras en tanto que la Fig. 5.2 muestra el esquema de decisiones para el acceso y utilización de un banco de germoplasma.

►• 5.1 Las Bases de la Criopreservación

¿Que es la criopreservación?

La conservación a largo plazo de células vivas es posible a muy bajas temperaturas tales como el punto de ebullición del nitrógeno líquido que es a -196°C . Tales temperaturas impiden toda reacción enzimática y química y una muestra puede allí ser conservada indefinidamente! El semen congelado ha sido utilizado exitosamente después de 30 años en un programa de preservación de razas en peligro (Aeon y Sergeant, 1995). Tests realizados en ratones han demostrado que no hay evidencias de modificaciones en el ADN por la congelación (Glenister *et al.*, 1990).

Así, la primer exigencia para la criopreservación es la disponibilidad de instalaciones que permitan el almacenamiento de las muestras en nitrógeno líquido (NL2), y la capacidad de reaprovisionar regularmente los termos de NL2. El nitrógeno líquido es producido industrialmente en numerosos países aunque a veces con precios prohibitivos.

Con el estado de la tecnología actual, hay sólo dos materiales biológicos que son capaces de recrear en forma confiable a seres vivos: el semen y los embriones. Los embriones son utilizados sólo en especies de mamíferos y pueden ser obtenidos ya sea por colecta *in vivo* o a partir de un ovocito madurado y fecundado *in vitro*. La utilización de semen y de embriones después de la descongelación requiere siempre que una hembra de la misma especie, aunque no necesariamente de la misma raza, sea inseminada o transferida con un embrión. Las técnicas no están igualmente avanzadas en todas las especies y el Cuadro 5.1 resume las diferencias.

Figura 5.1: Diseñando un esquema de crioconservación

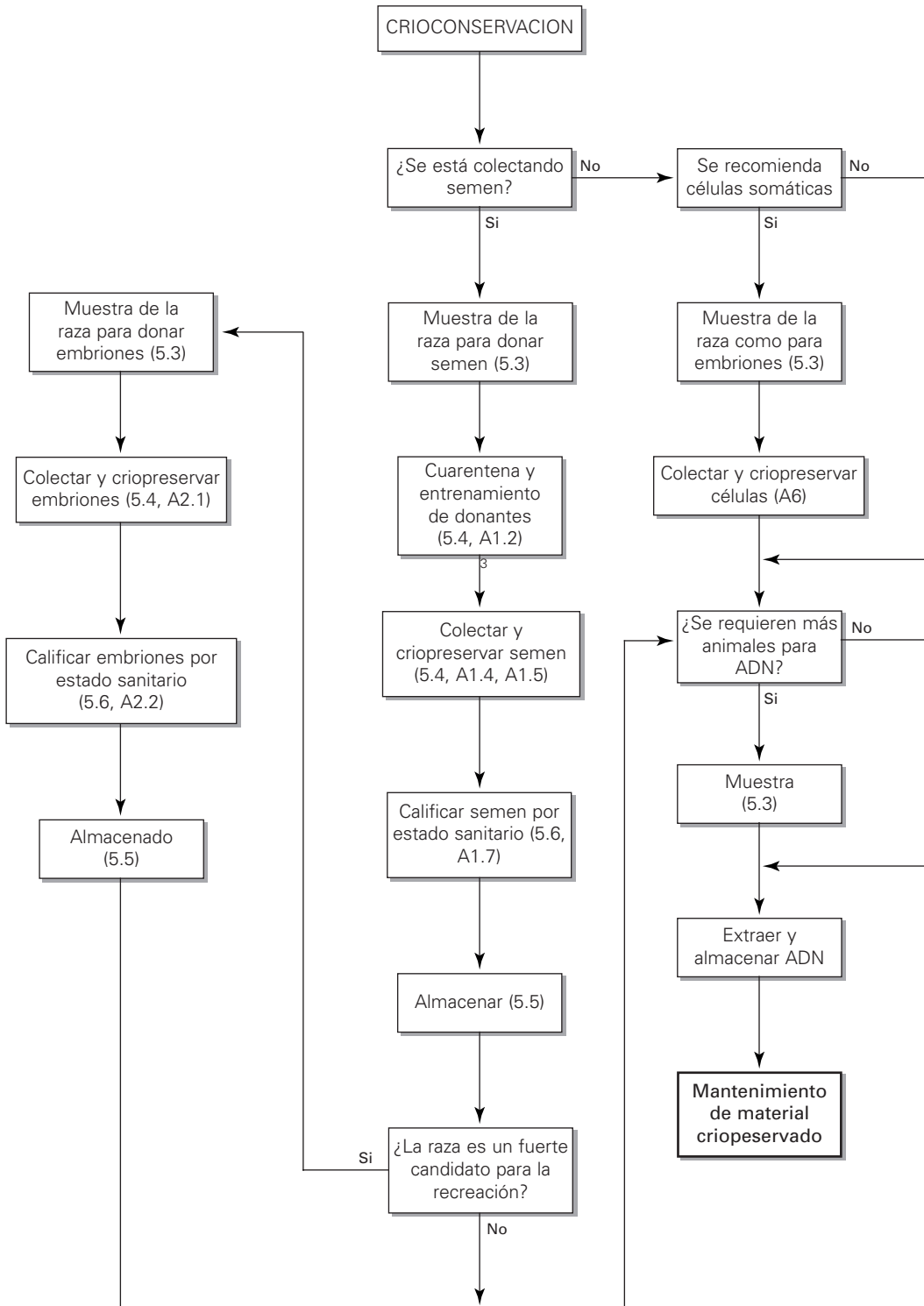
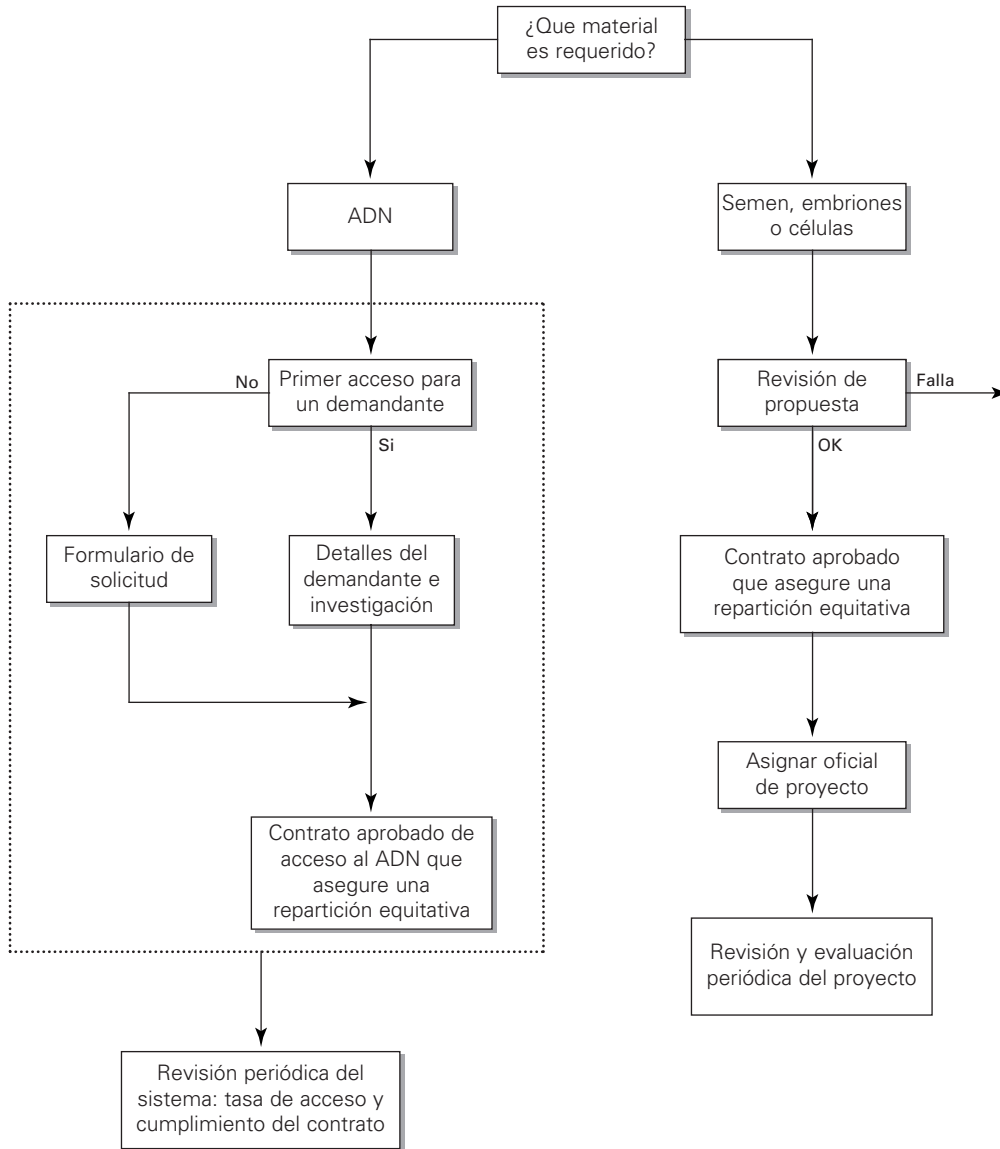


Figura 5.2: Sistema sugerido para el acceso al banco de germoplasma



Cuadro 5.1 Estado actual de la congelación de gametas y embriones. (+, técnica disponible de rutina; 0, resultados experimentales positivos; -, no es factible en el estado actual de conocimientos; ?, desconocido; *, algunas hipótesis de investigación).

Especies	Semen	Ovocitos	Embriones
Bovino	+	0	+
Búfalo	+	?	0/+
Ovino	+	0	+
Caprino	+	0	+
Porcino	+	-	0
Equino	+	?	0
Camélidos	0	?	?
Conejo	+	0	+
Aves	0	*	-

5.1.1 Semen.

El semen puede ser obtenido por colecta de los machos según metodologías bien concebidas y ampliamente utilizadas en la industria de la inseminación artificial (IA): por medio de una vagina artificial (VA), que es la técnica preferida, o por electroeyaculación (reservada para casos excepcionales por la menor calidad del semen obtenido y por razones de bienestar del animal).

Cada buen eyaculado contiene más espermatozoides que los necesarios para fecundar lo cual posibilita realizar su dilución con soluciones fisiológicas (ver Anexo 5 para su composición) y su repartición en varias dosis antes de la congelación.

Se observa una gran variabilidad de la calidad del semen dentro de una especie y aún dentro de un mismo individuo. La calidad del semen es definida principalmente por los siguientes parámetros: volumen del eyaculado, densidad,

motilidad, proporción de formas anormales y congelabilidad (en general expresada en motilidad después de la descongelación). La calidad y la cantidad del semen dependen considerablemente del comportamiento sexual del animal en el momento de la colecta. Con el fin de obtener una producción máxima de semen, el período de colecta debería ser precedido por un período de entrenamiento (ver Anexo 1). En el Cuadro 5.2 se dan indicaciones de la calidad media del semen, de las exigencias para su uso en IA, número medio de dosis por eyaculado y frecuencia de colectas en las diferentes especies.

5.1.2 Embriones colectados *in vivo*.

Los embriones son generalmente obtenidos *in vivo* por lavaje del tracto genital de la donante con una solución (en general un tampón fosfato, PBS). Este delicado procedimiento puede ser realizado por vía no quirúrgica en algunas especies como los bovinos, los búfalos y los caballos, pero requiere para otras especies una metodología quirúrgica como en el cerdo, la oveja y la cabra. Requiere *siempre* un equipo de especialistas.

Para aumentar el número de embriones por colecta, las hembras son estimuladas con preparaciones hormonales (o superovuladas) para producir mayor cantidad de ovocitos. Las explicaciones detalladas sobre las técnicas han sido publicadas en los documentos FAO Nro 77 para la vaca, Nro 84 para la búfala y Nro. 115 para oveja y cabra. El Cuadro 5.3 provee indicaciones sobre el número de embriones congelables que pueden ser obtenidos después de una superovulación y una colecta, así como el número y la frecuencia de las colectas realizables en una donante por año. La probabilidad de obtener un animal adulto a partir de la transferencia de un embrión congelado es mostrada también en el Cuadro 5.3.

5.1.3 Embriones producidos por maduración y fecundación *in vitro*.

Los ovocitos pueden ser madurados (MIV) y fecundados *in vitro* (FIV). Los embriones así producidos pueden ser utilizados para salvar razas en peligro. Sin embargo, por el momento, parece prematuro vislumbrar una aplicación de rutina de esta tecnología en criopreservación, pero ya que es posible esperar que se produzcan mejoras decisivas en esta tecnología en el futuro próximo, a continuación se dará un breve resumen de la técnica.

La base de esta técnica consiste en producir embriones en el laboratorio (*in vitro*) a partir de ovocitos inmaduros que han sido sucesivamente madurados, fecundados y cultivados hasta un estado en el cual pueden ser transferidos “frescos” o congelados. Existen dos fuentes posibles de obtener ovocitos inmaduros:

Cuadro 5.2 : Eficacia de la criopreservación de semen

Especie	Frecuencia de colecta		Dosis de semen congelado/colecta		Dosis/hembra	Tasa de concepción (a)	Dosis/gestación o huevos eclosionados (b)	Gestaciones o huevos eclosionados/colecta
	Volumen (ml)	Número						
Bovino	1	3 días	0.25	150	1 / celo	0.50	2	75
Búfalo	3	semana	0.25	60	2 / celo	0.40	5	12
Ovino	1	día en estación	0.25	40	1 / celo (c)	0.60 (c)	1.7	24
Caprino	3	días en estación	0.25	30	1 / celo	0.60	1.7	18
Porcino	1	5 días	0.25	50	12 / celo (d)	0.50	24	2.1
Conejo	1 / día		0.50	10	1 / celo	0.50	2	5
Equino	3 / semana		0.50	160	20 / celo (e)	0.40	50	3.2
Gallina	3 / semana		0.25	5	4 /semana (f)	0.42 (g)	2.3 (h)	2.1
Pavo	2 / semana		0.25	4	6 / semana (f)	0.42 (g)	3.5.(h)	1.1
Pato	3 / semana		0.25	4	4 / semana (f)	0.42 (g)	2.3 (h)	1.7

(a) Número de preñeces/número de celos para mamíferos; subestimado

(b) Preñez a término (mamíferos) o huevos eclosionados (aves)

(c) Inseminación intrauterina

(d) 2 inseminaciones por estro, con intervalo de 24 hs, respectivamente con 7 y 5 pajuelas

(e) 1 a 3 inseminaciones (media 2.5) por estro, con 8 pajuelas por inseminación (ver A3)

(f) 2 pajuelas por inseminación con 2 inseminaciones por semana; 3 pajuelas por inseminación para pavos (ver A3)

(g) 3 huevos eclosionados a partir de 7 huevos puestos

(h) 4 huevos puestos por semana y por hembra lo que resulta en 1.71 huevos eclosionados por hembra por semana

Cuadro 5.3 : Eficacia de la Criopreservación de embriones

Especie	Embriones congelables/colecta		Embriones Almacenados/pajuela (b)	Tasa de sobrevivida			Crías fértiles	
	Media	Varianza (a)		Tasa de gestación	Tamaño medio de camada	Adultos fértiles/recién nacidos (c)	por embrión (d)	por dosis
Bovino	4	1.2	1	0.40	1	0.85	0.34	0.34
Búfalo	2	1.2	1	0.30	1	0.75	0.22	0.22
Ovino	5	1.2	2	0.30	1.2	0.80	0.14	0.29
Caprino	6	0.9	2	0.30	1.6	0.80	0.19	0.38
Conejo	15	1.2	8	0.50	6	0.80	0.30	2.40

(a) Expresado como el cuadrado del coeficiente de variación del número de embriones congelables colectados

(b) Una dosis (pajuela) descongelada en cada transferencia sin selección posterior de los embriones

(c) Incluye la mortalidad perinatal y antes de la pubertad

(d) Producto de las tres columnas precedentes dividido por el número de embriones almacenados por pajuela. Corresponde a la probabilidad de que un embrión congelado que es descongelado y transferido produzca una cría que sobrevive hasta la entrada en reproducción.

▶ **Mataderos**

Los ovarios de vacas o vaquillas son recuperados en el matadero y llevados al laboratorio. Los ovocitos son aspirados de los folículos, después madurados, fecundados, cultivados y transferidos frescos en una receptora o congelados. Esta técnica permite obtener jóvenes a partir de vacas accidentadas, de mucha edad o estériles. En el contexto de un programa de conservación, es posible recuperar sistemáticamente todos los ovarios de las hembras de una raza que está en peligro y son enviados al matadero. El motivo de su sacrificio tiene poca importancia, aún si se trata de un sacrificio obligatorio por causa de una epizootia, ya que es siempre posible producir embriones sanos siempre y cuando se tomen ciertas precauciones!

▶ **Aspiración folicular repetida (ovum pick-up, OPU).**

La aspiración folicular repetida es realizada *in vivo*, y se han desarrollado dos técnicas: aspiración folicular bajo control ultrasonográfico (vaca, búfala, yegua) o por endoscopía (vaca, oveja, cabra, cerda). Estos dos procedimientos pueden variar según el grupo que los utilice. El OPU no requiere de tratamientos hormonales de la donante. La frecuencia de las colectas puede ser mayor que la frecuencia de colecta de embriones después de superovulación (hasta 80 colectas en un año en la vaca, comparado con un máximo de 6 tratamientos superovulatorios). La colecta de ovocitos ha sido practicada con éxito aún sobre vacas gestantes.

La eficacia del desarrollo *in vitro* después de la fecundación es aún baja ya que sólo aproximadamente el 30% de los ovocitos puestos a madurar se desarrollan hasta el estadio de mórula o blastocisto, momento en que pueden ser congelables o transferibles. Aproximadamente un 40% de los embriones transferidos dan lugar a una cría viva. La situación

es aún más crítica si se utiliza la congelación ya que la sobrevida de los embriones congelados-descongelados es significativamente más baja que la obtenida después de colectas *in vivo* (20 % comparado a 40 %). Sin embargo, si la sobrevida de la raza reposa sobre pocos animales, la técnica puede ayudar en el salvataje de la raza.

Además de los bovinos, se han producido embriones FIV en otras especies como el búfalo, la oveja, la cabra, la yegua y más recientemente en el cerdo. Son aún necesarias nuevas investigaciones para hacer de esta técnica una herramienta eficaz para los programas de conservación. Es posible esperar nuevos desarrollos.

5.1.4 ADN.

El ADN es la molécula que lleva la información genética que será transmitida a la generación siguiente y como tal, será el vehículo de la herencia. Esta información está codificada por fragmentos de ADN llamados genes que pueden ser identificados, cartografiados sobre segmentos de cromosomas y aislados por ingeniería genética.

La creencia que el ADN conservado podría permitir un día recrear animales vivos, era muy atractiva al comienzo. Muchos fueron seducidos por la facilidad relativa con la que el ADN puede ser aislado y conservado, por no hablar del bajo costo que esto implica; otros lo fueron por la perspectiva de recurrir a tecnologías sofisticadas. Sin embargo, estos últimos años se ha producido una toma de conciencia creciente de que esto no sería realizable en un futuro inmediato.

En consecuencia, la atención se ha desplazado hacia la transferencia de fragmentos de ADN de un individuo a otro. Y, aunque los progresos en este área hayan sido considerables (hay disponibles diferentes métodos para la transferencia de genes en las líneas germinales o las células somáticas), muchas

de las promesas iniciales, particularmente para las especies de granja, no se han concretado. Las dificultades incluyen la habilidad de regular la expresión de los genes en un estado de desarrollo apropiado, en el tejido apropiado y en la cantidad correcta y la falta de genes de interés para ser transferidos. Como muchos de los caracteres de interés son gobernados por numerosos genes más que por uno solo, el control de su regulación es complejo y queda por ser definido. Aún es poco claro como tales genes funcionalmente relacionados y sin embargo distintos, podrían ser transferidos en un individuo y regulados de forma compatible con otras actividades.

Dado que la caracterización representa una parte integral de la conservación, una de las aplicaciones inmediatas del ADN está ligada con su habilidad para determinar la estructura genética subyacente. Varias metodologías (polimorfismo de longitud de los fragmentos de restricción, minisatélites, microsateélites, secuenciamiento directo, etc.) son utilizadas de rutina para observaciones rápidas sobre la variación genética de las poblaciones, proveyendo un nivel de detalle hasta lo inimaginable. Este conocimiento de la partición de la variabilidad genética juega un rol en la toma de decisión de conservación y ha sido ya utilizado para determinar prioridades de conservación en las especies salvajes. Además, tal información puede proveer detalles sobre el nivel de mezcla genética en el interior de una raza o sobre el nivel de introgresión de otras poblaciones o razas, proveyendo así una indicación del nivel de erosión genética debida al cruzamiento (Bradley *et al*, 1994). Estas utilidades son tratadas de forma más detallada en el documento de la FAO sobre la caracterización de los RGA.

5.1.5 Células somáticas.

Resultados recientes han mostrado que la quiescencia del ADN en las células somáticas es reversible. El impacto

potencial de esto es claro: *podría* ser posible conservar una población simplemente tomando muestras de células somáticas (piel o folículos) y congelarlos. Esto ha sido hecho experimentalmente a partir de células embrionarias diferenciadas (Campbell *et al.*, 1996) y de células del tejido mamario (Wilmut *et al.*, 1997), pero los límites no son aún conocidos en la actualidad. Ver A6.

En conclusión, las principales herramientas para la conservación son el semen y los embriones congelados y el ADN para la caracterización. Aunque otras técnicas sean desde ya factibles, una conservación confiable sólo es posible cuando la tasa de éxito de la técnica en condiciones de campo sea conocida y haya sido documentada.

Perspectivas futuras en criopreservación

Las investigaciones en curso sobre la biología de las gametas y de los embriones abrirán sin duda nuevas pistas para la recreación de individuos a partir de material congelado. Las principales opciones son:

Ovocitos. Los primeros resultados en el ratón y el conejo indican que sería posible en el futuro recrear jóvenes a partir de ovocitos congelados con técnicas *in vitro*. Las tasas de éxito publicadas son aún muy bajas, menos del 10% de los ovocitos congelados se desarrollan después de fecundación y cultivo *in vitro* y dan lugar a nuevas crías. Actualmente, en las especies domésticas otras que el conejo, no ha sido posible producir ningún individuo a partir de ovocitos congelados y MIV/FIV.

En situaciones en donde la sobrevivencia de una raza reposa solamente sobre unas pocas hembras, la congelación de ovocitos podría ser intentada para aquellos animales que no producen ningún buen embrión por las técnicas *in vivo*. En el futuro, sería posible utilizar estas técnicas cuando las mismas estén disponibles en un programa de MIV/FIV o para microinyección de cabezas de espermatozoides (y aún de células inmaduras como las espermatídes) directamente en el citoplasma. Esta técnica ha demostrado actualmente ser muy eficaz en el ratón (Kimura y Yanagimachi, 1995).

« Stem cells » embrionarias (ESC). Son células indiferenciadas que pueden ser cultivadas *in vitro*. Actualmente, tales líneas celulares han sido establecidas para las especies de laboratorio y son muy utilizadas para la producción de animales transgénicos que llevan mutaciones provocadas. La ventaja de estas células es que ellas pueden ser multiplicadas prácticamente en forma indefinida. En las especies donde las ESC han sido identificadas, ellas son obtenidas a partir de jóvenes embriones cultivados (masa celular interna en el blastocisto) o de gónadas cultivadas (células germinales primordiales) y son conservadas congeladas de rutina antes de su utilización. Si los núcleos de estas células son introducidos en un embrión al comienzo de su desarrollo, ellos pueden influir sobre la diferenciación y el desarrollo celular en varios tejidos, incluida la línea germinal. Estas células son entonces vectores potenciales para la transmisión de caracteres genéticos. Sin embargo, a pesar de las intensas investigaciones, no hay en la actualidad pruebas convincentes de la existencia de ESC en las especies domésticas. Si estas células pudiesen ser aisladas en las especies domésticas con una

tasa de éxito razonable, ellas podrían ser una herramienta para la preservación de la diversidad genética. Una estrategia posible consistiría en conservar estas células congeladas y después de la descongelación utilizarlas como fuente de núcleos para recrear un individuo por transferencia de núcleo en un citoplasma enucleado.

Espermatogonia. Estas células residen en la capa basal de los túbulos seminíferos del testículo y tienen la capacidad de dar nacimiento a los espermatozoides. Comenzando antes de la pubertad y continuando a la edad adulta, las espermatogonias sufren una réplica continua, manteniendo así su número constante por un proceso conocido como "stem cell renewal". Recientemente ha sido demostrado en el ratón (Brinster y Zimmermann, 1994) que estas células, cuando están aisladas del resto del testículo de los animales donantes, pueden ser tratadas para repoblar otro testículo sin ninguna manifestación de rechazo inmunitario. Estas células podrían ser potencialmente utilizadas para transmitir material genético de una generación a la siguiente y cuando se congelaran, podrían ser un medio de conservar genes de machos con problemas de fecundidad de origen anatómico o comportamental.

► 5.2 Objetivos realizables utilizando material congelado

¿Cuales son las opciones realistas cuando el material ha sido criopreservado?

Las secciones que siguen consideran lo que puede ser realizado a partir de material congelado. Se han retenido cinco opciones:

- Recreación de una raza desaparecida;
- Desarrollo de una nueva raza;
- Apoyar a una población conservada *in vivo*;
- Investigación para identificar genes simples de efectos importantes;
- Estudios de ADN.

Cada uno de estos objetivos tiene necesidades diferentes en lo concerniente a los stocks congelados en el banco de germoplasma. Así, con el objetivo de definir el número de muestras es necesario decidir como será utilizado el banco de germoplasma. Las aproximaciones para determinar la cantidad de material necesario según los objetivos son descriptas en el Anexo Nro. 5.

5.2.1 Recrear una raza desaparecida.

Esto puede ser necesario en razón del conjunto de caracteres únicos que esta raza poseía. Sin embargo, los recursos de un banco de germoplasma estarán limitados a la recreación de una raza con moderadas probabilidades de éxito. Esto no es sorprendente ya que: (i) la criopreservación de la raza ha sido realizada en un momento en que la raza ya se encontraba en peligro; y (ii) incrementar el número de individuos conservados para aumentar las probabilidades de éxito aumentaría el costo de la criopreservación de esta raza y por consecuencia disminuiría el número de razas conservadas y por lo tanto de la diversidad total. Como resultado de esto, la raza recreada deberá ser multiplicada antes de pensar en seleccionar sobre los caracteres de interés. La recreación puede tomar dos formas: idealmente, a partir de embriones, en la cual una población de machos y hembras reproductores de la raza pura son rápidamente producidos o, de una forma más complicada, a partir de semen únicamente, en la cual son necesarias varias generaciones de retrocruza antes que la población llegue a ser pura (una o dos generaciones de retrocruzas pueden ser consideradas como resultando en una forma de creación de una nueva raza, ver 5.2.2). Por las razones marcadas anteriormente, la recreación a través de los embriones es considerada como mucho más deseable que la obtenida por medio del semen.

A menos que las hembras y machos reproductores de la raza sean capaces de formar durante toda su vida una familia de más de 2 individuos fecundados en el ambiente en el cual la raza será recreada, la recreación, por cualquier medio que se utilice, será raramente justificada. Esto es una exigencia ya que de otra manera la raza recreada no puede ser multiplicada y estará de todas formas condenada a su desaparición. Considerando que las poblaciones sanas que tienen posibilidades de crecer tienen un tamaño de familia a lo largo de su vida superior a este umbral, la razón más plausible de su falta de aptitud para ello es la depresión por

consanguinidad. En estas circunstancias es claro que se deben incorporar nuevos genes en la raza y como resultante, los objetivos deben ser reconsiderados bajo el ángulo de (i) un programa de retrocruzas con una raza convenientemente elegida y selección para restaurar la aptitud, y/o (ii) criopreservación del semen en vistas de su utilización en nuevas razas (ver 4.1.3)

► **Objetivos relevantes realizables tanto en la recreación por el semen como por los embriones.**

Se ha considerado que la recreación de una raza desaparecida con 12 machos y 12 hembras es un objetivo mínimo razonable. Tal objetivo debe alcanzarse con una certeza del 90%. No vale la pena embarcarse en una tarea tan costosa si las probabilidades de éxito son inferiores. Doce animales de cada sexo da un tamaño eficaz de población de 24 por generación en relación a la población de base recreada suponiendo que la población es mantenida constante por selección y acoplamiento al azar. Sin embargo tal vez este no será necesariamente el caso: una raza suficientemente importante para merecer ser recreada deberá ser multiplicada y será razonablemente esperable que en tal proyecto sean registradas las ascendencias lo cual dará un medio de controlar las tasas de consanguinidad. Con un número constante de padres y una política de reemplazo del padre por el hijo y la madre por la hija, cuando sea posible, el tamaño eficaz de la población aumentará a 48, un máximo para este número de padres. De esta manera nos aproximamos del número de 50 recomendado en el Capítulo 4.

Este objetivo ha sido considerado como una exigencia mínima, aunque para razas con atributos que son particularmente raros, podrían merecer mayores reservas. Sin embargo aquí se presentan solamente las estrategias que

permiten alcanzar tal mínimo, aunque las consideraciones detalladas hasta aquí sean pertinentes también para la elección de estrategias en otros casos.

Consideraciones complementarias para una recreación por medio del semen.

La raza recreada no estará nunca totalmente libre de la raza de base que ha provisto a las hembras iniciales para la retrocruza. Así, un número razonable pero arbitrario de las retrocruzas a realizar debe ser decidido para llegar aproximarse a las exigencias mínimas. Hill (1993) ha mostrado como el número de generaciones de retrocruza alterará la media y la variancia de la proporción del genoma proveniente de la raza conservada. Un objetivo realizable que tiene cuenta de esto es producir 4 generaciones de retrocruza ya que este número de cruzamientos dará un 95% de probabilidades para que 90% de los individuos producidos deriven de la raza congelada.

Para una raza en peligro por falta de machos reproductores, la perspectiva de recreación a través de semen criopreservado es todavía limitada. A diferencia del caso de recreación a partir de embriones, en el cual el pequeño número de machos contribuye con la mitad de los genes y la otra mitad es aportada por las hembras de la raza, cuando la recreación se hace por medio del semen sólo, el mismo número de machos contribuye con el 15/16 del total de genes, (el 1/16 restante proviene de la raza de base). Esto aumenta inevitablemente los riesgos ligados al proceso de recreación. Así, la necesidad para la raza debe ser muy fuerte para intentar esta empresa, y el recurso a la recreación por medio del semen solamente no es verdaderamente recomendable!.

Para una raza en peligro por falta de hembras reproductoras ($F < 1000$) pero sin falta de machos, la recreación por el semen solo puede ser más realista dependiendo de las escalas de tiempo para la reproducción de cada generación.

La raza de base que será modificada debe ser elegida con caracteres que puedan responder al proceso, si es posible fenotípicamente parecida a la raza desaparecida para una gama de caracteres. Los alelos dominantes conocidos en la raza existente, pero ausentes en la raza a recrear, pueden fácilmente ser eliminados por una selección ulterior. Los alelos recesivos conocidos serán mas que un problema, a menos que ellos hayan sido detectados por un marcador genético, ya que los portadores no pueden ser identificados fenotípicamente y sólo los homocigotas pueden ser identificados. (Ver también 4.2.2).

Otra consideración importante para las especies con un tamaño de camada pequeño en donde, por el número de camada autorizado, el número de hembras de reemplazo por hembra reproductora es inferior a 1, es que el número de hembras necesarias para el programa de retrocruzas aumenta exponencialmente con el número de generaciones. Cuando el número de hembras de reemplazo es mayor que 1, el número de hembras requerido permanece constante por generación. Esto significa que el número de pajuelas de semen requeridas aumenta ya sea exponencialmente, ya linealmente con el número de generaciones de retrocruzas, según la tasa de reemplazo. Este aspecto no fue tenido en cuenta por Lömker y Simon (1994) en su estudio de los costos de recreación. La tasa de reemplazo puede ser influenciada simplemente aumentando el número de camadas por hembra utilizada (*toda especie sana debe tener hembras capaces de producir su propio reemplazo*, es decir un tamaño de familia durante toda la vida de al menos 2, un macho y una hembra) con la desventaja que el programa genético toma más tiempo y que los individuos producidos pueden estar más dispersos cronológicamente.

5.2.2 Desarrollo de una nueva raza.

Una contribución importante del material congelado es continuar en el desarrollo de nuevas razas para responder a las nuevas condiciones de producción. En este caso, el objetivo es utilizar genes o combinaciones de genes únicos de la raza conservada para establecer una nueva población con las propiedades deseadas. La necesidad para una población tal pueden provenir de: nuevos objetivos de selección pudiendo ser debidos a cambios de las condiciones de producción o por la amenaza de enfermedades o, para reemplazar o mejorar una raza considerada inadecuada desde el punto de vista genético debido ya sea a una depresión por la consanguinidad excesiva o por falta de desempeños promedio o de variabilidad de alguno de los caracteres deseados. El camino a seguir sería la utilización del semen conservado por medio de una serie de retrocruzas. Considerando que el número de individuos que uno podría crear partiendo de los embriones de una raza en peligro es limitado, su utilización en este caso no se justificaría (a menos que una herencia citoplásmica esté involucrada en el carácter deseado, lo cual es muy raro). Se puede utilizar el semen de más de una raza conservada para aportar variabilidad en una gama de caracteres para la selección que se realizará más tarde. La raza criopreservada puede contribuir por sus genes en más de una nueva raza en la medida en que su utilización múltiple haya sido prevista.

► Objetivos realizables.

El método empleado para desarrollar una nueva raza y la proporción del genoma de la raza nueva que es aportado por la raza congelada, pueden variar considerablemente. Para estimar las necesidades de conservación, nosotros hemos considerado sólo una posibilidad en la cual se recurre en una alta proporción a la raza conservada. Este ejemplo puede ser utilizado como modelo para estimar la cantidad de semen necesario cuando se examinan las demandas de acceso al

stock de semen conservado. En este ejemplo teórico, una nueva raza debe ser creada a partir de un stock de genes constituidos inicialmente por un 75% de la raza conservada y con inicio de selección después de la segunda generación de cruzamientos. El requerimiento para la selección es que hay que estar 90% seguro que se dispondrá de 100 machos como candidatos para la selección. Es previsible que el mismo proceso puede generar una población viable de hembras para la nueva raza.

5.2.3 Apoyo a una población conservada *in vivo*.

La población *in vivo* puede adquirir genes letales en el curso del tiempo. En una pequeña población esto puede rápidamente alcanzar frecuencias génicas difíciles de retirar de la población. Así, los individuos que han sido congelados pueden ayudar en el mantenimiento de la población a través de semen y embriones. En algunos casos, según la amplitud de la depresión por consanguinidad, el semen puede ser suficiente para remover a los recesivos. Es necesario verificar, antes de introducir el semen congelado, que algunos individuos conservados no sean también portadores y en este caso deberán ser evitados. Las informaciones genealógicas disponibles pueden clarificar las probabilidades. (ver 4.7.1)

► Objetivos realizables

El número de pajuelas requerido para una reproducción en apoyo a poblaciones de animales vivos conservada dependerá del tamaño de la población. Suponiendo que la población ha tenido que hacer frente a problemas de recesivos letales, serán necesarias dos generaciones de reproducción de apoyo que deberán ser seguidas por un programa de selección contra los portadores restantes cuando sean identificados. Se supondrá que 100 hembras son acopladas en cada intervalo de generación (incluyendo las camadas múltiples). Esto es más que el mínimo requerido para alcanzar un tamaño efectivo de población de 50 por generación (ver 4.2.2) pero

no permite las posibilidades que tal población puede requerir (o desear por motivos de selección) para apoyar la población con un pequeño número de reproductores machos. Se supone que el banco de germoplasma deberá proveer suficiente semen para permitir fecundar dos generaciones de hembras con el stock congelado.

La disponibilidad regular de semen congelado podría modificar las decisiones sobre las estructuras de los núcleos de animales conservados vivos (ver 4.5, 4.7.2). Tal opción dependerá de la existencia de las infraestructuras necesarias a escala nacional y debería ser considerada como deseable, aunque siempre como un extra opcional de la conservación de animales vivos. Esto no es considerado como una justificación para el cálculo del número de dosis.

5.2.4 Investigaciones para identificar genes simples de gran efecto.

La inclusión de estudios de mapas genómicos como una demanda legítima de los stocks congelados, está justificada por la observación de que el propósito primario de la conservación *ex situ* es conservar un conjunto de genes susceptibles de tener un interés en el futuro. El interés inicial de los estudios de mapeo genómico es localizar más precisamente tales genes de efectos mayores y encuadrarlos con marcadores genéticos. Un conocimiento más preciso conducirá a programas de mejora que puedan utilizar más precisamente los genes mayores. Esto estimulará a la utilización de los stocks congelados.

► **Objetivos realizables.**

Los estudios de mapeo genómico considerados utilizan el cruzamiento entre la raza congelada y otra raza. La hipótesis es que la raza congelada es homocigota para un gen mayor con un importante efecto benéfico, que no está presente (o sólo en una frecuencia muy baja) en las otras razas. Se asumirá que las otras razas implicadas no son portadoras de ese gen. El estudio producirá en un primer tiempo a las F1, después a las F2 a partir de la población de F1. Otros protocolos que utilizan ambas retrocruzas, requerirían una utilización más intensa del semen congelado. Para definir los objetivos realizables se asume un mapa 20 cM, con una progenie de 250 F2 para evaluarlo lo cual, según el trabajo no publicado de Haley (comunicación personal), da 90% de probabilidades de detectar un gen que es responsable por una diferencia de una desviación estándar fenotípica entre homocigotas. Ya que ciertos caracteres importantes pueden estar ligados al sexo, las necesidades han sido fijadas en una progenie de 250 F2 de un solo sexo. Esto puede ser obtenido en el curso del tiempo a partir de 250 hembras F1 y la cantidad necesaria de semen para lograr este número de hembras F1 con un 90% de certeza, debería ser provista a partir del banco.

5.2.5 Estudios de ADN.

Un banco de ADN debería permitir el acceso al ADN nuclear de las razas congeladas sin necesidad de retirar o utilizar el material reproductivo. Considerando las pequeñas cantidades de ADN requeridas con fines de investigación comparado con las cantidades necesarias de las muestras de sangre o semen (antes de su conservación) tales requerimientos deberían, en ausencia de toda otra consideración, ser recibidos favorablemente en el momento de la presentación de una propuesta bien elaborada.

5.2.6 Objetivos realizables para el banco de germoplasma en su conjunto.

Es conveniente interrogarse sobre cuantos de estos objetivos podrían ser previstos.

La necesidad total de embriones a producir es el doble de la que sería necesaria para la recreación de una raza por medio del uso de embriones (suponiendo que la raza haya sido juzgada suficientemente importante para que los embriones sean colectados).

La necesidad total de semen que será producido deberá permitir el doble de los siguientes objetivos:

- 1 x la recreación de una raza desaparecida (5.2.1);
- 3 x la creación de una nueva raza basada en animales 3/4 (5.2.2);
- 1 x apoyo para la conservación *in vivo* (5.2.3);
- 1 x la investigación de genes de gran efecto (5.2.4).

El peso relativo dado a 5.2.2 refleja la utilidad prevista del banco de germoplasma y la dificultad de una adecuada reposición a continuación del acceso con este propósito.

Sin embargo, los objetivos 5.2.1 y 5.2.3 no son independientes ya que si una población necesita una recreación quiere decir que no existe una población *in vivo* a ser apoyada y, a pesar que los protocolos de reposición adecuados estén en marcha (ver 5.8.4), las muestras previstas para el apoyo de poblaciones *in vivo* pueden ser utilizadas para una recreación ante la eventualidad de una catástrofe. Anticipando los resultados de 5.7 (donde se mostrará que las necesidades del objetivo 5.2.3 son mayores que las del 5.2.1), no se hará ninguna provisión de material genético para la recreación de una especie desaparecida.

Es recomendable que se hagan reservas de ADN, en la medida de lo posible, aún si no se colectan ni semen ni embriones.

►• 5.3 Obtención de animales donantes para la criopreservación

¿Cuántos donantes son necesarios?

Para determinar el número de donantes que deben entrar en un programa de criopreservación hemos considerado que *todo* animal es precioso y tiene una utilidad hasta un determinado límite. Este límite ha sido fijado en 25 machos para la colecta de semen y 25 machos y 25 hembras para la colecta de embriones y obtención de células somáticas. Si no se dispone de tal número, entonces los animales serán elegidos sin importar el grado de parentesco entre ellos. Más de 25 es, naturalmente útil, aunque en ciertos casos, mayor número de animales no sea sinónimo de mayor variación genética si muchos de ellos están estrechamente emparentados. De cualquier manera, el número máximo asumido aquí es de 25 por cada sexo. Para obtener muestras de ADN será entonces necesario hacer un muestreo de 50 animales (como se recomienda en el MoDAD).

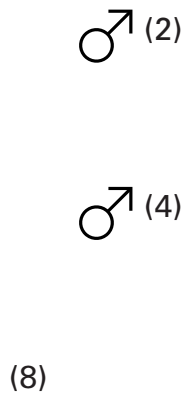
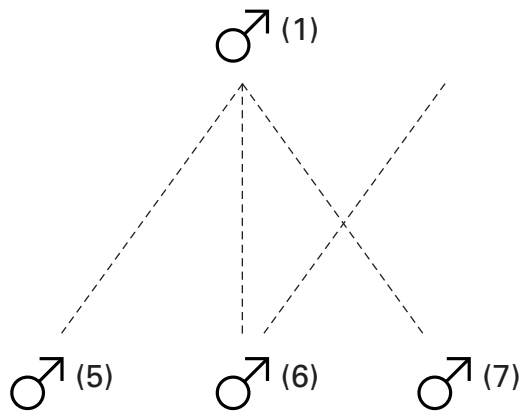
Los mismos machos pueden ser utilizados a la vez para colecta de semen o para la producción de embriones. Los mismos individuos pueden ser utilizados para la colecta de embriones, de células somáticas y de ADN. Para el ADN se recomienda que si hay menos que 25 individuos de cada sexo disponibles, se deberá hacer un muestreo de individuos del otro sexo hasta tener un total de 50 muestras de ADN conservadas.

Puede ocurrir que haya más de 25 candidatos disponibles para el muestreo y entonces se requerirá alguna selección. Suponiendo que todas las hembras sean fértiles, la selección debe ser conducida para reducir el parentesco entre los donantes y así poder maximizar la variación genética de las muestras. En muchos casos, la amplitud de las genealogías disponibles no irá más allá de una generación. Se supone que lo esencial

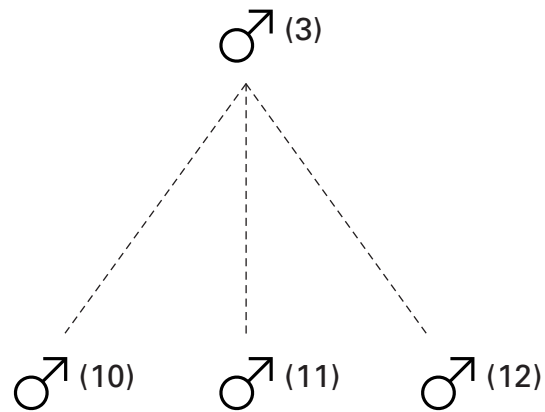
de las relaciones proviene de la alta capacidad reproductiva de los machos. En ausencia del conocimiento de la ascendencia de más de una generación, las relaciones conocidas son: medio hermanos, hermanos completos y padres. Lo que sigue a continuación es un protocolo de muestreo de machos que intenta ser robusto y simple más que estrictamente óptimo:

1. Clasificar los machos a muestrear en líneas paternas.
2. En la primera vuelta, tomar un individuo de cada línea paterna. Cuando la línea comprende al padre y sus hijos, se retendrá al padre en primer lugar (es potencialmente menos consanguíneo). En este ejemplo, esto significa que (4) es retenido de preferencia a (8) o (9). En otras líneas se puede practicar una elección al azar, por ejemplo (6), (4) y (10).
3. Si es necesaria otra vuelta de selección, se deberá seleccionar un nuevo individuo de cada línea, si hubiese disponibles. Sin embargo, el hermano entero de un individuo ya retenido debería evitarse a menos que no haya ninguna otra elección posible. Así, en el ejemplo, (5) debería ser preferido a (7). Si el padre de un grupo de medio hermanos ha sido retenido en la primera vuelta, podrá ahora ser reemplazado por un par de medio hermanos (ya que los medio hermanos son potencialmente más representativos de la población), pero de ninguna manera por dos hermanos enteros. En el ejemplo, (5), (6), (8), (9), (10) y (12) pueden ser elegidos.
4. Las vueltas siguientes se hacen tomando a los individuos en cada línea paterna si están disponibles evitando en la medida de lo posible los hermanos enteros. Así (7) sería elegido en la tercera vuelta, aunque el tenga ya un hermano entero seleccionado. El padre de otros individuos no debe ser incluido a menos que no haya ninguna otra alternativa en esta línea paterna particular. En el ejemplo, (4) sería elegido en la tercera vuelta. Todos los padres disponibles deberían haber sido elegidos en la tercera vuelta.

Ejemplo



(8)



Padres $\text{♂} (1)$, $\text{♂} (2)$ y $\text{♂} (3)$ se supone no disponibles y el resto quedan disponibles.

Cuando el muestreo es para la producción de embriones (o de células somáticas) es necesario elegir a la vez los machos y las hembras. En ese caso es necesario realizar el procedimiento que sigue; y lo más importante, el muestreo de los machos y de las hembras debe ser hecho simultáneamente comenzando por el sexo menos numeroso. El mismo principio con respecto a evitar a los hermanos enteros y los pares padres-descendencia se debe aplicar en este caso. Se debería elegir de preferencia a las madres en lugar de sus hijas ya que se supone que ellas serán menos consanguíneas y tienen menos posibilidades de que alguno de los machos disponibles sea su padre; en las vueltas siguientes las madres no deberían ser reemplazadas por hermanas enteras (ver punto 3. más arriba).

La población puede tener registros de ascendencia de dos o más generaciones, lo cual incluiría a los abuelos de todos los individuos disponibles. Si este fuese el caso, es posible recurrir a métodos relativamente sofisticados para maximizar la variación genética en una muestra. Esto puede requerir entrenamiento y experiencia que no se disponen localmente; en ese caso se debe procurar obtener tal experiencia o de lo contrario dirigirse a la FAO. Sin embargo, en situación de urgencia, es posible adoptar el protocolo descrito ya que es robusto y próximo del óptimo.

►• 5.4 Recapitulación de las normas y procedimientos

¿Que implica la colecta de muestras?

Esta parte del proceso es exigente técnica y operacionalmente tanto en lo concerniente a la manipulación y cuidados de los animales como en los procedimientos para controlar el riesgo de enfermedades asociadas con el material congelado. Para ser breve, esta sección presenta sólo una recapitulación de estos aspectos. Sin embargo es *esencial* que estos detalles sean tomados en cuenta después de la lectura de este resumen. Estos detalles son presentados en los anexos A1 (colecta de semen), A2 (colecta de embriones), A3 (técnica paso a paso de congelación del

semen) y A4 (técnica paso a paso de congelación de embriones). La colecta de ADN es descripta en el Anexo 5.

El riesgo sanitario directo ligado a los embriones, aunque bajo, depende mucho de la manipulación correcta de los embriones por el equipo de transferencia de embriones. Esto da una gran responsabilidad al equipo (es decir al grupo de técnicos, supervisado por un veterinario de grupo, competente para asegurar la colecta, la manipulación y la conservación, según lo expresado en el Anexo A2). En vista de esta gran responsabilidad, y para asegurar que el trabajo está hecho respetando las normas, se recomienda introducir un procedimiento para la aprobación y el reconocimiento oficial de estos equipos de TE. La FAO puede aportar esta aprobación cuando no existiesen localmente sistemas para ello.

5.4.1 Instalaciones.

Los cuidados y controles veterinarios imponen características particulares a las instalaciones para obtener muestras. No se recomienda que las colectas de semen se hagan en las granjas por la falta de un control del estado sanitario, aunque esto sería posible para las colectas de embriones.

Las instalaciones que satisfacen las normas internacionales para la colecta de semen poseen idealmente: una estación de cuarentena y un centro de colecta de semen (CCS). La estación de cuarentena y el CCS deben ser utilizados exclusivamente para la producción de semen. Se debe hacer lo necesario para evitar el contacto con otros animales (ej. alambrados) y la llegada de agentes patógenos al centro por otras vías (por provisión de materiales y baños de desinfección).

Las instalaciones para la colecta de embriones comprenden un laboratorio permanente o móvil, donde los embriones pueden ser examinados, manipulados y almacenados en pajuelas. El laboratorio móvil permite la colecta de los embriones en la granja.

5.4.2 Procedimientos para los controles veterinarios.

En los programas comerciales de transferencia de embriones y de inseminación artificial, se debe tener un cuidado extremo para evitar la transmisión de enfermedades. Las muestras de buena calidad son también importantes ya que estas técnicas están siendo usadas como un componente de los programas de conservación y el semen y los embriones serán utilizados después de varios años de conservación.

► Semen

Los procedimientos veterinarios serán realizados tanto en la estación de cuarentena como en el CCS. La estación de cuarentena es considerada como la «interface» entre los rebaños o majadas de origen y la unidad de CCS. Los procedimientos implicarán a las autoridades veterinarias que deberán poner en marcha las reglamentaciones propuestas, aprobar las instalaciones y supervisar el respeto de los procedimientos previstos, para estar en condiciones de certificar el estatus sanitario del material (ver 5.6). Una referencia importante para esto es el manual de la OIE. Se debe tener un cuidado particular en el aporte de provisiones, o de alimentos para el CCS o en el momento de retirar el estiércol, para evitar la introducción de agentes patógenos.

► Embriones.

El riesgo sanitario potencial puede ser alto si no son respetados cuidadosamente los procedimientos recomendados para la colecta y manipulación de los embriones. Se dispone de abundantes resultados de investigación en el mundo entero sobre el riesgo de transmisión de enfermedades por el embrión en el bovino. Se dispone de menor cantidad de información en el ovino, caprino y porcino y de casi ninguna para las otras especies. Toda colecta de embriones debe ser precedida por un examen clínico completo del animal, de sus compañeros de

rebaño y del ambiente general en el que los animales son mantenidos, para detectar la presencia de enfermedades. Este examen clínico condicionará también el tratamiento superovulatorio y la colecta ya que no se pueden esperar buenos resultados más que de animales perfectamente sanos. El riesgo sanitario varía considerablemente según las especies, pero esto no debe modificar el nivel de atención.

5.4.3 Técnicas para congelar y descongelar el semen.

Las tecnologías usadas actualmente para conservar el semen siguen los principios descritos por Milovanov a comienzos de los años treinta:

1. prevención del shock térmico sobre las membranas durante el descenso de la temperatura;
2. dilución del semen colectado en una solución tamponada adicionada en la mayor parte de los casos con leche o huevo;
3. extracción de las secreciones accesorias en especies como el carnero, el caballo o el cerdo;
4. exposición a un agente crioprotector como el glicerol (Polge *et al.*, 1949);
5. congelación rápida en vapores de nitrógeno líquido;
6. y descongelación rápida en un baño de agua caliente.

Una breve síntesis de las aproximaciones utilizadas para la conservación de semen es presentada por Weitze y Petzoldt (1992). Como se mencionó más arriba (5.1.1) la inseminación artificial funciona con éxito utilizando un número de espermatozoides muy inferior al necesario en una monta natural y el semen no sólo será diluido sino también fraccionado antes de la congelación de manera que para

ciertas especies (bovinos) se pueden obtener varias centenas de dosis inseminantes a partir de un solo eyaculado. Estas dosis de semen pueden ser congeladas en pastillas (Nagase y Niwa, 1964) pero preferentemente en la actualidad se lo hace en minipajuelas de plástico (Cassou, 1965) de 0.5 ml o de 0.25 ml. Este tipo de acondicionamiento permite la conservación segura, higiénica y económica.

5.4.4 Técnicas para congelar y descongelar embriones.

Desde las primeras publicaciones sobre el nacimiento de crías normales a partir de embriones de ratón congelados en 1972 (Whittingham et al., 1972) se ha informado de éxitos parecidos en 15 especies de mamíferos incluyendo a la mayor parte de las especies domésticas con excepción del cerdo, en el cual aún no ha sido posible congelar sus embriones con éxito. Los embriones son congelados en general cuando tienen entre 30 y 120 células que corresponde al estadio de mórula o blastocisto, estadio que es alcanzado, según las especies, entre 4 a 10 días después de la fecundación. Actualmente son congelados y acondicionados en pajuelas plásticas de 0,25 ml, del mismo tipo de las utilizadas para la congelación del semen. Una síntesis reciente de los métodos y de su utilización ha sido presentada por Rall (1992).

A causa del mayor número de células en los embriones comparado con los espermatozoides, los protocolos de congelación son generalmente más sofisticados que los utilizados para congelar semen. Las propiedades de las células varían a menudo entre las especies y entre los estadios de desarrollo embrionario. Esto impone que el procedimiento de congelación sea adaptado a la especie para minimizar los daños que sufren los embriones y optimizar las tasas de sobrevivencia. Se han identificado varios factores críticos para el éxito de la criopreservación: la calidad inicial del embrión, estimada según su morfología observada a través de una lupa estereoscópica (aumento aproximado 40x); el tiempo entre la colecta y la congelación, que no debe sobrepasar las 3 a 4

horas (durante las cuales el embrión puede ser conservado a temperatura ambiente) y el estado de desarrollo al momento de la congelación que puede ser crítico para algunas especies.

Actualmente son utilizadas dos técnicas principales de congelación-descongelación. La primera llamada «congelación lenta», está basada en una deshidratación reversible de las células lo cual impide el efecto nefasto de la cristalización intracelular. La segunda, llamada «vitrificación», utiliza el aumento rápido de la viscosidad de las soluciones durante el enfriamiento para obtener una fase sólida vítrea dentro y fuera de las células sin formación de ningún tipo de cristales de hielo. La ventaja de la técnica de vitrificación es que se trata de un procedimiento rápido que no necesita de ningún tratamiento especial, pero es más exigente técnicamente, menos robusta y da resultados inferiores en alrededor de 10 puntos porcentuales con respecto a la técnica de congelación lenta.

La « técnica de congelación lenta » es recomendada a raíz de sus mejores resultados y a pesar que ella requiere de un congelador programable cuyo precio oscila entre 3000 y 7000 dólares. Estas máquinas son vendidas por una gran gama de proveedores y pueden ser fácilmente adaptadas para el trabajo de campo. En ausencia de un congelador programable o de financiamiento para su compra, la técnica de vitrificación es una técnica válida, particularmente si por no utilizarla se arriesga la desaparición de una especie.

5.4.5 Plan de acoplamiento para la colecta de embriones.

Un aspecto importante del control de la calidad genética de la muestra, puede ser manejable durante el período de la colecta. Para obtener el número de muestras deseado para alcanzar los objetivos establecidos en 5.2, pueden hacer falta varias colectas de cada donante, aún con superovulación. La colecta de embriones después de la superovulación es muy variable, por ejemplo en la vaca el número de embriones

puede variar entre 0 (el resultado más frecuente) y 40 con una media de 5. Además, las hembras que no responden bien a una superovulación, tienen tendencia a no responder mejor en las siguientes. Así es que es conveniente que los machos utilizados para los acoplamientos no estén asociados a la misma hembra sobre todo un período de colecta ya que es posible que un macho predomine sobre todos los otros en la raza recreada.

Segundo, aún si no se realizase ninguna selección activa, la selección natural puede jugar un rol y los hermanos enteros serán penalizados: genes deletéreos transmitidos por un individuo de un sexo penalizan no sólo su propia contribución futura a la población sino también la de su contraparte sana. Evitar a los hermanos enteros aunque manteniendo el número total de crías, dispersa el riesgo (Woolliams, 1989).

Por tales razones se recomienda el siguiente procedimiento:

1. las hembras no son acopladas con sus hijos, padre o hermano entero si es posible evitarlo (esto evita simplemente un embrión consanguíneo al 25% que se sabe que será menos viable)
2. después de cada colecta, hembras y machos son clasificados en función del número total de embriones transferibles que ellos han producido en el conjunto de las colectas, y en la vuelta siguiente, el macho que produjo menos embriones será acoplado con la hembra que produjo más, el anteúltimo macho con la segunda hembra y continuando así.

Esta variación de la tasa de colecta de embriones producto de una superovulación sigue siendo un problema para controlar las crías de las donantes, pero esto ha sido tratado en 5.7 y A6.

5.4.6 Colecta y tratamiento de las muestras de ADN.

Aunque el ADN puede ser extraído de numerosos tejidos, se recomienda que el ADN a conservar sea obtenido de sangre o de semen. Esto se justifica ya que estos tejidos son fáciles de obtener (en el marco de las actividades de criopreservación descritas previamente); y (iii) se puede obtener una buena cantidad de ADN por cada muestra. Las informaciones sobre los kits para extracción de ADN de sangre (pero no de semen) están descritas en el Anexo 5

Cuando se utiliza sangre, se hacen muestreos de 14 ml en los mamíferos domésticos. Para las aves, es suficiente con 1 ml ya que, a diferencia de los mamíferos, los glóbulos rojos están nucleados de la misma manera que los blancos. El volumen de sangre requerido debería ser obtenido en dos tubos etiquetados, ya que esto reduce el riesgo de pérdida de la totalidad de la muestra antes de la extracción. Una vez que las muestras han sido obtenidas, deben ser conservadas a 4°C antes de la extracción, aunque se recomienda que esta sea realizada dentro de los tres días de tomadas.

Se supone que todos los agentes patógenos que podrían estar asociados al ADN son eliminados en el procedimiento de la extracción.

►• 5.5 Almacenaje de las muestras

¿Como son almacenadas e identificadas las muestras?

5.5.1 Identificación.

El crecimiento de los intercambios internacionales de semen bovino congelado requiere, por varias razones, una identificación confiable de cada dosis de semen. En 1992, un

grupo europeo de especialistas en IA aprobó, en el Congreso Internacional de Reproducción Animal e Inseminación Artificial de La Haya (Países Bajos), un procedimiento común de identificación de las dosis de semen. Esta identificación puede fácilmente ser adaptada a otras especies agregando dos letras que indican la especie al comienzo del número de identificación. El etiquetado está organizado sobre la base de un código alfanumérico como se muestra en la Figura 5.3. Por razones sanitarias (ver 5.6) algunas informaciones suplementarias deberán ser agregadas. Este procedimiento de etiquetado está bien adaptado a las pajuelas y está concebido para minimizar los errores de identificación. Las compañías comerciales especializadas proveen sistemas técnicos para la impresión segura o la escritura manual (tinta que queda estable a bajas temperaturas) de las pajuelas.

Generalmente, los embriones serán almacenados en pajuelas individuales para las especies con camadas de un sólo individuo como es el caso de los bovinos, o agrupados hasta 10 para especies con camadas múltiples como el conejo. Se han establecido recomendaciones precisas para la identificación de pajuelas por el Comité Importación/Exportación de la Sociedad Internacional de Transferencia de Embriones (manual de la IETS, 1998). A causa de la escritura manual y del lugar limitado, el etiquetado sólo contiene las informaciones esenciales para la identificación. Esta consiste de un código inicial, la fecha de congelación, el nombre de la donante (o su número) cuando está disponible y un número individual de acondicionamiento. El código inicial está compuesto de tres elementos: el código de la organización de transferencia de embriones, el código de la raza y el número de inscripción de la donante. La identificación del macho utilizado para producir los embriones es accesible por referencia cruzada a partir de la fecha de congelación. Cuando hay lugar, puede aparecer después del número de inscripción de la donante.

Figura 5.3: Identificación de las dosis de semen

Impresión sobre una línea

Código de toro estandar			nombre del toro	Código país ISO	Número de herd-book	Código de fecha	Código Centro IA
Código de granja	Código de raza	Código toro					
3 n	2 α	5 n	24-30 α	3 α or 3 n	11 n	6-8 n	6-10 α n

Impresión sobre dos líneas

Código de toro estandar			Nombre del toro	Código país ISO	Número de herd-book
Código de granja	Código de raza	Código toro			
3 n	2 α	5 n	24-30 α	3 α or 3 n	11 n
				6-10 α n	6-8 n
				Código Centro IA	Código de fecha

Número total de caracteres, con los espacios, 63-75 n = numéricos; α = letras
--

La fecha de congelación es esencial para hacer la unión entre la identificación de la pajuela y el certificado de colecta y congelación que debe ser provisto y acompañar a cada pajuela. Un ejemplo de identificación para embriones bovinos se presenta en la Figura 5.4. Informaciones detalladas sobre la identificación y los procedimientos para el intercambio de embriones pueden ser obtenidas a través de la Sociedad Internacional de Transferencia de Embriones (IETS 1998).

5.5.2 División de las muestras en dos subconjuntos.

Un aspecto importante de los programas de conservación es reducir el riesgo almacenando las muestras por duplicado en dos lugares distantes geográficamente. Esto sirve para proteger a la raza congelada de desastres tales como incendios o temblores de tierra, agitación cívica, guerras o simplemente accidentes. Una vez que las muestras han sido colectadas e identificadas pueden ser repartidas en dos subconjuntos idénticos para el almacenado a largo plazo.

► Embriones.

La repartición de los embriones obtenidos en dos poblaciones debe seguir el principio de repartir todo par de hermanos enteros entre las dos poblaciones. Cuando este principio no puede ser aplicado (embriones sin hermano entero para aparear) el principio debe ser de dividir todo par de medio hermanos maternos entre las dos poblaciones. Cuando este principio no puede ser aplicado, entonces los medio hermanos paternos serán repartidos. Para terminar, todos los demás embriones deberán ser repartidos al azar, pero si se dispone de alguna otra información sobre la ascendencia, esta debería tenerse en cuenta. El equilibrio entre tamaños de familias de hembras es prioritario ya que de esta manera será posible compensar un eventual desequilibrio en los tamaños de las familias de machos después de la recreación utilizando semen congelado.

► **Semen.**

La repartición de las muestras de semen es más fácil que con los embriones: las pajuelas de cada donante de semen son repartidas en dos grupos. Cualquier otra pajueta remanente es colocada en conjunto y repartida lo más equitativamente posible entre las dos muestras. La repartición de las muestras de células somáticas y de ADN en dos grupos sigue los mismos principios aplicados para el semen.

5.5.3 Ubicación de las muestras.

Después de la congelación, las dosis de semen (que pueden ser pastillas o pajuelas) se guardan en gobelets dentro del termo de nitrógeno líquido. Cada gobelet (existen diversos tamaños en el mercado) contiene sólo las dosis de un mismo macho y de un mismo eyaculado. Se deberá desarrollar un apropiado sistema de registro que permita la identificación rápida y confiable del eyaculado de un toro dado, de una determinada fecha, dentro del termo.

Para los embriones, las pajuelas son colocadas en tubos de plástico de diferentes colores y después en gobelets que van al termo de nitrógeno líquido. Como a menudo el número de pajuelas que se hace por una donante es muy pequeño, los diferentes colores de los tubos de plástico representan ya sea diferentes colectas, ya diferentes donantes.

Este procedimiento es necesario para no desperdiciar espacio en el termo de nitrógeno líquido, aunque esto imponga un sistema de registro y de documentación muy preciso para reencontrar la ubicación de una determinada pajueta rápidamente. Los vendedores de termos de nitrógeno líquido proponen programas en computadora para el manejo de los stocks de dosis y estos sistemas son ya utilizados ampliamente por los bancos de tejidos humanos.

5.5.4 Termos de Nitrógeno líquido.

Las muestras pueden ser transportadas en termos especiales con doble pared y un contenido de 10 a 50 litros. Los termos de almacenamiento de semen existen en tamaños que van desde los 2 litros a varios miles de litros. Por razones de tipo práctico, los programas de conservación deberían almacenar el material en termos de 30 a 60 litros. Esto debido al pequeño número de pajuelas por donante o de dosis de semen por macho y por eyaculado, así como para la clasificación sanitaria de las muestras (ver 5.6). Estos termos tienen tasas de evaporación muy bajas (con la condición que ellos no sean abiertos frecuentemente!) y aseguran así una duración del nivel apropiado durante varios meses sin necesidad de reponer nitrógeno líquido. Además, en caso de ruptura inesperada de un termo, los daños serán menores utilizando pequeños termos en lugar de grandes.

5.5.5 Mantenimiento del stock.

Una vez en el nitrógeno líquido, semen y embriones no deben ser descongelados antes del momento de su utilización y, en ese momento, se deben seguir los procedimientos apropiados (ver A3 para el semen y A4 para los embriones). Si se produce una descongelación accidental, semen y embriones no serán más viables.

El ADN es más resistente que los otros materiales. Si las muestras son descongeladas accidentalmente, deberán ser recuperadas y recongeladas lo antes posible.

►• 5.6 Cuantificar el estatus sanitario del semen y embriones

¿Que hacer si las normas sanitarias más exigentes no pueden ser cumplidas?

El compromiso entre la necesidad de conservar los genes de una raza en peligro y el estado sanitario de estos últimos representantes y/o la disponibilidad de instalaciones apropiadas en la vecindad, han conducido a recomendar la introducción de un sistema de notación del semen y de los embriones según la calidad del control sanitario que se lleve a cabo y del estado sanitario de los (las) donantes.

Viendo la importancia de este sistema, este texto es retomado en A1 y A2.

5.6.1 Calificación del semen de mamíferos.

Este sistema califica el estado sanitario de los machos en tres categorías llamadas A (la más alta), B y C (la más baja). Esto facilitará el almacenaje en el banco de germoplasma de animales con estado sanitario similar pero de diferentes orígenes y también facilitará su acceso y uso futuro. Los principios son resumidos en el Cuadro 5.4.

Cuadro 5.4.: Reglas de notación para muestras de semen de especies de mamíferos

	Obligaciones legales (A1.7.1)	Evaluación sanitaria individual (A1.7.2)	Cuarentena y CCS aprobados (A1.2, A1.3)
Grado A	X	X	X
Grado B	X	X	
Grado C	X		

► **Muestra de estado sanitario grado « A »**

Para ser calificado « A », el animal donante debe satisfacer la totalidad de la cadena de control, comenzando por la estación de cuarentena descrita en A1. Antes de ser transferidos en un CCS aprobado, los machos deben haber sido diagnosticados negativamente para diversas enfermedades. Una vez en el CCS, los machos deben ser sometidos a la evaluación de calidad y congelabilidad del semen y estar bajo supervisión veterinaria continua. Debería ser posible hacer viajar al semen clasificado « A » libremente a través del mundo, ya que el riesgo de transmisión de enfermedades con este semen es extremadamente limitado.

Las dosis de semen deben ser claramente identificadas como Grado « A », por ejemplo agregando « GA » al fin del etiquetado normal de la pajuela (ver 5.5.1, Figura 5.3).

► **Muestra de estado sanitario grado « B »**

Para ser calificado « B », el animal donante debe satisfacer las obligaciones legales (Ver A1.7.1) así como a los exámenes individuales para las principales enfermedades como fue indicado en el Cuadro A1.1.

Las dosis de semen deben ser claramente identificadas como Grado « B », por ejemplo agregando « GB » al fin del etiquetado normal de la pajuela (ver 5.5.1, Figura 5.3).

► **Muestra de estado sanitario grado « C »**

Todas la otras muestras son marcadas como « C ». Deben sin embargo satisfacer a las obligaciones legales descritas en A1.7.1. Es evidente que el semen marcado como « C » da poca seguridad en lo que concierne al riesgo de transmisión de enfermedades. En situaciones de urgencia, cuando un

animal determinado debe ser colectado inmediatamente sin otro test o indicación, su semen debe ser calificado como « C ».

Si fuese posible y si hay suficiente material disponible, se harán tests específicos posteriormente. Obviamente, se deberán tomar precauciones particulares en el momento de la utilización de este semen.

Las dosis de semen deben ser claramente identificadas como Grado « C », por ejemplo agregando « GC » al fin del etiquetado normal de la pajueta (ver 5.5.1, Figura 5.3).

5.6.2 Calificación del semen de aves.

Como fue propuesto para los mamíferos, se recomienda clasificar las dosis de semen según el estado sanitario de los donantes.

► Muestra de estado sanitario grado « A »

El semen de aves originarias de criaderos libres de enfermedades de la Lista A de la OIE, que hayan pasado por una estación de cuarentena y hayan sido diagnosticadas libres de esas enfermedades y que han sido colectadas en un CCS aprobado pueden ser calificadas Grado « A ». El semen Grado « A » de mamíferos y de aves puede ser almacenado en la misma habitación pero en diferente termo.

► Muestra de estado sanitario grado « B ».

Las aves que no han pasado por una estación de cuarentena y no han sido colectadas en un CCS aprobado, pero que son diagnosticadas negativas a los tests indicados, pueden ser calificadas como Grado « B » siempre que su criadero de origen esté libre de las enfermedades de la lista A de la OIE. El semen de mamíferos y de aves de la misma categoría puede ser almacenado en la misma habitación.

► **Muestra de estado sanitario calificado « C »**

En todas las otras condiciones de colecta, el semen debe ser calificado como Grado « C ». El semen de los mamíferos y de aves de esta categoría puede también ser almacenado en la misma habitación.

Como precedentemente, esta información debe ser claramente indicada sobre las pajuelas y en los documentos que las acompañan con los mismo códigos que para los mamíferos GA, GB y GC para los grados « A », « B » y « C » respectivamente.

5.6.3 Calificación de los embriones.

Como para el semen, puede ser interesante calificar a los embriones según el estado sanitario de las donantes. La calificación será « A » y « B » solamente.

► **Embriones de estado sanitario grado « A »**

Los embriones calificados Grado « A » deberán ser:

- originarios de donantes que satisfagan las obligaciones descriptas más arriba
- colectados por un equipo aprobado por la FAO el cual tiene
 - experiencia y competencia,
 - sigue las reglas higiénicas establecidas en el manual de la IETS

► Embriones de estado sanitario grado « B »

Los embriones serán calificados Grado « B »:

- cuando no hayan sido colectados por un equipo aprobado por la FAO;
- o, son colectados por un equipo aprobado por la FAO, pero las reglas veterinarias u otras reglas higiénicas no han podido ser seguidas estrictamente.

Tal información debe ser claramente indicada en las pajuelas y sobre los documentos de acompañamiento con los mismos códigos que para el semen, es decir GA y GB para los grados « A » y « B » respectivamente (5.5.1, Fig. 5.4).

5.6.4 Consecuencias de la calificación sobre el almacenamiento.

La gradación del semen y de los embriones tiene consecuencias sobre las instalaciones y los procedimientos de almacenaje.

► Semen.

Las dosis de semen, una vez acondicionadas, son selladas herméticamente y hay muy poco riesgo de diseminación de las enfermedades directamente a partir del semen aunque existe un riesgo limitado proveniente de los termos y durante la manipulación. Por ello es recomendado almacenar las dosis de semen de grados diferentes en habitaciones separadas. Cada habitación debe tener su propio equipo (pinzas, recipientes, etc.) que deben ser claramente marcados y que no deben pasar de una habitación a otra. Los termos, los gobelets y los tubos de plástico deben ser lavados cuidadosamente y desinfectados antes de ser introducidos en una de las habitaciones.

Figura 5.4: Identificación de embriones almacenados

Impresión sobre las pajuelas

Código organismo	Código embrión	Código raza	Código donante
E + 3 n	2 n	2 α	7 n
	8 n	2 n	
	Fecha congelación mes/día/año	Número de termo**	

Impresión para las ampollas o los tubos

Código organismo	E + 3 n
Código embrión*	2 n
Código raza	2 α
Fecha congelación	6 n
Número de termo**	2 n

* Código embrión
estado de desarrollo

- 1 = no fecundado
- 2 = 2-12 células
- 3 = mórula temprana
- 4 = mórula
- 5 = blastocisto temprano
- 6 = blastocisto
- 7 = blastocisto expandido
- 8 = blastocisto protruido
- 9 = blastocisto protruido en expansión

Calidad de los embriones

- 1 = excelente o bueno
- 2 = bueno
- 3 = regular
- 4 = muerto o degenerado

**Número de termo

Para poder distinguir entre termos dentro de una colecta

n = numérico; α = letra

En la práctica se puede suponer que los países en los cuales existe una estructura de IA básica, se almacenará solamente el semen de grados « A » y « B » en tanto que en otros países, sólo se almacenará semen de grados « B » y « C ». Es bastante poco probable que sea necesario almacenar semen « A » y « C » o « A », « B » y « C ». La concepción del CCS debe ser tomada en cuenta (ver A1.5).

Muestras de diferentes países pero del mismo grado sanitario pueden ser conservadas en la misma habitación, pero siempre en termos diferentes.

La cuestión se complica en lo concerniente al almacenaje de los duplicados. No se prevén dificultades para el grado « A », ya que este tipo de semen se puede mover libremente. El semen de grado « B » deberá ser transferido a un país que tenga las mismas condiciones de salud animal que aquellas que prevalecen en el país de origen.

Se prevén más dificultades con las muestras de grado « C » para las cuales será necesario encontrar un país que tenga las mismas condiciones generales (pobres) de salud animal, pero buenas instalaciones, seguras y confiables para el almacenaje y que acepta muestras de esta baja calidad. No se debe esperar que un país que tenga normas sanitarias más elevadas acepte muestras de países con normas más bajas. Esto debe ser tratado por las organizaciones internacionales y por los gobiernos.

El sistema de calificación debería permitir la flexibilidad máxima permitiendo la colecta de todo animal identificado por su singularidad genética, dando el máximo de informaciones para establecer las medidas de seguridad necesarias para evitar la diseminación de enfermedades cuando las muestras sean utilizadas.

► Embriones

Las mismas consideraciones se aplican a los diferentes grados de embriones.

►• 5.7 Tamaño de las muestras a congelar

¿Cuántas dosis de semen y cuantos embriones son necesarios para alcanzar los objetivos fijados?

La cuestión es: cuántas dosis de semen y cuantos embriones es necesario almacenar para realizar la provisión por duplicado para los objetivos resumidos en 5.2.6? Las tasas de éxito previstas han sido mostradas en los Cuadros 5.1 y 5.2 para la criopreservación del semen y de los embriones respectivamente.

Partiendo de estas tasas de éxito, el tamaño de las muestras necesario ha sido indicado en los Cuadros 5.5 y 5.6 respectivamente para el semen y para los embriones. Estos números están basados en simulaciones cuyos principios están indicados en el Anexo 6.

Es útil de hacer algunos comentarios sobre estos números:

- Estos números han sido basados sobre una probabilidad de éxito de 0,9 de lograr los subobjetivos fijados (ver 5.2.1 a 5.2.4) para cada acceso al banco de germoplasma. Esto significa que son necesarias más muestras que la simple multiplicación de las diversas tasas de éxito. El resultado será seguramente una tasa de éxito de 0,5, lo que constituye un retorno sobre la inversión bajo en relación con los esfuerzos hechos para obtener y utilizar las muestras. No sirve de nada recrear una raza sólo para después encontrarse que ella está frente a un severo cuello de botella tanto para los machos como para las hembras desde la primera generación!

- No se recomienda reducir el número de muestras porque se piensa que sería posible obtener tasas de éxito más altas para una raza dada. Es muy improbable que todos los parámetros hayan sido suficientemente bien establecidos para una raza en peligro para justificar desviaciones de los valores estimados.
- El número de dosis de semen necesario supone que las hembras utilizadas tienen suficiente número de camadas como para producir un macho y una hembra sobrevivientes hasta después de la pubertad. Esto evita la dificultad encontrada por Lömker y Simon (1994) donde los números de hembras requeridas en retrocruza para producir un número fijo de crías al final del proceso aumentaba con el número de generaciones de retrocruza.
- Según los informes, los números de dosis requeridas para cada criterio son aproximadamente de 1:5:2:2 para 5.2.1 a 5.2.4 respectivamente, cualquiera sea la especie. Teniendo en cuenta la observación según la cual no es útil almacenar semen a la vez, para recrear y para mantener una raza conservada *in vivo*, las necesidades para la recreación no han sido incluidas en el Cuadro 5.5.
- Los criterios para el número de embriones son difíciles de establecer debido a la variabilidad en el número de embriones colectados y al deseo de asegurar que un número suficiente de padres y de madres esté representado en la muestra congelada. Además es muy costoso asegurar los servicios de un equipo de transferencia aprobado durante un largo período para tratar de obtener un número de embriones dado de cada donante. De esta manera se ha seguido una aproximación en dos etapas:
 1. realizar suficiente cantidad de colectas para obtener embriones como para estar seguro en un 90% que cada conjunto de embriones producirá un total de 12 machos y 12 hembras fértiles;

2. un complemento de colectas (si es verdaderamente necesario hacer más) son después realizadas para tener una seguridad de 90% que un subconjunto de 12 machos y 12 hembras fértiles puede ser identificado después de la recreación, los cuales parecen tener padres seleccionados al azar a partir de cada uno de los padres dadores y de cada una de las madres donantes. Esto significa que la población está, genéticamente, en mejor posición que si los acoplamientos al azar hubiesen producido justo 12 machos y 12 hembras a partir de padres elegidos desde el principio para producir embriones. Es claro que se debe prestar una atención particular después de la recreación para asegurarse que tales subconjuntos son utilizados inteligentemente para producir las próximas generaciones.

Como resultado de estos criterios surge un número de embriones *totales* mínimo a obtener, cualquiera sea el número de colectas, y un número mínimo de colectas por donante.

El Cuadro 5 informa del número necesario de colectas a realizar, asumiendo que se han reunido 20, 25 o 30 animales de cada sexo para la recuperación de embriones. En general es posible utilizar otros números, ya que si se utilizan más padres serán necesarias menos colectas. Sin embargo, el número mínimo de colectas requeridas depende más estrechamente del número mínimo de padres de cada sexo que de su número promedio (por ejemplo, si se usan 10 machos y 30 hembras, el número mínimo de colectas requeridas será mayor que si se utilizan 20 machos y 20 hembras).

Cuadro 5.5. Número de dosis de semen congelado requeridas para la criopreservación de una raza en peligro.

Especie	Dosis/ gestación o huevo eclosionado (a)	Crías/ gestación o serie de posturas	Adulto fértil/recién nacido (b)	Hembra reproductora producida/ gestación o serie de posturas	Dosis de semen congelado necesarias (c)	Necesidades/macho (d)		
						Número de dosis	Número de colectas	Duración (días)
Bovino	2	1	0,85	0,43	10750	538	4	11
Búfalo	5	1	0,75	0,38	30960	1548	26	60
Ovino	1,7	1,3	0,80	0,52	7956	398	10	10
Caprino	1,7	1,8	0,80	0,72	5396	270	9	3
Porcino	24	6	0,90	2,70	24696	1235	25	123
Conejo	2	8	0,80	3,20	2004	100	10	10
Equino	50	1	0,80	0,40	285600	14280	90	208
Gallina	2,3	5,1 (e)	0,85	4,34	6544	327	66	153
Pavo	3,5	5,1 (e)	0,80	4,08	9816	491	123	429
Pato	2,3	5,1 (e)	0,80	4,08	6544	327	82	191

(a) Ver Cuadro 5.2

(b) Incluye la mortalidad perinatal y antes de la pubertad.

(c) Incluye la provisión por duplicado y responde a todos los objetivos fijados en el banco de germoplasma; ver 5.2.

(d) Para 20 machos de fertilidad probada y produciendo semen congelable; supuestamente es el resultado del agrupamiento de 25 machos por test; ver 5.7.

(e) Partiendo de una estimación de un huevo puesto todos los días, durante 4 días, seguidos por 3 días de interrupción en un período de 3 semanas.

Hay una gran variación entre especies en número de pajuelas por inseminación, de una en vacuno a 8 en caballos de acuerdo a la Cuadro 5.2. Las dosis en la columna 'Número de dosis' bajo 'Requerimientos por macho' se definen como número de pajuelas por inseminación.

Cuadro 5.6 Número de dosis de semen para la producción de embriones congelados requeridos para la criopreservación de una raza en peligro

Especie	Número de padres y de madres (a)	Número mínimo total de embriones (b)	Número mínimo de colectas por hembra (c)	Embriones/dosis	Dosis requeridas (d)
Bovino	20,20	206	4	1	320
	25,25	206	3	1	300
	30,30	206	3	1	360
Búfalo	20,20	318	10	1	400
	25,25	318	8	1	400
	30,30	318	7	1	420
Ovino	20,20	516	7	2	350
	25,25	516	6	2	375
	30,30	516	5	2	375
Caprino	20,20	376	4	2	240
	25,25	376	4	2	300
	30,30	376	3	2	270
Conejo	20,20	236	2	8	75
	25,25	236	1	8	50
	30,30	236	1	8	60

- (a) El número de padres y madres que son inicialmente agrupados para la transferencia de embriones; se supone una infertilidad y una no respuesta en el 20% de los animales de los dos sexos y esto es tomado en cuenta. Se recomienda utilizar el mayor número posible de padres.
- (b) Número mínimo de embriones para que, con una probabilidad del 90%, sea posible obtener al menos 12 reproductores de cada sexo después de la transferencia de la mitad de ellos (teniendo en cuenta el almacenado por duplicado). Estos deben ser obtenidos, independientemente del número de colectas.
- (c) Número mínimo de colectas para asegurar una representación adecuada de los padres en los productos vivos. Estas colectas deben ser realizadas cualquiera sea el número de embriones.
- (d) Esto es el producto del número promedio de embriones por colecta, del número mínimo de colectas por hembra y del número de hembras dividido por el número de embriones por dosis.

El 'mínimo número de embriones en total' se derivó usando una función basada en las suposiciones de la Cuadro 5.3, descontando el declinar de las recolecciones subsiguientes. En las aplicaciones hay que tener cuidado en comprobar que las tasas de fertilidad y recuperación de embriones de operaciones repetidas son similares a las realizadas en las especies y condiciones particulares. Si las cifras de los cuadros no pueden obtenerse, debe incrementarse el número de hembras para compensar.

► 5.8 Acceso y utilización

¿Cuales son las reglas para el uso del banco de germoplasma?

5.8.1 Marco legal para el acceso al material almacenado.

Existe una necesidad de ubicar el acceso al banco de germoplasma en un marco que tenga en cuenta la legislación que encuadra a la Convención sobre la Diversidad Biológica y a las actividades comerciales. Esto incluye aspectos tales como la necesidad de tomar en cuenta los derechos del propietario legal y del país de origen sobre el material almacenado en el banco de germoplasma y la directiva de la CBD según la cual los beneficios obtenidos del banco de germoplasma deben ser repartidos. Acceder y utilizar el banco de germoplasma puede conducir a nuevos depósitos de patentes o a aspectos de propiedad intelectual por lo que los principios básicos en relación con la propiedad deben ser definidos.

Dada la duración de vida prevista de los bancos de germoplasma por el uso de la congelación, puede ocurrir que los propietarios de los animales que fueron usados como donantes, o sus herederos, no puedan ser encontrados. Aún en el caso en el que las muestras hayan sido obtenidas por una Asociación de Criadores, la raza puede haber desaparecido posteriormente y de la misma manera la Asociación de Criadores haber dejado de existir. En caso de duda, la propiedad recaerá en el país de origen, como fue establecido por la Convención sobre la Diversidad Biológica. Sin embargo, sería apropiado que la FAO definiese las cláusulas y condiciones generales (o por defecto) sobre los derechos legales asociados con las muestras congeladas para ayudar a la clarificación en este punto, y para incitar a los demás a llegar a un acuerdo antes que surjan los problemas.

5.8.2 Procedimientos para el acceso al material genético.

Una solicitud de acceso al material genético debe pasar por un proceso de evaluación. Este proceso deberá implicar a un genetista de poblaciones y a un biólogo de la reproducción y, si fuese necesario, (por ejemplo en el caso de un programa de mejora genética nacional o en un programa comercial), un agrónomo y un economista. Toda solicitud debe establecer:

- porqué se necesita acceder a los stocks (esto puede requerir información sobre la estructura, tamaño efectivo y desempeño de las poblaciones existentes);
- cuando lo solicitado exista, porqué se solicitan pajuelas con semen o embriones; número de muestras solicitadas;
- la competencia de los técnicos que pondrán en marcha el plan de selección;
- el protocolo para la reposición del stock congelado;
- las oportunidades de identificación de genes mayores (ver 5.2.4, este punto no es esencial, pero es un medio claro de repartir equitativamente los beneficios del banco de germoplasma con los donantes y con los otros países participantes).

Las propuestas a más largo plazo deberán además establecer:

- la compatibilidad del programa propuesto con el Capítulo 4;
- el impacto ambiental previsible de la población (por ejemplo, todo impacto sobre carga animal por hectárea) y la adaptación de la raza al ambiente propuesto;

la aceptabilidad de la población propuesta para las poblaciones humanas a las cuales está dirigido, suponiendo que el proyecto sea exitoso.

Las propuestas que apunten a apoyar la conservación *in vivo* deben también tener en cuenta la factibilidad de la obtención de marcadores de genes recesivos letales que pudiesen segregar.

La justificación para el número de pajuelas o de embriones solicitados o la competencia de los técnicos que harán el trabajo, debe ser presentada haciendo referencia a los parámetros estimados en los Cuadros 5.2 y 5.3 (es decir que si se estima una tasa de éxito de 0,3 para la transferencia de embriones, la experiencia de campo de los técnicos muestra que ellos pueden alcanzar dicha tasa de éxito?) y en que medida están aprobados por alguna instancia involucrada en el programa.

Toda propuesta (comercial o no) deberá recibir el acuerdo del país de origen y el acuerdo sobre la propiedad intelectual, licencias y patentes que pudiesen surgir de la propuesta. Se recomienda que un acuerdo general sea establecido y aceptado por todos los países participantes.

5.8.3 Procedimientos para estudios que sólo utilizan ADN.

El acceso más frecuente a los bancos de germoplasma será seguramente para obtener ADN. En este caso, el objetivo será el de estimular la profundización de los conocimientos. Sin embargo el libre acceso no debe ser contemplado debido a posibles problemas de propiedad que, como se dijo más arriba, podrá tener consecuencias sobre la propiedad intelectual o comercial que podrían provenir del uso del ADN. Para este tipo de acceso, es posible tomar como modelo el servicio de material para dosajes hormonales puesto en marcha en los EEUU por el National Institute for Health (NIH). En este esquema, los diversos materiales biológicos necesarios para los análisis son provistos a los investigadores de buena fe y a un bajo costo. En la primera solicitud de material, al investigador se le requiere proveer un resumen de su CV y algunos detalles sobre el proyecto para

el cual el material será utilizado (incluidos los apoyos financieros). El investigador acepta citar al NIH en toda publicación científica que puede resultar de la utilización de los materiales provistos. Para adaptar esto al contexto presente, el investigador deberá aceptar conformarse a ciertas cláusulas y condiciones que reglamentan toda propiedad intelectual y comercial explotables que provengan de la utilización del ADN, así como citar al propietario y a la FAO en toda publicación. Una vez más, sería deseable que se hiciesen acuerdos sobre condiciones generales (o por defecto) con los países participantes antes de cualquier utilización.

Tal esquema de acceso para el ADN podría ser testado durante tres años y revisado. Esta revisión debería tener como parte de su informe un seguimiento de las solicitudes aceptadas para ver la utilización hecha del material provisto y una evaluación de la tasa de agotamiento de los stocks de ADN y haría las recomendaciones sobre toda modificación necesaria.

5.8.4 Reposición del nivel y mantenimiento de los stocks.

El acceso al banco de germoplasma consumirá el stock de material. Es indispensable tomar en cuenta la reposición del nivel de los stocks cada vez que sea posible. Se puede prever que todas las razas conservadas en el banco habrán avanzado hacia la desaparición y que el reemplazo no será más posible (al menos de idéntica calidad). Por tal razón es necesario que los usuarios repongan el nivel de los stocks en la medida de lo posible.

Cuando los embriones han sido colectados es poco probable que las circunstancias y la economía permitan la colecta de más embriones que los requeridos para la recreación de una pequeña población, duplicado en dos bancos de germoplasma. El hecho que los embriones hayan sido colectados es una muestra de la importancia que se le ha dado a esta raza. Por tal razón, parece justificado que todo

acceso al banco de germoplasma incluya un programa y un presupuesto para la reintroducción del mismo número de embriones en el banco (en un período a definir).

En el caso de las razas recreadas a partir del semen, la reposición del nivel de reservas puede ser exigida después que el estado de retrocruzas apropiado haya sido alcanzado. Cuando el semen es utilizado para la creación de una raza sintética, no se percibe como se podrá reponer el nivel del material genético retirado. La criopreservación de la población sintética podría ser considerada si se percibe que podría fallarse en establecer una población de un tamaño viable, pero convendría hacer un estudio de las razones de este fracaso antes de iniciar la congelación. Si la raza sintética es un éxito, entonces la reposición del nivel puede no ser necesaria.

Cuando el semen es utilizado para apoyar a poblaciones vivas es posible reponer el stock sin problemas. Sin embargo, cuando es indispensable apoyar poblaciones vivas por un aumento de la frecuencia de genes deletéreos en la población, es necesario estar atento para no introducir un gran número de estos genes en el banco de germoplasma en el momento de la reposición. La reconstitución del stock debería llevarse a cabo, entonces, después de la recuperación de la salud de la población.

Dados los objetivos de los bancos de germoplasma, no parece haber *ninguna* justificación para tirar material almacenado por no haber sido solicitado durante largos períodos.

Bibliografía

Bradley, D.G., MacHugh, D.E. Loftus, R.T., Sow, R.S., Hoste, C.H. and Cunningham, E.P. (1994). Zebu-aurine variation in Y chromosomal DNA: a sensitive assay for genetic introgression in West African trypanotolerant cattle populations. *Animal Genetics* 25: 7-12.

Brinster, R.L. and Zimmermann, J.W. (1994). Spermatogenesis following male germ-cell transplantation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91: 11298-11302

Campbell, K.H.S., McWhir, J., Ritchie, W.A. and Wilmut, I. (1996). Sheep cloned by nuclear transfer from cultured cell line. *Nature* 380: 64-66.

Cassou, R. (1964). [The method of plastic straws adapted to the generalisation of freezing.] Vth international congress on animal reproduction and artificial insemination, Trents, IV:, 540-546.

Hill, W.G. (1993). Variation in genetic composition in backcrossing programs. *Journal of Heredity* 84: 212-213.

Office International des Epizooties. (1998). Council Directives 88/407/EEC and 93/60/EEC.

Ollivier L., Renard J.P. 1995. The costs of cryopreservation of animal genetic resources. 46th Annual meeting of EAAP. Prague 4 - 7 September, 1995. 7pp.

Kimura, Y. And Yanagimachi, R. (1995). Development of normal mice from oocytes injected with secondary spermatocyte nuclei. *Biology of Reproduction* 53: 855-862.

Lömker, R. And Simon, D.L. (1994). Costs of inbreeding in conservation strategies for endangered breeds of cattle. *Proceedings of the 5th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*, Guelph. 21: 393-396.

Nagase, H. And Niwa, T. (1964). Deep freezing bull semen in concentrated pellet form. I. Factors affecting survival of spermatozoa. Vth International Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination. Trents, IV: 410-415.

Polge, C., Smith, A.U. and Parkes, A.S. (1949). Revival of spermatozoa after vitrification and dehydration at low temperatures. *Nature* 164: 666.

Rall, W.F. (1992). Cryopreservation of oocytes and embryos: methods and applications. *Animal Reproduction Science* 28: 237-245.

Weitze, K.F. and Petzoldt, R. (1992). Preservation of semen. *Animal Reproduction Science* 28: 229-235.

Whittingham, D.G, Leibo, S.P. and Mazur, P. (1972). Survival of mouse embryos frozen to -196° and -269° c. *Science* 178: 411-414.

Wilmot, I., Schnieke, A.E., McWhir, J., Kind, A.J. and Campbell, K.H.S. (1997). Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature* 385: 810-813.

Woolliams, J.A. (1989). Modifications to MOET nucleus breeding schemes to improve rates of genetic progress and decrease rates of inbreeding in dairy cattle. *Animal Production* 49: 1-14.

▶ 6. Organización, Comunicación y Formación en Conservación

- *Organización*
- *Participantes en proyectos de conservación*
- *Sistemas de seguimiento y de evaluación*
- *Comunicación*
- *Formación*

▶• 6.1 Organización

¿Quién tiene que y quien hace que?

Un programa eficaz de conservación no puede ser bien conducido si los siguientes puntos no son claramente definidos:

- Interés nacional e implicancias de la comunidad;
- Propiedad de los animales y de los productos que de ellos derivan;
- Quien es responsable de los registros y de la selección;
- Propiedad y derechos de acceso a los registros;
- Normas de base para la cría.

6.1.1 Soberanía nacional y beneficio para la comunidad.

La CBD declara que el país de origen posee la soberanía sobre los RGA y por consecuencia, toda acción emprendida por alguno de los participantes en el área de la conservación debe asegurar que esta es conducida en interés del país. Esto puede ser facilitado por la existencia de políticas basadas en los RGA y concebidas para promover un ambiente favorable para las operaciones de conservación de los participantes del sector público o privado. Para el éxito de los programas de conservación se necesitará asegurar que las comunidades

propietarias y asociadas con los RGA percibirán beneficios de los recursos conservados, tanto en el presente como en el futuro.

6.1.2 Propiedad sobre los animales y los productos

La propiedad sobre los animales y los productos en los esquemas de conservación con animales vivos no crea nuevos problemas. Toda comunidad y/o nación tiene una respuesta a este tipo de situación: el hecho que los animales formen parte de un esquema de conservación no es un factor en si mismo. Puede ocurrir que los que mantienen a los animales (personas u organismos) lo hagan por cuenta del gobierno. Es posible que, como una parte del esquema de conservación, los propietarios hayan aceptado ciertas condiciones con terceros (gobiernos, ONG, Asociación de Criadores) y los problemas resultantes de tales acuerdos deben ser tratados según los textos contractuales en vigor. La propiedad puede tener consecuencias importantes sobre las decisiones de selección, el tamaño y la estructura etaria de los rebaños participantes y las oportunidades de «circulación de genes» en la población viva.

La propiedad de las muestras congeladas ha sido tratada en 5.8, pero será repetido aquí. En ciertos casos, el propietario de las muestras puede ser identificado, ya sea un productor individual o una Asociación de Criadores, y en estos casos no hay problemas. Los acuerdos para el acceso a las muestras para su utilización o para renovación del stock, habrán sido hechos en el momento de constitución del stock y continuarán siendo aplicados. En otros casos, la raza puede no existir más bajo la forma de animales vivos o no se puede reencontrar a los propietarios originales: en ese caso se debe aplicar el principio según el cual la propiedad pertenece al país de origen.

6.1.3 Responsabilidades de los registros y de la selección.

Registros y selección son un servicio que el propietario asegura individualmente o, en el marco de un acuerdo, conjuntamente con otros participantes. Se deberá obtener una decisión en lo concerniente al país voluntario y al mejor ubicado para la puesta en marcha de tal proyecto. La prueba de la capacidad técnica es importante.

Buenos sistemas de registros son esenciales para bancos de germoplasma eficaces (de manera tal que el banco sea mantenido correctamente y que las muestras sean localizadas al ser solicitadas). El sistema DAD-IS está desarrollando un banco de datos seguro para uso en el ámbito de los países y para ser usado en el registro y seguimiento de los bancos de germoplasma de RGA.

6.1.4 Propiedad y acceso a los registros.

La propiedad de los registros variará según sean realizados por un agente o por el propietario. En este último caso, la propiedad no crea problemas. En el primer caso, los términos según los cuales un agente puede hacer uso de los registros por su cuenta deben haber sido acordados previamente. A continuación se da un ejemplo en el recuadro.

National Milk Records plc (NMR) es una compañía de control lechero en el Reino Unido. Los criadores pagan al NMR para registrar los desempeños de sus rebaños. Según las cláusulas generales, el productor conserva la propiedad de los registros de sus propios animales y tiene el derecho de utilizar estas informaciones a su gusto, incluido el derecho de cederlos a un tercero. NMR puede hacer pagar al productor por toda salida extra a parte de los informes corrientes. NMR tiene el derecho de utilizar los datos, incluidos servicios pagos dados a terceros, siempre y cuando el rebaño de origen no puede ser identificado.

Los países deberán también clarificar el acceso a los datos sobre los RGA, de la misma manera que ellos consideran las políticas, basándose en el interés nacional, en relación con los propios recursos.

6.1.5 Normas de base para la cría.

Es deseable dejar en claro si deben ser aplicados ciertos principios de base para la cría y ciertas prácticas de manejo. Esto puede ser particularmente importante con los esquemas *in situ* en los cuales debe ser evaluada una adaptación particular. Es posible que las combinaciones de genes en el seno de una raza confiriendo la adaptación no estén fijados en toda la raza o que el beneficio ambiental de la raza derive de prácticas de manejo específicas. Entonces los cambios de manejo interferirán con los objetivos de la conservación. Sería entonces útil que las normas y procedimientos sean precisados como una ayuda para hacer de tal manera que los estándares sean correctamente aplicados y comprendidos.

▶• 6.2 Participación en los proyectos de conservación

¿Que tipo de organismos están implicados en la conservación y que pueden hacer?

6.2.1 Criadores individuales o privados.

Los criadores privados son responsables de los cuidados cotidianos y del mantenimiento de los animales. Pueden ser responsables del registro y del manejo de una gran parte del sistema de conservación. Los criadores controlan también en buena medida el ambiente de la raza. Los criadores individuales pueden proveer informaciones sobre los orígenes de la raza.

6.2.2 Asociaciones de criadores.

Las Asociaciones de Criadores, como las cooperativas de cría y las asociaciones de registros genealógicos, pueden considerar que es de su responsabilidad el mantenimiento de las razas. El apoyo de las Asociaciones de Criadores es necesario para una buena información en las encuestas y para el éxito general de los programas de conservación. En tanto que organizaciones, ellas están claramente interesadas en el bienestar de la raza y en la rentabilidad de sus productos. Ellas pueden ser, en gran medida, responsables del manejo de los esquemas de conservación *in vivo* y pueden organizar la crioconservación. Forman un importante foro para la comunicación, para mantener las informaciones y para preparar los informes regulares para los gobiernos (para ayudar a responder a sus compromisos nacionales e internacionales).

6.2.3 El Estado.

La responsabilidad y el control del conjunto de los programas de conservación de RGA en el seno del gobierno, estarán en general en manos del Ministerio de Agricultura. Ya que la responsabilidad de la diversidad biológica en su conjunto es atribuida a otros ministerios, tales como el Ministerio del Ambiente y Recursos Naturales, será necesario entonces una buena interacción y una estrecha coordinación para realizar eficazmente las políticas, la planificación y las actividades correspondientes. El gobierno actúa en los programas de conservación por medio de partidas presupuestarias, por ejemplo para dar diferentes tipos de incentivos (ver 3.3.6); puede también otorgar mandato a sus granjas estatales para conservar a las razas en riesgo al lado de rebaños comerciales «que rindan» para mantener el patrimonio nacional.

Las universidades y los institutos de investigación, en tanto que organismos públicos, pueden verse involucrados en la conservación de razas en peligro, en el mantenimiento de poblaciones testigo y en objetivos de investigación y enseñanza.

Las otras importantes responsabilidades del estado incluyen el desarrollo de las políticas nacionales (como se describió en 6.1.1 y 6.1.3), la coordinación de las actividades nacionales involucrando a todos los participantes, la promoción de los vínculos y la provisión de los fundamentos de la colaboración regional e internacional.

6.2.4 El Punto Focal Nacional (NFP).

El NFP para los RGA será un participante importante y deberá estar involucrado para facilitar las etapas sucesivas de un proyecto de conservación que van desde la identificación de un proyecto a su ejecución, pasando por su preparación. El NFP tendrá la responsabilidad de desarrollar y mantener una red técnica de expertos para cada especie y cada recurso.

6.2.5 Organizaciones no Gubernamentales (ONG).

Las Organizaciones no Gubernamentales (ONG), pueden estar implicadas en la conservación del ambiente o estar más cerca de los trabajos de campo y son capaces de realizar aproximaciones complementarias de trabajos de conservación más allá de las desarrolladas por las agencias gubernamentales o los organismos de investigación. Son más flexibles y pueden ser capaces de funcionar más eficientemente que las agencias gubernamentales. Las ONG trabajan con las poblaciones en el campo y entonces pueden ayudar eficazmente a los productores a criar razas raras, a estimular la conciencia pública y a coleccionar fondos, a comercializar y promover los productos y a incentivar la conservación de la herencia cultural. Una Asociación de Criadores es una forma de ONG. Naturalmente las ONG

deben haber sido constituidas con el fin de promover la capacidad de conservación a largo plazo.

6.2.6 Zoológicos o granjas museos.

Estos pueden formar parte de los proyectos de conservación, principalmente en los países desarrollados, donde existe una fuerte industria del turismo. Dan una buena posibilidad a los habitantes urbanos de tener algún contacto con el ganado y, en vista de la urbanización creciente, los zoos y las granjas museos pueden incrementar su importancia.

6.2.7 Compañías privadas.

Los seleccionadores privados, las empresas de transformación y los servicios de apoyo a la agricultura pueden llegar a estar más interesados y más implicados en las actividades de conservación (especialmente en el sector de los cerdos y las aves) con el fin de mantener la variabilidad de las razas y la posibilidad de tener fácil acceso a estas razas cuando se produzcan nuevas líneas. Las compañías privadas continúan buscando recursos genéticos adicionales fuera de las compañías y seguramente conservarán material genético prometedor y son responsables de investigaciones que les pueden dar beneficios directos.

Cuadro 6.1: Tipos de organizaciones implicadas en actividades de conservación

Responsabilidades	
Estado	ONG
- Desarrollo de las políticas y de la legislación	- Toma de conciencia pública
- Apoyo financiero y formación	- Colecta de fondos
- Coordinación	- Apoyo técnico a productores
- Investigación y desarrollo	- Mantenimiento de registros
- Toma de conciencia pública	- Comercialización de productos
Compañías privadas	Criadores privados
- Investigación y desarrollo	- Provisión de información sobre las razas
- Apoyo financiero	- Cuidados cotidianos de los animales
- Comercialización de los productos	- Mantenimiento de los estándares

▶• 6.3 Sistemas de seguimiento y evaluación

¿Cual es el seguimiento que hay que realizar de rutina?

El seguimiento y la evaluación de los proyectos son una parte integrante de prácticamente todos los proyectos y agrupa dos áreas principales:

- la administración y las finanzas, lo que dependerá del organismo proveedor de los fondos y el marco;
- la parte científica y técnica.

Se considera que una profunda evaluación regular es de crítica importancia para identificar en forma temprana las debilidades de un programa de conservación y esto permitirá reorientar la situación. Una vez que genes importantes o combinaciones de genes han sido perdidos o

que factores negativos como la consanguinidad se han producido, es mucho más difícil corregir el problema.

Se distinguen dos niveles de seguimiento y evaluación: primeramente los informes, técnicos y administrativos, los cuales revisan los progresos hacia los objetivos acordados, preparados por los organizadores del esquema tanto para uso interno como para uso de los sponsors; y en segundo lugar, misiones de evaluación y revisión, conducidas en nombre de los sponsors por expertos internacionales de renombre, en colaboración con expertos e instituciones nacionales. En los proyectos con financiación internacional, las misiones de evaluación son parte integrante del proyecto.

Es probable que revisiones técnicas e informes de avances deban ser preparados al menos a un ritmo anual para permitir la puesta en marcha oportuna de medidas correctivas y las revisiones de proyectos, a medida que aparece nueva información. El Módulo para los Jefes de Proyecto del DAD-IS ayudará a supervisar la puesta en marcha y las realizaciones de un proyecto de conservación dado y el Módulo para los Bancos de Germoplasma del DAD-IS proveerá herramientas importantes para facilitar el seguimiento y la redacción de informes sobre actividades específicas de criopreservación. La revisión debería incluir tópicos tales como el mérito genético y la consanguinidad como se describió en 4.5.2, pero debería igualmente tomar en cuenta de aspectos más generales tales como la dinámica de la propiedad y el tamaño de los rebaños, condiciones del mercado y tendencias, el desarrollo de los productos y la comercialización. Los resultados de las encuestas (2.7 y 2.8) deberían también ser evaluados.

Un resultado importante de las revisiones debería ser la identificación clara de las tareas y de un calendario para su ejecución. Es necesario definir parámetros medibles para evaluar la puesta en marcha y se deben mencionar puntos de referencia con el fin de facilitar la evaluación. Por ejemplo, esto puede implicar identificar y obtener un cierto número de animales en el núcleo en un tiempo dado; alcanzar la pirámide de edades o el tamaño efectivo de la población en un tiempo dado; estándares de

manejo (por ejemplo tasa de partos) para revelar si se ha alcanzado el nivel de cuidado apropiado de los animales.

Es importante que: (i) estas tareas y estándares estén basados en expectativas razonables definidas por aquellos que cuidan a los animales; (ii) para los esquemas *in situ*, todos los estándares de manejo son los apropiados a la raza y a su ambiente de origen.

►• 6.4 Comunicación

¿Quién debe saber que?

El objetivo general de la comunicación sobre los temas de RGA es hacer tomar conciencia a un gran número de personas/organismos de diferentes medios sobre:

- la importancia de los RGA sobre la producción agrícola;
- la situación actual de los RGA y de las razas en riesgo;
- lo que pasa en el campo del manejo y la conservación de los RGA.

Sin embargo, la necesidad de comunicación no se limita a los temas generales. Cualquier esquema de conservación para una raza dada se beneficiará de los esfuerzos de la Asociación de Criadores o de algún otro colaborador para aumentar la toma de conciencia de los criadores locales, del gobierno y del público en general en lo concerniente a:

- los aportes de la raza local, y su rol cultural y agrícola;
- los progresos del esquema de conservación.

Las Asociaciones de Criadores implicadas en los esquemas de conservación sacarán provecho de un intercambio de informaciones sobre las dificultades, los éxitos y las experiencias con otras

organizaciones conduciendo esquemas idénticos en otras regiones del globo.

Este incremento de la conciencia en relación con los RGA puede tener como consecuencia una implicancia cada vez más activa de diferentes participantes en las actividades y los programas para un mejor manejo de los recursos genéticos de los animales de granja. Hay ya evidencias de un interés incrementado del público por los esfuerzos de conservación con el progreso de la era de la comunicación. UNCED y otras conferencias sobre la protección del ambiente y la biodiversidad han creado y sostenido la toma de conciencia del público sobre el hecho que las razas que han sido creadas en el curso de miles de años y ya forman parte de nuestra cultura y nuestro patrimonio. El importante mensaje sobre la conservación de un gran stock de genes animales para estar en mejores condiciones de responder a los cambios de los sistemas de producción agrícola, impuestos por las evoluciones climáticas y económicas y para responder a la demanda de producción alimenticia de una población en crecimiento continuo, es mejor comprendido y aceptado.

Edificar la conciencia sobre los RGA mundiales incluye: los principios de una gestión sana; la relevancia de los RGA; el estatus de los RGA a nivel mundial; las direcciones estratégicas para un manejo mejorado; la Estrategia Global de la FAO y la CBD.

6.4.1 Audiencias.

Las audiencias a las que se apunta pueden ser divididas en tres grupos estratégicos reflejando los fines y objetivos de la comunicación. Este agrupamiento y las audiencias propiamente dichas son descriptos a continuación:

► Audiencia primaria

Puntos Focales Nacionales (NFP)/Coordinadores Nacionales (NC), potenciales donantes y colaboradores, gobiernos y hacedores de políticas, profesionales científicos y técnicos, ONG, medios masivos;

► Secundaria

Medios especializados, organizaciones internacionales (FAO, CBD, PNUE, IUCN etc.)

► Terciaria

El público en general.

6.4.2 Herramientas de comunicación.

Existe una gran variedad de herramientas de comunicación que pueden ser utilizadas para pasar el mensaje al grupo apuntado y que comprenden:

- documentos en papel como publicaciones científicas en revistas de referencia, artículos en revistas especializadas, informes anuales, kits de informaciones y gran prensa;
- documentos electrónicos (Internet, E- mail, ftp, disquette, CD-ROM);
- conferencias y talleres;
- conferencia virtual.

Las organizaciones internacionales tienen un rol esencial a jugar en su ayuda a los países en sus esfuerzos de comunicación garantizando que, en particular los países en desarrollo, tengan un acceso equitativo a los medios de comunicación. La FAO provee a los países, por DAD-IS, un instrumento avanzado de comunicación que puede ayudarlos en sus esfuerzos de comunicación.

Los NFP coordinan redes a través de países y son el vínculo activo entre el país y el mundo. Además, los NFP tienen como principal responsabilidad hacer de manera tal que las informaciones sobre los RGA en los países sean difundidas

nacional e internacionalmente. Considerando esta carga, es esencial que los recursos humanos del NFP tengan una buena competencia en comunicación y un buen acceso a las herramientas.

►• 6.5 Formación

¿Que conocimiento se requiere?

La CBD en sus artículos 16 a 18 demanda el acceso a las tecnologías y la transferencia de estas (Artículo 16); el intercambio de la información relativa a la conservación, al manejo y a la utilización de la diversidad biológica, incluida la información sobre la investigación, la formación, las encuestas y el saber especializado (Artículo 17); y la cooperación técnica y científica a través, cuando esto sea necesario, de las instituciones internacionales especializadas, con particular atención en la construcción de capacidades (Artículo 18).

El desarrollo de programas de conservación sustentable no es posible si no se combinan con el desarrollo de recursos humanos y la construcción de instituciones. Investigadores y dirigentes bien formados son esenciales para crear la toma de conciencia de los problemas y para la puesta en marcha de los programas de conservación. El Punto Focal Nacional y la red que le está asociada tiene necesidad de entrenamiento en comunicación y en habilidad para hacer presentaciones. Un complemento de actividades de formación podría incluir a los estudiantes, los docentes, los criadores y los administrativos.

La tarea más importante para mejorar a largo plazo los conocimientos sobre los RGA será lograr que todos los aspectos más importantes de la conservación de recursos genéticos animales estén integrados en el programa universitario regular en todo el mundo. Su lugar normal sería en todo curso de Zootecnia, Producción Animal, Agricultura y Zoología. Se debería aportar una visión global, cubriendo a la vez la utilización sustentable y los aspectos de preservación de la conservación. Se debería

poner sobre todo el acento en los aspectos regionales y mundiales de la producción animal, considerando la importancia de los efectos de interacción entre los diferentes genotipos y los diferentes ambientes. Una colaboración más estrecha entre países, desarrollados y menos desarrollados, es sugerida a través de programas de intercambio tanto para los estudiantes como para los docentes (Malmfors et al., 1994).

Será necesario organizar cursos de formación para los administrativos nacionales y los jefes de departamento implicados en la toma de decisiones políticas, los futuros dirigentes y los financiadores de los programas de conservación. Los temas deberían proveer una apreciación de la importancia de los RGA y explicar las principales etapas de la documentación, la conservación y la mejora, tal como se han descrito en las presentes Líneas Directrices.

El primer esfuerzo, sin embargo, debe ser hecho con los estudiantes. En algunos países en desarrollo, como Malasia e India, la genética de la conservación ha sido incluida como uno de los cursos de nivel secundario. En Brasil (Universidad de Brasilia) y en el Reino Unido (Universidad de Edimburgo y en Wye College) la conservación de los RGA es uno de los cursos ofrecidos a los alumnos de M.Sc.

Vangen y Mukherjee (1994) sugirieron que se debería dar un enfoque integrado a la enseñanza de la selección animal y la genética de la conservación en los dos niveles, pre y posgraduación, siendo el nivel de posgrado el más relevante ya que la comprensión de la integración es más elevada en ese nivel. En la enseñanza tradicional de la teoría de la selección animal, se hacen hipótesis que limitan la teoría a las poblaciones de tamaño prácticamente infinito. Es de interés mutuo a estos dos campos desarrollar temas en la teoría de la selección animal que traten particularmente del caso de las pequeñas poblaciones. Los temas que necesitan ser desarrollados en educación son: las medidas de la variación genética, los factores que afectan la variabilidad genética; la elección de razas para los programas de conservación; las medidas de distancias genéticas entre razas; las estrategias de acoplamiento en las pequeñas poblaciones; la estimación de parámetros en pequeñas poblaciones y los efectos de la heterocigosis y la consanguinidad. Es

importante concentrarse sobre la variabilidad de los ambientes de producción y sobre la adaptación de diferentes poblaciones a los ambientes de producción, ya que ellos son de una importancia vital para un desarrollo sustentable.

Según Vangen y Mukherjee (1994), la genética de la conservación ha sido centrada sobre todo en la preservación y el almacenamiento de material genético tal como los animales, el semen, los embriones y el ADN, los cuales son más relevantes para la conservación *ex situ*. Sin embargo, con el énfasis que se da en nuestros días a la forma *in situ* como vía para la conservación, la teoría de la selección animal y en particular la teoría que se refiere a las pequeñas poblaciones son cada vez más importantes para la genética de la conservación. A pesar de ello, es importante poner el acento sobre problemas particulares de la genética de la conservación en la enseñanza de las teorías de selección animal, sin lo cual terminará siendo una disciplina separada más que una parte integrante y relevante de la teoría de selección animal.

6.5.1 Temas a ser enseñados en la educación superior.

Vangen y Mukherjee (1994) y Malmfors et al. (1994) han presentado dos excelentes trabajos en el Simposio sobre la Conservación durante el 5to Congreso Mundial de Genética Aplicada al Ganado que se realizó en Guelph en 1994. Lo que sigue ha sido tomado mayormente de estos dos trabajos.

► Aspectos mundiales de la diversidad genética.

Este tema debería incluir la evolución y la historia de especies y razas domésticas, los conceptos de especie y de raza, las poblaciones animales en diferentes partes del mundo y las tendencias actuales de desarrollo. Los sistemas de cría en diferentes regiones del mundo y las perspectivas y dificultades de las diferentes poblaciones animales en relación con las condiciones ambientales y socioeconómicas.

► **Medidas de la variabilidad genética.**

La teoría de la genética animal utiliza normalmente σ_A^2 como medida de la variabilidad genética. El término expresa la variación en valor genético de caracteres cuantitativos. Este término describe el efecto total de todos los alelos en un cierto carácter. Esta medida de la variedad genética ha sido un parámetro exitoso en los trabajos de selección. La relación de σ_A^2 con otras medidas potenciales debería ser también examinada.

► **Factores que afectan la variabilidad genética.**

La genética de la conservación *in situ* es a menudo una cuestión de selección en las pequeñas poblaciones. Por consiguiente, la enseñanza de los factores que afectan la dinámica de las variaciones genéticas en las pequeñas poblaciones reviste una gran importancia. Los temas como el desequilibrio de encadenamiento (Bulmer, 1976; Dempfle, 1989) inducido por la selección, la variancia genética cambiada a raíz de las modificaciones de la frecuencia de alelos y la variancia genética modificada debido al pequeño número de animales, son todos importantes para la selección en las pequeñas poblaciones. El concepto de tasa de consanguinidad (y entonces del tamaño efectivo de población) y su relación con la dinámica de la variancia genética (y otras medidas) en el curso del tiempo es importante.

► **Estimación de parámetros en las pequeñas poblaciones.**

Los factores que afectan las estimaciones correctas de σ_A^2 y las modificaciones de fórmulas, permiten predecir el progreso genético. Las modificaciones en el significado y la interpretación de las estimaciones, cuando estas son estimadas, están basadas sobre toda la información genética

de los parientes además de la del animal mismo. La estimación de N_e incluye los métodos en los que la información sobre la genealogía es incompleta (por ejemplo Woolliams y Mantysaari, 1994).

► Efecto de la heterocigosis y la consanguinidad

La depresión por consanguinidad es un fenómeno bien establecido en genética animal. Sin embargo hay pocas medidas cuantitativas de este efecto negativo de la consanguinidad (por ejemplo Weiner *et al.* 1994). La heterosis (vigor híbrido) tiene igualmente relevancia en la conservación (como se describe en 3).

► Teoría del riesgo en selección

Las teorías de las contribuciones genéticas (Woolliams y Thompson, 1994) y el impacto de diferentes índices de selección sobre la tasa de consanguinidad, el progreso y la predicción de las respuestas son de una importancia crítica en las pequeñas poblaciones. Como pueden ser empleados diferentes métodos de selección y diferentes sistemas de apareamiento para controlar las tasas de consanguinidad (es decir la pérdida de variabilidad genética).

► Variabilidad de los ambientes de producción.

Las preguntas tradicionales sobre las interacciones genotipo x ambiente son a menudo dejadas de lado en la enseñanza de la genética animal aunque ellas hayan jugado un rol importante en los programas de mejora genética de cerdos y de aves en los países en desarrollo. La variabilidad de los ambientes de producción a escala mundial es mucho mayor de lo que es estimada cuando se discute de las posibilidades de interacción a escala de un país o de una región. Para alcanzar un desarrollo sustentable, la capacidad para adaptarse a un ambiente de producción es importante. Que es lo que

cambia en los caracteres asociados con la adaptación cuando se selecciona en las razas «locales» es una pregunta importante. La arquitectura genética de los caracteres de producción y de los caracteres funcionales en diferentes especies y razas, incluidas la reproducción y la resistencia a las enfermedades, y sus relaciones con la producción en diferentes ambientes, debería también ser tomado en consideración.

► Caracterización y documentación de las poblaciones animales

En todo programa que apunta a la conservación en vistas de un uso futuro, la caracterización y la documentación de un material almacenado es extremadamente importante. Es necesario conocer la distribución y los detalles de los caracteres en relación con los ambientes definidos. Es también importante saber como organizar y utilizar los bancos de datos y los descriptores, así como seguir los cambios poblacionales y medir las distancias genéticas entre razas (ver el documento secundario sobre la caracterización de los RGA).

► Métodos para la conservación de los recursos genéticos animales

1. Conservación *in situ*; estrategias de selección para las poblaciones animales en riesgo que sufren pocos o ningún cambio genético cuando la deriva genética es un problema serio provocando la pérdida de genes (por ejemplo Haley, 1994); estructura física de las poblaciones de selección.
2. Conservación *ex situ, in vivo* y criopreservación, es decir almacenado de semen, embriones, ovocitos, cultivo de células o ADN en forma congelada, incluyendo objetivos, métodos de colecta, tamaño de las muestras necesarias y mantenimiento de los registros.

► **Bioteecnologías de la reproducción.**

La formación en biotecnología de la reproducción permitirá a los países emprender en forma independiente programas para la conservación *ex situ*. Además esto permitirá, por transferencia de tecnologías, sacar provecho del desarrollo rápido en el área de las biotecnologías avanzadas en los países desarrollados.

► **Comercio internacional de material genético.**

Con la necesidad de conservar el material genético para el futuro, aparece la importancia de conocer y tomar en cuenta los desarrollos internacionales en el comercio del material genético.

► **Obstáculos para la conservación.**

Aunque las técnicas para la conservación hayan estado disponibles desde hace decenios, la actividad de conservación es pobre. Es importante comprender los obstáculos a la realización de toda suerte de programas de conservación eficaces y las formas de poder resolverlos.

6.5.2 Formación de productores y de técnicos de vulgarización.

Se deben prever fondos para la organización regular de cursos cortos sobre temas que se relacionan con la conservación de los RGA dirigidos a productores y técnicos de vulgarización a raíz de su rol crítico en las actividades de conservación a escala local. Una atención particular se debe dar a la evaluación imparcial y completa de las razas locales y de sus características de producción en el sistema de producción y en el ambiente dominante. Esto contribuirá a una mayor aceptación de la conservación de las razas indígenas (ver capítulos 2 y 3 en los cuales la importancia de esto se discute en detalle).

Bibliografía

Bulmer, M.G. (1971). The effect of selection on genetic variability. *American Naturalist* 105: 201-221.

Dempfle, L. (1989). Evolution of inbreeding, additive genetic variance and genetic progress in small nucleus breeding programs. 40th annual meeting EAAP, Dublin, 1989, 4pp.

Malmfors, B., Philipsson, J. And Haile-Mariam, M. (1994). Education and training in the conservation of domestic animal diversity - student needs and field experience. *Proceedings of the 5th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*. Guelph, 21: 485-492.

Vangen, O. And Mukherjee, T. (1994). Conceptual approach to integrating education in animal breeding and in conservation genetics. *Proceedings of the 5th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*. Guelph, 21: 477-484.

Wiener, G., Lee, G.J. and Woolliams, J.A. (1994). Consequences of inbreeding for financial returns from sheep. *Animal Production* 59: 245-249.

Woolliams, J.A. and Mäntysaari, E.A. (1995). Genetic contributions of Finnish Ayrshire bulls over four generations. *Animal Science* 61: 177-187.

Woolliams, J.A. and Thompson, R. (1994). A theory of genetic contributions. *Proceedings of the 5th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*. Guelph, 19: 127-133.

▶ 7. Comentarios Finales

- *Un resumen de las Líneas Directrices*
- *Revisión*

▶• 7.1 Un resumen de las líneas directrices

¿Cuales son los temas principales?

Estas Líneas Directrices marcan la importancia de los objetivos de la conservación de los recursos genéticos de origen animal. Los objetivos no son conservar como un fin en si mismo sino para el logro de beneficios de tipo económico, ambiental, científico, social y cultural a partir de las razas conservadas. Más aún, la actividad de conservación juega un importante rol en la disminución de los riesgos evitando la dependencia del uso de unas pocas razas.

Se ha hecho un manual “paso a paso” para ayudar a los países intervinientes en la planificación y la acción para conservar estas razas consideradas como siendo el potencial para futuros aportes:

- La primera fase fue evaluar la situación actual de las razas por censos y encuestas, Estos revelan la dinámica de población de las razas en cada agroecosistema y ayuda en las decisiones de definir a las razas en riesgo.
- La información obtenida en la primera etapa es esencial para la segunda, la cual ayuda a decidir cuales razas serán conservadas y con que estrategia. Es enfáticamente recomendado dar preferencia a la conservación *in-situ* y que la criopreservación sea realizada sólo después de haber agotado todas las demás alternativas de conservación. La conservación *in-situ* tiene la ventaja de no requerir más que de tecnologías simples para ser puesta en marcha y permite a los animales adaptarse a los cambios de las condiciones ambientales y a las

enfermedades así como permitir una inmediata disponibilidad de los animales en caso de tener que expandir su uso.

- Un componente de la segunda etapa que debe ser tenido en cuenta en la toma de decisión es construir un diseño técnico para las estrategias de conservación; determinando cuantos animales, como deben ser manejados y (en la criopreservación) cuantas muestras deben tomarse. La principal diferencia existente es entre las estrategias de conservación *in vivo* y de criopreservación, que han sido examinadas separadamente.
- La tercera etapa, la cual debe ser conducida en paralelo con la segunda, es la elaboración de un sólido plan para las actividades de organización, comunicación y entrenamiento. Esto involucra también los derechos de propiedad y las responsabilidades de los participantes: productores privados, Estado, ONG y compañías privadas.
- La cuarta etapa es poner en marcha el plan!

Es posible que la conservación organizada de una raza dada no vaya más allá de la segunda etapa, ya que es poco probable que las finanzas y la economía permitan la conservación de todas las razas. Es entonces donde se deberá realizar una elección entre las razas. Se espera que el proceso descrito aquí optimizará las probabilidades de conservar con éxito cualquier raza y ayudará a hacer buena elección de la misma. La naturaleza lógica, paso a paso, de estas Líneas Directrices debería también ayudar a escribir propuestas de proyectos bien fundamentadas y coherentes que tendrán entonces las máximas posibilidades de obtener apoyos de los sponsors.

►• 7.2 Revisión

¿Esta es la última palabra?

No! Las Líneas Directrices han sido concebidas en forma suficientemente general como para cubrir a todas las especies de ganado y todos los objetivos y opciones de conservación. Sin embargo, la implementación de un programa de conservación variará ampliamente de caso en caso y estas líneas directrices servirán solamente como un manual para la planificación más que como un patrón para su implementación. Su naturaleza generalista puede dejar de lado puntos importantes para conservar una raza de una especie en particular, lo cual puede tener gran relevancia. Tales consideraciones deberían ser comunicadas a la FAO.

Estas Líneas Directrices deberían ser vistas como la versión más reciente de un manual sobre como trabajar en el manejo de recursos genéticos animales en riesgo. A medida que se acumulen informaciones sobre la conservación de los RGA, las ayudas para la decisión serán mejoradas. Es por ello que estas Líneas Directrices *serán actualizadas* periódicamente.

► Anexo 1 Controles y Reglamentos Sanitarios para la Colecta y el Almacenamiento del Semen

- *Aspectos generales de la congelación del semen.*
- *La estación de cuarentena.*
- *El Centro de colecta de semen: generalidades.*
- *El centro de colecta de semen: unidad de acondicionamiento y almacenado.*
- *Aprobación de las instalaciones y el personal.*
- *Aspectos especiales de los programas de conservación*

En los programas comerciales de transferencia de embriones y de inseminación artificial, se debe tener un cuidado particular para evitar la transmisión de enfermedades. Esto es particularmente importante cuando estas técnicas son utilizadas en el marco de un programa de conservación en el que semen y embriones serán utilizados después de varios años de almacenado.

La congelación del semen es posible en los asnos, los bovinos, los búfalos, los camellos, los equinos, los caprinos, los ovinos y los porcinos. En las especies avícolas, la técnica no está tan difundida: ella funciona bien y es muy utilizada para los pavos y también puede ser utilizada para los patos, pintadas y gallinas (*gallus domesticus*).

El texto que sigue repasa los procedimientos para las especies de mamíferos y, las diferencias entre mamíferos y especies avícolas, son ilustradas en los recuadros. Al comienzo, se describen las normas de vigilancia más estrictas pero, considerando que en ciertos programas de conservación estas normas no serán accesibles, se proponen condiciones menos estrictas (con las consecuencias que esto puede tener).

►• A1.1 Aspectos generales de la congelación de semen

¿Cuales son los principios básicos?

La necesidad de colectar un semen libre de enfermedades y de evitar la contaminación de los animales inseminados será satisfecha si el semen es colectado:

- en un centro aprobado;
- de forma higiénica por personal formado técnicamente y experimentado;
- con un control total del estado sanitario de los machos donantes;

Estas exigencias están detalladas en el Código de Salud animal de la OIE, Apéndices 4.2.1.1, 4.2.1.2, 4.2.2.1 y 4.2.2.2. A continuación se mencionan los aspectos centrales que deben ser respetados:

- control preliminar del estado de salud de los donantes a través de un período de cuarentena para asegurarse que sólo los machos con el estado sanitario exigido entran al Centro de Colecta de Semen (CCS).
- un CCS correctamente estructurado.
- un control contínuo del estado sanitario de los machos durante el período de colecta.
- un manejo apropiado de los animales donantes.
- correcto procedimiento para la colecta, dilución y manipulación del semen a nivel del laboratorio.
- almacenado apropiado (para detalles ver 5.5)

Principios para las especies avícolas

Las reglas sanitarias para el semen de aves siguen la misma lógica que las de mamíferos, es decir producir semen libre de enfermedades que puedan ser transmitidas a otras hembras en el momento de la inseminación artificial. Los resultados de investigación disponibles son raros comparados con los de los mamíferos. Se recomienda entonces seguir las directivas de la OIE en lo concerniente a los intercambios de animales o gametas, sección 1.5 del Código Internacional de Salud Animal.

El control veterinario debe ser efectivo en tres niveles:

- criadero de origen,
- estación de cuarentena,
- Centro de Colecta de Semen.

La aprobación veterinaria comienza en el criadero de origen: (i) las aves deben provenir de criaderos libres de las dos principales enfermedades enumeradas de la lista de enfermedades de tipo A de la OIE, que son la peste aviar y la enfermedad de Newcastle; (ii) además, los animales retenidos deben tener buena salud y sin infecciones agudas para ninguna de las 13 enfermedades de la lista B la OIE.

►• A1.2 La estación de cuarentena

¿Cuales son sus especificaciones y que procedimientos se aplican en ella?

La estación de cuarentena se considera la “interface” entre el (los) rebaño (s) de origen y la unidad del CCS. Funciona como una estructura reconocida de aislamiento antes de la entrada al CCS y por ello debe ser aprobada oficialmente por las autoridades veterinarias locales. Se debe prever una estación de cuarentena exclusivamente para la colecta de semen.

A1.2.1 Condiciones para la aprobación de las instalaciones.

El principio de una estación de cuarentena se apoya en:

- debe ser alambrada y protegida para impedir el acceso a otros animales. Se permitirá el acceso solamente al personal que trabaja en esa unidad, como los cuidadores de los animales y el personal del laboratorio.
- la introducción de animales en la estación de cuarentena debería ser hecha de preferencia de una vez (de la misma manera que la salida) para permitir la limpieza y la desinfección entre dos lotes. Si esto no es posible y que los animales entran continuamente, el período de cuarentena comienza con la entrada del *último* animal en la unidad.
- sólo el personal autorizado tiene derecho a entrar, y esto se debe hacer por una habitación donde se cambian las ropas y calzados para evitar la introducción de agentes patógenos del exterior de la unidad.
- la estación de cuarentena no debe ubicarse en una zona donde existan las enfermedades de la lista A, tal como lo establece el Código Internacional de Salud Animal de la OIE (ver la definición de las zonas de protección según las enfermedades, en el código de la OIE, por ejemplo un radio de 10 km para la fiebre aftosa).
- todos los animales deben quedarse en la estación de cuarentena durante 30 días, durante los cuales se realizan los diagnósticos veterinarios y los muestreos correspondientes (ver Sección A1.2.2).

La aprobación de una estación de cuarentena por las autoridades veterinarias oficiales debe estar fundamentada en las condiciones mencionadas más arriba.

A1.2.2 Control sanitario.

Inmediatamente después de haber entrado en una estación de cuarentena, todos los animales deben ser controlados para las enfermedades indicadas en el Cuadro A1.1. Un segundo test se deberá hacer poco tiempo antes de transferir los animales hacia el CCS. Es responsabilidad de las autoridades veterinarias agregar otras enfermedades para controlar si la situación local así lo indica, por ejemplo, en ciertas zonas podría ser justificado evaluar también a los rumiantes por Lengua Azul. Todo animal debe ser diagnosticado negativamente dos veces antes de ser transferido hacia la CCS.

Dos consecuencias suplementarias derivan de este procedimiento:

- cada vez que sea factible, los animales deberían pasar por un test preliminar antes de entrar en la estación de cuarentena para evitar la contaminación de los animales que ya están en la estación.
- los animales que son diagnosticados positivos deben ser eliminados sin pérdida de tiempo y el período de cuarentena *recomienza de día cero*. Todos los otros animales presentes en la estación de cuarentena deben ser evaluados de nuevo, una vez, para asegurarse que no se produjo ninguna infección.

A1.2.3 Amansamiento y aprendizaje de los animales.

Se recomienda aprovechar del período de cuarentena para amansar a los animales y entrenarlos a la rutina de colecta que seguirán en el CCS. El amansamiento es particularmente indicado para los animales que vienen del pastoreo en libertad y que tenían poco contacto con el hombre. Un período de aprendizaje también tendrá un efecto positivo

sobre la manipulación y la producción de semen cuando los animales hayan sido transferidos al CCS.

La colecta de semen debería realizarse con vagina artificial (VA). Después de un corto período de aprendizaje, la mayor parte de los machos aceptan la VA. La electroeyaculación debería limitarse a casos muy excepcionales debido a la mala calidad de los eyaculados obtenidos y por razones de bienestar animal.

Hay que aprovechar del período de cuarentena para habituar a los machos la rutina de colecta y para evaluar la calidad de semen por su espermograma de manera que se pueda comenzar inmediatamente a producir semen para las necesidades de almacenamiento desde que los animales entran al CCS.

Cuadro A1.1 Lista mínima de enfermedades para las cuales los machos de las especies de mamíferos deben haber sido testados antes de la colecta de semen.

	Tub	Bruc	Trich	Campyl	Bruc. Ovis	Hog Chol	Fiebre porcina africana	Pseudo Rabia	African Horse Sickness	C. Equ. Metritis
Asno									+	+
Bovino	+	+	+	+						
Búfalo	+	+	+	+						
Camello	+	+								
Cabra	+	+								
Caballo									+	+
Ovino	+	+			+					
Cerdo		+?				+	+	+		

Tub = Tuberculosis, Bruc= Brucelosis, Trich. = Trichomoniasis, Campyl. = Campylobacteriosis, Bruc. Ovis = Brucelosis, epididimitis contagiosa, Hog Chol = Peste porcina, Pseudo Rabies = Pseudo rabia, enfermedad de Aujzesky, C. Equ Metritis = Metritis contagiosa equina.

A1.2.4 Movimiento de animales.

Una vez que el período de tests y de cuarentena termina de forma satisfactoria, los animales deben ser transferidos *directamente* al CCS. El transporte debe ser hecho en camiones apropiados y correctamente desinfectados, evitando todo contacto con otros animales.

Cuarentena para las especies avícolas.

Las aves seleccionadas deben ser colocadas en una estación de cuarentena. El período de cuarentena comienza cuando la última ave entra en la estación y dura al menos 30 días. Durante este período los animales son testados sobre las enfermedades de la lista A y al menos, para las cepas patógenas de Salmonella y de Mycoplasmas. La colecta de semen de rutina puede comenzar después de 30 días y cuando los animales en la estación de cuarentena hayan sido diagnosticados negativos para esos agentes patógenos.

En la eventualidad en que algunos animales particulares, debido a la rareza de su genotipo, deben ser colectadas aunque sean positivas a alguna de esas enfermedades, deben ser puestas en un sitio diferente para la colecta de semen y las dosis de semen colectadas deben ser claramente identificadas según el sistema de clasificación específico puesto en marcha (ver A1.7).

►• A1.3 El Centro de Colecta de Semen: generalidades

¿Que es un centro de colecta de semen?

Como para la estación de cuarentena, el CCS no debe ser utilizado más que para la producción de semen. Debe estar alambrado y se debe hacer lo necesario para evitar la introducción de agentes patógenos en el centro (previando disposiciones materiales y baños de desinfección, etc.). Se debe prestar particular atención a la introducción de alimentos u otras provisiones en el CCS para evitar la introducción de agentes patógenos.

Los movimientos de personal deben ser limitados únicamente a las personas autorizadas y se deberán tomar precauciones particulares. Los movimientos de animales, de mercaderías y de personas deben ser

controlados y registrados y se deberán limitar al mínimo estrictamente necesario.

Sólo los machos destinados a la colecta de semen que pasaron de forma satisfactoria el período de cuarentena son admitidos en el CCS. Cualquier otro animal que pudiese a título excepcional ser mantenido en un CCS debe responder a las mismas exigencias de la cuarentena. Si por una u otra razón la cuarentena no es posible y los machos deben ser todos reunidos, la calificación de todos será automáticamente la del macho de menor calificación dentro del grupo (grados “B” o “C”, ver calificación de los donantes en este anexo).

Está aprobado internacionalmente que los CCS deben ser divididos en tres unidades diferentes, que pueden ser adyacentes, siempre que se tomen las medidas apropiadas para evitar los movimientos de una unidad a otra sin tomar las precauciones necesarias (un modelo de CCS ha sido dado por Thibier, 1993). Estas tres unidades son:

- alojamiento de animales y sala de colecta de semen;
- unidad de manipulación y almacenaje de semen (se recomienda también separar estas dos unidades aunque el procedimiento para su acceso sea el mismo);
- administración y oficinas que tendrán libre acceso.

Idealmente, cada unidad es independiente y no es accesible más que para el personal que está afectado a ella.

El Centro de Colecta de Semen (CCS) debe estar oficialmente aprobado y sometido a inspecciones regulares, al menos dos veces por año, por la autoridad veterinaria oficial.

Las reglas para la manipulación y el tratamiento del semen de aves no están tan desarrolladas como las de los mamíferos, y deberían seguirse las indicadas arriba para el semen de estos últimos.

►• **A1.4 El Centro de Colecta de Semen: alojamiento de los animales y sala de colecta.**

¿Cómo están concebidos y que procedimientos se deben llevar a cabo?

A1.4.1 Alojamiento de animales:

Para asegurar la producción de semen de calidad, los futuros donantes requieren una alimentación especial de calidad equilibrada, con una atención particular para los oligoelementos y las vitaminas. La preparación para la colecta de semen impone que el animal esté perfectamente limpio y seco para evitar la contaminación del semen durante la colecta. Esto impone los frecuentes cambios de la paja de la cama, cepillados regulares y si fuese necesario, duchas y secados regulares. Los pelos, particularmente alrededor del prepucio, deben ser mantenidos razonablemente cortos para evitar la adherencia de tierra o de otras suciedades. Se recomienda un mantenimiento regular de las pezuñas y el ejercicio cotidiano.

A1.4.2 La sala de colecta.

La sala de colecta debe ser espaciosa y consagrada exclusivamente a la realización de colectas de semen. Por ejemplo para los toros, una forma hexagonal con 10 metros por cada pared es una medida apropiada (tomar los consejos de la FAO para las mejores prácticas en las otras especies). Según las condiciones climáticas, puede ser abierta pero debe estar siempre cubierta para proteger del sol directo o la lluvia. La calidad y el tipo de suelo son de extrema importancia. Debe ser fácil de limpiar y desinfectar por razones de higiene y no debe ser resbaladizo ya que los toros, por ejemplo, se niegan a montar si no tienen un apoyo sólido. La arena, por ejemplo, no conviene ya que es difícil de desinfectar y susceptible de ser proyectada durante la

colecta contaminando así la vagina atificial (VA), en tanto que el cemento puede ser resbaladizo si se lava muy a menudo, etc. Se debería incluir una o dos estacas, postes o anillas para atar a los machos que van a saltar y a aquellos que están en espera.

La VA debe ser preparada en una pieza separada pero adyacente a esta subunidad del CCS y llevada al lugar de colecta. Esta habitación también debe estar equipada para limpiar, esterilizar y recalentar a las VA. Es preferible que la colecta sea realizada siempre por el mismo operador que conoce bien los hábitos de cada macho.

Los eyaculados colectados deben estar protegidos contra el choque térmico (frío) y son transferidos por un pasa platos al laboratorio de tratamiento del semen (ver A1.6). Esta es la única comunicación semiabierta entre la sala de monta y el laboratorio. Las ventanas deben ser corredizas para no aspirar demasiado polvo cuando son abiertas.

Se tomará fecha de colecta, identificación del donante y detalles pertinentes concernientes al eyaculado que acompañarán al semen desde la colecta al almacenado y después será archivado. En los centros modernos, es deseable el almacenaje electrónico de los datos como complemento de los archivos en papel.

Si los animales donantes no han podido ser entrenados en la estación de cuarentena y los espermogramas no han sido realizados, estos procedimientos deben preceder a la colecta de semen de rutina (ver A1.2.4).

A1.4.3 Control del estado de salud durante el período de colecta.

Es imperativo que los machos en un CCS estén bajo control veterinario permanente. Además de los exámenes clínicos obligatorios a la colecta, se deben hacer los siguientes exámenes y controles al menos dos veces por año:

- examen clínico, particularmente de los órganos genitales;
- examen microscópico del semen y búsqueda de presencia de células somáticas; en casos de anomalías, se hará un análisis micobacteriano cuali- cuantitativo;
- diagnósticos, según la especie y la situación sanitaria, de acuerdo con las recomendaciones del Código de la OIE.

En lo concerniente a los diagnósticos, se requiere lo siguiente:

▶ **Bovinos**

Test de tuberculina intradérmica; test serológico para brucelosis; (si hace falta) test serológico para Lengua Azul; tests para *Campylobacter* y *trichomonas*, ya sea directamente bajo microscopio o por cultivo de los microorganismos a partir del lavado del prepucio;

▶ **Pequeños rumiantes**

Test serológico para brucelosis (*Br. melitensis*); test intradérmico de tuberculina únicamente para los machos cabríos; test serológico y cultivo de semen para brucelosis (*Br. ovis*) para carneros únicamente;

▶ **Porcinos**

Test de tuberculina intradérmica; test serológico para brucelosis (*Br. suis*); tests serológicos para la peste porcina, peste africana y enfermedad vesicular porcina;

► Equinos

Tests serológicos para la anemia infecciosa, African Horse Sickness, artritis viral equina; test en cultivos para la metritis contagiosa equina.

Cuando uno sólo de los tests indicados arriba sea positivo, el animal involucrado debe ser aislado y eliminado lo antes posible del centro; el semen colectado después del último examen negativo debe ser almacenado aparte hasta un examen ulterior realizado por los laboratorios veterinarios oficiales. Después del examen de todos los animales, la colecta de semen puede recomenzar.

►• A1.5 El Centro de Colecta de Semen: Unidad de Procesamiento y Almacenado.

¿Cómo está concebida y que procedimientos se siguen en ella?

La unidad de procesamiento y almacenado debe tener su propia entrada con su compartimiento para el personal afectado. El personal de esta unidad no trabaja en otra parte. La admisión no es posible sin cambio de vestimentas. Esta unidad tiene cuatro habitaciones principales:

- laboratorio de procesamiento del semen
- pieza de lavado y desinfección de los materiales en uso
- pieza de prealmacenado del semen
- pieza de almacenado del semen

La concepción de la unidad de procesado y almacenado debe ser realizada después de haber tomado en cuenta lo descrito en A1.7 más abajo.

A1.5.1 Laboratorio de procesamiento del semen.

Está asociado a la sala de colecta por el pasa plato por el cual el semen proveniente de la sala de colecta es pasado al laboratorio de procesado.

El laboratorio debe estar bien iluminado aunque se debe evitar la luz directa del sol. El mobiliario, paredes y suelos deben ser fáciles de lavar y desinfectar. El lavado y desinfección regulares son obligatorios (al menos una vez al día).

El nivel de equipamiento debe corresponder al número de dosis procesadas en promedio por día. En el mercado se encuentra una amplia gama de material desde el más simple y manual, si sólo se colectan unos pocos toros y se producen algunas centenas de dosis de semen por día, hasta máquinas sofisticadas y enteramente automáticas, controladas por computadoras para imprimir, llenar y sellar las pajuelas cuando se hacen más de 10000 dosis por día.

El personal debe ser competente y bien formado. Debe estar bajo la supervisión y responsabilidad de un veterinario.

A1.5.2 Sala de lavado y de desinfección del material.

Adyacente al laboratorio, sirve para lavar el material utilizado durante el procesamiento del semen. Se debe disponer de agua deionizada para enjuagar los materiales así como una estufa de esterilización para el vidrio y un autoclave para esterilizar las otras piezas que no puedan ser pasadas por un horno.

Esta pieza puede también servir para almacenar provisoriamente a los componentes utilizados para la dilución del semen.

A1.5.3 Sala de prealmacenado del semen.

Debe ser utilizada para congelar y almacenar el semen hasta que se hayan realizado los tests biológicos correspondientes y que hayan pasado los 30 días sin enfermedad en el donante. El semen será pasado a la pieza de almacenado final sólo si muestra cualidades satisfactorias a la descongelación y si no se ha producido ninguna enfermedad en los animales donantes en los 30 días siguientes a la colecta.

Es a la vez seguro y eficaz almacenar en un termo de nitrógeno líquido todas las dosis preparadas en el curso de un mes dado durante un mes entero y al final de ese mes, transportar todas las dosis a la pieza de almacenado. Esto evita una eventual contaminación de todo el semen por un lote que después se encuentre defectuoso. Por ejemplo, las dosis colectadas en junio son almacenadas todas juntas y guardadas durante todo el mes de julio antes de ser transferidas hacia la pieza de almacenado; las dosis colectadas en julio serán guardadas en otro termo. Tener en cuenta que esto requiere de dos juegos de termos: uno para las dosis colectadas en enero, marzo, etc. y otro para febrero, abril, etc.

A1.5.4 Sala de almacenado del semen.

La pieza para el almacenado final del semen puede ser una pieza adyacente que debe estar cerrada con llave o en otro edificio. El acceso a esta pieza está limitado al personal autorizado únicamente y la pieza debe estar permanentemente cerrada con llave. Se necesita una vigilancia regular de los termos para verificar el nivel de nitrógeno líquido. Los centros de IA modernos tienen un sistema de alarma cuando los niveles de nitrógeno líquido están por debajo del nivel considerado crítico.

Centro de colecta de semen para las especies avícolas.

Después que las aves han terminado con éxito el período de cuarentena, pueden ser transferidos al CCS, o la estación de cuarentena puede ser declarada CCS, si no se introduce ningún animal posteriormente.

Las reglas para la manipulación y el tratamiento del semen de aves no están tan desarrolladas como las de mamíferos. Sin embargo se aplican algunas reglas de base:

- todas las manipulaciones se deben hacer de forma higiénica en un ambiente perfectamente limpio;
- las manipulaciones deben ser hechas por personal formado, con el equipamiento apropiado;
- las instalaciones deben ser concebidas para ser fácilmente lavadas y desinfectadas;
- se debe observar una separación física de las diferentes unidades (establos, colecta de semen, procesamiento y almacenado, administración), parecida a la que ha sido descrita para los mamíferos;
- el acceso a las diferentes unidades está limitado a las personas autorizadas;
- el semen de la pieza de prealmacenado no puede ser llevado a la pieza de almacenado final hasta 30 días más tarde, a condición que no aparezca ninguna enfermedad durante este período;
- se recomienda utilizar el mismo etiquetado de las pajuelas que el propuesto para los mamíferos.

Estación de cuarentena y CCS deben estar aprobados oficialmente por las autoridades veterinarias locales y después, aprobado por la FAO ya que es parte oficial del programa. Las condiciones para tal aprobación siguen las mismas reglas que las indicadas previamente para los mamíferos.

►• A1.6 Acreditación de las instalaciones y del personal

¿Quién otorga la acreditación oficial internacional?

La calidad de las instalaciones para la colecta, el procesamiento y el almacenaje del semen así como la manipulación de los animales y las muestras, son decisivos. Los futuros usuarios deben estar seguros que las muestras han sido colectadas, tratadas y almacenadas según las

condiciones indicadas precedentemente y que las informaciones provistas son correctas. Para dar una credibilidad total al sistema propuesto, se considera necesario obtener una acreditación oficial, si no existe ya una como por ejemplo en la UE. Esto debe ser hecho por una organización que tenga la calificación requerida y que sea internacionalmente reconocida. La instancia de acreditación crea una pesada responsabilidad.

Esta acreditación oficial debe estar basada en un informe detallado de las autoridades veterinarias nacionales describiendo las instalaciones y el modo de funcionamiento, incluido el personal involucrado. El país debe respetar las recomendaciones de la OIE en lo concerniente a la notificación de las enfermedades, así como los reglamentos para el control sanitario. Puede ser necesaria una visita al lugar para verificar que las condiciones son cumplidas, sobre todo si los informes no son totalmente satisfactorios. Tal acreditación es uno de los puntos clave de la futura clasificación sanitaria del semen, tal como se describe más adelante y por consecuencia, para una aceptación generalizada del semen para una utilización futura. Además, los tests diagnósticos que se realizarán deberán seguir las recomendaciones del Manual de Diagnóstico de la OIE, y este tipo de informaciones debe ser indicada en el informe de acreditación.

►• A1.7 Aspectos particulares de los programas de conservación

¿Que se puede hacer si las condiciones precedentes son difíciles de cumplir?

En los programas de conservación, y especialmente en los países en desarrollo, se debe llegar a soluciones de compromiso sobre las condiciones, particularmente:

- cuando un individuo dado ha sido elegido porque es uno de los últimos representantes de una raza, o por sus características únicas y sin embargo no responde a los criterios sanitarios;
- cuando las instalaciones correspondientes (estación de cuarentena y CCS) faltan en el país o en las proximidades del animal donante.

Para responder a esto la FAO recomienda lo siguiente:

- *Exigencias obligatorias*, debiendo ser satisfechas por todo animal donante y que toma en cuenta el estado clínico del donante y las condiciones ambientales en el momento de la colecta de semen;
- *Tests sanitarios individuales* para verificar que los donantes están libres de agentes patógenos, especialmente aquellos que son transmitidos por el semen;
- *Clasificación de los donantes y del semen* de A a C para cada animal teniendo en cuenta el estado sanitario del animal y de su ambiente.

A1.7.1 Exigencias obligatorias.

Todo donante de semen debe ser examinado clínicamente un día antes y justo antes de llevar al animal a la sala de colecta, para verificar que no haya signos clínicos de enfermedades. Esto debe ser hecho por un veterinario y certificado en un formulario apropiado. Simultáneamente, ninguna enfermedad infecciosa se debe haber producido en el centro en el curso de los últimos 30 días y esto también debe ser certificado. Estos documentos deben acompañar a la hoja de registros de la colecta y a la de evaluación del semen y ser archivados.

Además, no debe haber ningún informe de casos clínicos de ninguna de las enfermedades de la lista A de la OIE en un radio de 10 km alrededor del centro de colecta de semen en el curso de los últimos 30 días, con especial atención con la fiebre aftosa, la peste bovina, la pleuroneumonía contagiosa bovina para los bovinos, y (en caso de necesidad) para los búfalos y los camellos; peste de los pequeños rumiantes para los pequeños rumiantes; peste porcina y africana para los porcinos y Horse sickness para los caballos y asnos. Cuando sea pertinente, se deben aplicar las vacunaciones contra las principales enfermedades (fiebre aftosa, peste bovina, peste de los pequeños rumiantes).

A1.7.2 Controles sanitarios individuales.

Cuando es factible, los controles y otros procedimientos sanitarios deberían ser lo más próximo posible a los procedimientos descritos más arriba. Como norma mínima, todos los donantes deberían ser diagnosticados libres de las enfermedades que puedan ser transmitidas por el semen. El Cuadro A1.1 lista las enfermedades de mayor importancia sobre las cuales sería posible hacer la clasificación sanitaria que se describe más abajo. Otras enfermedades podrían ser agregadas (en la medida en que existen laboratorios capaces de hacer los tests) tales como leucosis bovina, IBR/IPB, BVD/MD en los bovinos, o PRRS (síndrome respiratorio re reproductivo porcino) en los cerdos, etc. Estos tests, cuando son factibles, deben ser realizados en la estación de cuarentena y sólo los individuos diagnosticados negativos deberían ser entrados al CCS. El compromiso entre la necesidad de conservar genes de una raza en peligro y el estado sanitario de estos últimos representantes y/o la disponibilidad de instalaciones apropiadas en la vecindad han conducido a recomendar la introducción de un sistema de clasificación para el semen y los embriones, según la calidad del seguimiento sanitario realizado y la salud de los donantes.

A1.7.3 Clasificación de los donantes y del semen.

Este sistema cuantifica el estado sanitario de los machos en tres categorías, calificados en los grados «A» (el más elevado), «B» y «C» (la más baja). Esto facilitará el almacenamiento de los animales de estado sanitario equivalente pero de origen diferente en el mismo banco de germoplasma, y promoverá la utilización futura. Esto es resumido en el Cuadro A1.2.

Cuadro: A1.2. Reglas de clasificación para las muestras de semen.

	Exigencias obligatorias (A1.7.1)	Test sanitario individual (Tabla A1.7.2)	Estación de cuarentena y CCS aprobado (A1)
Grado A	X	X	X
Grado B	X	X	
Grado C	X		

► **Muestra de estado sanitario grado « A »**

Para ser grado « A », el animal donante debe satisfacer la totalidad de la cadena de control, comenzando por la estación de cuarentena descrita en A1. Antes de ser transferidos a un centro CCS aprobado, los machos deben haber sido diagnosticados negativamente para diversas enfermedades. Una vez en el CCS, los machos deben ser evaluados en su calidad y congelabilidad del semen y ser mantenidos bajo control veterinario continuo. Debería ser posible transportar el semen calificado como grado “A” libremente por todo el mundo ya que el riesgo de transmisión de enfermedades con este semen son extremadamente limitadas.

Las dosis de semen deben ser claramente identificadas como Grado « A », por ejemplo agregando « GA » al fin del etiquetado normal de la pajuela (ver 5.5.1, Figura 5.3).

► **Muestra de estado sanitario grado « B ».**

Para ser grado « B », el animal donante debe satisfacer las obligaciones legales (ver A1.7.1) así como los exámenes individuales para las principales enfermedades como se indica en el Cuadro A1.1.

Las dosis de semen deben ser claramente identificadas como Grado « B », por ejemplo agregando « GB » al final del etiquetado normal de la pajuela (ver 5.5.1, Figura 5.3).

► **Muestra de estado sanitario grado « C »**

Todas las otras muestras son clasificadas « C ». Deben sin embargo satisfacer las obligaciones legales descritas en A1.7.1. Es evidente que el semen calificado « C » da una seguridad baja en lo concerniente al riesgo de enfermedades.

En situaciones de urgencia, cuando un animal dado debe ser colectado inmediatamente sin otro test o indicación, su semen debe ser calificado grado « C ».

Si fuese posible, y si se dispone de suficiente material, se podrían realizar ulteriormente algunos tests específicos. Con seguridad que deberán tomarse precauciones particulares cuando se utiliza este semen.

Las dosis de semen deben ser claramente identificadas como Grado « C », por ejemplo agregando « GC » al final del etiquetado normal de la pajuela (ver 5.5.1, Figura 5.3).

A1.7.4 Consecuencias de la calificación sobre el almacenado.

La calificación del semen tiene consecuencias sobre las instalaciones y los procedimientos de almacenado.

Las dosis de semen una vez almacenadas, son selladas herméticamente y hay un muy bajo riesgo de diseminación de enfermedades directamente a partir del semen. Existe sin embargo un riesgo limitado proveniente de los termos y durante la manipulación. Así es que se recomienda almacenar las dosis de semen de grados diferentes en piezas separadas. Cada pieza debe tener su propio equipamiento (pinzas, recipientes, etc.) que debe ser claramente identificado y que no debe pasar de una pieza a otra. Los termos, gobelets y tubos de plástico deben ser lavados cuidadosamente y desinfectados antes de ser introducidos en una de las piezas.

En la práctica se puede suponer que los países en los cuales existe una estructura de IA básica, el semen de grados « A » y « B » puede necesitar ser almacenado, en tanto que en otros países, sólo el semen de los grados « B » y « C » deberá ser almacenado. Es bastante poco probable que sea necesario almacenar semen « A » y « C » o « A », « B » y « C ». La concepción del CCS debe ser tenida en cuenta (ver A1.5).

Muestras de diferentes países pero del mismo grado sanitario pueden ser conservadas en la misma habitación, pero siempre en termos diferentes.

La cuestión se complica en lo concerniente al almacenaje de los duplicados. No se prevén dificultades para el grado « A », ya que este tipo de semen se puede mover libremente. El semen de grado « B » deberá ser transferido a un país que tenga las mismas condiciones de salud veterinaria que aquellas que prevalecen en el país de origen.

Se prevén más dificultades con las muestras de grado « C » para las cuales será necesario encontrar un país que tenga las mismas condiciones generales (pobres) de salud animal, pero buenas instalaciones, seguras y confiables para el almacenaje y que acepta muestras de esta baja calidad. No se debe esperar que un país que tenga normas sanitarias más elevadas acepte muestras de países con normas más bajas. Esto debe ser tratado por las organizaciones internacionales y por los gobiernos.

El sistema de gradación debería permitir la flexibilidad máxima permitiendo la colecta de todo animal identificado por su singularidad genética, dando el máximo de informaciones para establecer las medidas de seguridad necesarias para evitar la diseminación de enfermedades cuando las muestras sean utilizadas.

Calificación del semen de aves.

Como fue propuesto para los mamíferos, se recomienda calificar las dosis de semen según el estado sanitario de los donantes

Muestra de estado sanitario grado « A ».

El semen de aves originarias de criaderos libres de las enfermedades de la lista A de la OIE, que han pasado por una estación de cuarentena y ha sido diagnosticado libre de esas enfermedades, que ha sido colectado en un CCS aprobado, puede ser calificados como grado « A ». El semen grado « A » de mamíferos y de aves puede ser conservado en la misma pieza pero no en el mismo termo.

Muestra de estado sanitario grado « B ».

El semen de las aves que no han pasado por una estación de cuarentena y no ha sido colectado en un CCS, pero que ha sido diagnosticado negativo a los tests indicados, puede ser calificado como grado « B » siempre que su criadero de origen esté libre de las enfermedades de la lista A de la OIE. El semen de mamíferos y de aves de la misma categoría puede ser almacenado en la misma pieza.

Muestra de estado sanitario grado « C ».

En todas las otras condiciones de colecta, el semen debe ser calificado grado « C ». El semen de mamíferos y de aves de esta categoría puede también ser almacenado en la misma pieza.

Como antes, esta información debe ser claramente identificada sobre la pajueta y sobre los documentos que las acompañan con los mismos códigos que para los mamíferos, GA, GB y GC para los grados « A », « B » y « C » respectivamente.

Bibliografía

Thibier M. (1993) L'atelier de production de doses de semence d'insémination artificielle:hygiène et qualité. In: Practitioner Post-University Training – ANFEIA, Session: hygiène et Insémination Artificielle 32 pp. Union National d'Élevage et d'Insémination Artificielle Ed. Paris, France

► Anexo 2 Controles y Reglamentaciones Sanitarias para la Colecta y el Almacenamiento de los Embriones

- *Producción y almacenamiento de los embriones*
- *El concepto de la acreditación oficial de los equipos de colecta de embriones*
- *La calificación del estado sanitario de los embriones*

►• A2.1 Producción y almacenamiento de los embriones

El riesgo de transmisión de enfermedades infecciosas por los embriones es más bajo que con la monta natural o la inseminación artificial (Stringfellow, 1985; Hare, 1986; Thibier, 1989). Sin embargo hay probabilidades de esto que ocurra, especialmente cuando los procedimientos recomendados para la colecta y la manipulación no son seguidos estrictamente.

Las recomendaciones que se hacen a continuación se refieren sólo a los embriones de mamíferos que son obtenidos por colectas *in vivo*.

Hay una gran cantidad de resultados de investigación del mundo entero disponibles que informan sobre los riesgos de transmisión de enfermedades infecciosas por el embrión en los bovinos. Hay menos cantidad de información publicada para los ovinos, los caprinos o los porcinos, y prácticamente nada para las otras especies. Gracias a estos conocimientos, la OIE ha publicado en su código de salud animal anexos para los bovinos (Anexo 4.2.3.1.). Existe también para los porcinos (Anexo 4.2.3.2.), para los ovinos y caprinos (Anexo 4.2.3.3), para los equinos (Anexo 4.2.3.7), los camélidos Sudamericanos (Anexo 4.2.3.8), los cérvidos (Anexo 4.2.3.9) y los mamíferos de laboratorio (Anexo 4.2.3.6).

La Sociedad Internacional de Transferencia de Embriones (IETS) ha clasificado las enfermedades según su grado de riesgo. En la categoría 1 se

agrupan las enfermedades para las cuales existe suficiente información para mostrar que, siempre que los embriones sean manipulados como se describe más abajo, hay casi ningún riesgo de la menor transmisión. Esta categoría 1 ha sido aceptada por la OIE (publicado en el Boletín de la OIE, 1992, 11, 937-938) y comprende a las siguientes enfermedades: fiebre aftosa (bovinos), lengua azul (bovinos) leucosis bovina enzoótica, IBR/IPV bovina (después del tratamiento de los embriones con tripsina) y enfermedad de Aujeszky en los porcinos (después de tratamiento de los embriones con tripsina). Los resultados experimentales han mostrado que el tratamiento con tripsina no tiene efectos negativos sobre el embrión ni sobre su viabilidad.

Aunque el riesgo sea reducido, esto no debe conducir a ser menos cuidadoso. Toda colecta de embriones debe ser precedida por un examen clínico completo del animal, de sus compañeros de rebaño y del ambiente general en el que los animales han sido criados (ver más abajo), sobre la presencia de enfermedades. El resultado del examen clínico puede también afectar los resultados de la superovulación y de la colecta que sigue ya que los buenos resultados sólo pueden venir de animales en buena salud. El riesgo de enfermedades puede variar según las especies, pero esto no debería afectar el nivel de atención que se da a los animales.

►• A2.2 El concepto de la acreditación oficial de los equipos de colecta de embriones.

El riesgo sanitario directo ligado a los embriones, aunque bajo, depende mucho de una correcta manipulación de los embriones por el equipo de transferencia de embriones. Esto otorga una gran responsabilidad a este equipo. Un equipo de transferencia de embriones puede ser definido como un grupo de técnicos, dirigidos por un veterinario, competentes para realizar la colecta, la manipulación y el almacenado de los embriones de acuerdo con las condiciones que se describen. Teniendo en cuenta la gran responsabilidad dada al grupo, y para asegurarse que el trabajo sea siempre realizado según las normas más elevadas, se recomienda disponer en el lugar de un procedimiento para la acreditación y el reconocimiento oficial de estos equipos de TE para los

países que no tienen todavía tal sistema de acreditación oficial. Un equipo será después oficialmente aprobado por la FAO por medio de la visita de un experto designado para ello. El objetivo es asegurar que la colecta y tratamiento de los embriones sea realizado por este equipo acreditado, según las condiciones y normas puestas por escrito en el programa. Esto garantizará el almacenado de los embriones de una buena calidad biológica, y es seguro en lo concerniente al riesgo de transmisión de enfermedades.

Los criterios para la acreditación son los siguientes:

- la competencia del personal;
- la disponibilidad del equipo apropiado;
- el compromiso del equipo de seguir los procedimientos para la manipulación de las donantes y de los embriones según el manual de la IETS y las recomendaciones de la OIE;
- la participación en un programa de control de calidad que incluye análisis de los medios y/o de los embriones degenerados, con el fin de detectar una eventual contaminación viral, bacteriana o por micoplasmas.

Todo equipo de transferencia de embriones, para ser aprobado, deberá firmar formalmente un formulario ad-hoc que lo compromete a seguir estas reglas.

A2.2.1 Competencia del personal.

Colecta, tratamiento y almacenado de los embriones deben ser realizados ya sea por un técnico formado, ya por un técnico bajo la responsabilidad de un veterinario. Los técnicos deben tener una formación especial en lo concerniente a la técnica y la higiene.

A2.2.2 Equipamiento apropiado.

Un equipo de TE debe tener a su disposición ya sea un laboratorio permanente, ya un laboratorio móvil donde los embriones pueden ser examinados, tratados y acondicionados. Todo laboratorio debe estar equipado con una superficie de trabajo suficiente, con microscopios estereoscópicos y equipamiento de congelación. Con respecto al material menor, se utilizará material descartable o de lo contrario será necesario un equipo de congelación.

A2.2.3 Laboratorio permanente.

Un laboratorio permanente debe estar constituido por:

- una sala de colecta;
- una sala de procesamiento de embriones, que puede ser adyacente, pero debe estar físicamente separada de la sala de colecta;
- una pieza donde los embriones puedan ser manipulados (micromanipulación, congelación) que es adyacente a la sala de procesamiento de los embriones;
- una pieza o una zona equipada para la limpieza y esterilización de los instrumentos y equipos utilizados para la colecta y procesado de los embriones.

En el caso de un laboratorio móvil, una parte especialmente equipada del vehículo debe ser consagrada al examen y la manipulación de los embriones por lo que deberá tener entonces una sección « limpia », y el resto es utilizado para ordenar y tratar materiales y descartables que van a estar en contacto con las donantes. Un laboratorio móvil debe siempre estar asociado con un laboratorio permanente para asegurar la limpieza y esterilización correctas del material, la preparación de los medios de colecta y otros medios y

productos necesarios para la colecta y manipulación de los embriones.

Los laboratorios móviles permiten la colecta y tratamiento de los embriones en la granja. Esto puede ser hecho excepcionalmente en una pieza de la granja, sin polvo, en la que no hay animales y que ha sido limpiada para la ocasión. Durante la colecta y tratamiento de los embriones, no se debe llevar a cabo ninguna otra actividad en la pieza. Todo el material que es utilizado en estas condiciones estará perfectamente limpio y estéril.

A2.2.4 Condiciones sanitarias de las donantes.

Ninguna enfermedad de la lista A de la OIE debe haberse declarado en los 30 días que preceden a la colecta, en un radio de 10 km alrededor del sitio donde están las donantes. El rebaño de origen no debe estar bajo la acción de ninguna interdicción veterinaria o de medidas de cuarentena.

En el momento de la colecta, las donantes deben ser examinadas clínicamente por el veterinario del equipo para asegurarse que el animal está clínicamente sano y libre de enfermedades contagiosas o infecciosas.

Todas las ventas de embriones deben ser acompañadas por una certificación firmada por el veterinario responsable, y endosada por el veterinario oficial que certifican que durante los 30 días previos y posteriores a la colecta, no se ha declarado ninguna enfermedad contagiosa e infecciosa en el rebaño. Estos certificados deben ser archivados y deben ser fácilmente identificables cuando sea necesario tanto para la venta como para la utilización de los embriones.

▶• A2.3 La calificación del estado sanitario de los embriones.

Como para el semen, puede ser interesante calificar a los embriones según el estado sanitario de las donantes. La calificación será “ A ” y “ B ” solamente.

▶ Embriones de estado sanitario grado “ A ”

Los embriones que son calificados en Grado “ A ” deberán ser:

- originarios de donantes que satisfacen las obligaciones descriptas previamente.
- colectados por un equipo aprobado por la FAO el cual
 - tiene experiencia y competencia
 - sigue las reglas higiénicas establecidas en el manual de la IETS.

▶ Embriones de estado sanitario grado “ B ”.

Los embriones son calificados en Grado “ B ”:

- cuando no han sido colectados por un equipo aprobado por la FAO;
- o, han sido colectados por un equipo aprobado por la FAO, pero las reglas veterinarias u otras reglas higiénicas no han podido ser estrictamente seguidas.

Tal información debe ser claramente indicada sobre las pajuelas y sobre los documentos que las acompañan con los mismo códigos que para el semen, GA y GB para los grados “ A ” y “ B ” respectivamente (5.5.1, Fig. 5.4).

Bibliografía

Hare, W.C.D. (1985). Disease transmissible by semen and embryo transfer techniques. Technical Series, Office International des Epizooties, No. 4., 119 pp. Paris.

Stringfellow, D. S. (1985). In: The round table meeting on sanitary problems related to embryo transfers. Rev. sci. et tech. Office International des Epizooties 4: 843-854.

Thibier M. (1990). Embryo transfer, the safest means, healthwise, of exchanging genes. In: Proc. VI Association Européenne de Transfert Embryonnaire. Lyon, 7-8 September 1990. p. 67-81. Fondation M. Mérieux Ed., Lyon, France.

► Anexo 3 Procedimientos Técnicos para la Congelación del Semen

Estos procedimientos requieren cierta pericia técnica. Antes de implementarlos en un programa de conservación, el grupo deberá evaluar su procedimiento en un pequeño número de machos de la misma especie (y cuando sea posible, de la misma raza a ser conservada). Esta evaluación deberá incluir (i) colecta y congelación, y (ii) descongelación e inseminación como para obtener preñeces. Las evidencias de fallas sustanciales para lograr las tasas de éxito mostradas en la Tabla 5.2 deberán ser informadas a FAO.

►• A3.1 Congelación del semen de toro

► Congelado

- A3.1.1 Colectar el semen. Evitar los cambios de temperatura en el semen después de su colecta.
- A3.1.2 Evaluar la calidad y determinar el volumen final (V).
- A3.1.3 Agregar al diluyente >1= (leche + 10% yema de huevo + antibióticos + 3% glicerol): agregar la mitad del volumen final, progresivamente, en 15 min a 35°C.
- A3.1.4 Enfriar a +5°C en 1 hora.
- A3.1.5 Agregar el diluyente >2= hasta el volumen final (el diluyente >2= es el diluyente >1= + 11% glicerol)
- A3.1.6 Mantener a +5°C durante 2 horas.
- A3.1.7 Llenar las pajuelas preimpresas de 0,5 o 0,25 ml con el semen (25-30 millones de espermatozoides/pajuela).
- A3.1.8 Transferir las pajuelas a los vapores de nitrógeno líquido a -70°C/-100°C y mantenerlas durante 9 min.
- A3.1.9 Introducir las pajuelas en el nitrógeno líquido y almacenarlas.

► Descongelado

- A3.1.10 Descongelar una muestra para evaluar la calidad.
- A3.1.11 Descongelar la pajueta directamente en un baño María a +37°C durante 30 segundos.
- A3.1.12 Inseminación de las vacas por vía cervical 12 horas después del comienzo del celo.

►• A3.2 Congelación del semen de cerdo

► Congelado

- A3.2.1 Colectar el semen (80 x 10⁹ esp. por eyaculado). Descartar la primera emisión de semen y guardar sólo la segunda (alrededor de 200 ml con un total de 40 x 10⁹ espermatozoides).
- A322 Filtrar a través de una gasa para eliminar las secreciones provenientes de glándulas bulbouretrales.
- A3.2.3 Diluir en relación 1 a 1 en el diluyente >1= (dextrosa anhidra, 37g; citrato trisódico con 2H₂O, 6g; bicarbonato de sodio, 1.25g; EDTA diNa, 1.25g; KCl, 0.75g en 1 litro de agua bidestilada) Fraccionar el eyaculado en dosis de 9x10⁹ espermatozoides aproximadamente. Centrifugar a 800g durante 15 min a + 30°C. Eliminar el plasma seminal.
- A3.2.4 Enfriar a +15°C en 2 horas.
- A3.2.5 Centrifugar a 800g durante 20 min a 15°C. Retirar el sobrenadante que es plasma seminal diluido.
- A3.2.6 Resuspender el pellet de semen con aproximadamente 10 volúmenes del Diluyente >2= (fructosa, 8,5g; bicarbonato de sodio, 0,15g; cisteína, 0,015g; agua bidestilada, 116 ml; yema de huevo, 34 ml; equex STM (Nova Chemicals), 1,69g) como para obtener una concentración de 3 x 10⁹ espermatozoides por ml.
- A3.2.7 Enfriar la suspensión a 5°C durante dos horas

- A3.2.8 Agregar el Diluyente >3= vol. a vol. a la solución de semen diluido (Diluyente >3=: Diluyente >2= + 6% de glicerol); el Diluyente >3= debe ser agregado en tres etapas hasta dar una concentración final de 3% de glicerol y 1.5×10^9 espermatozoides por ml.
- A3.3.9 Dejar a 5°C por aproximadamente 90 minutos durante los cuales el semen es puesto en pajuelas de 0,5 ml.
- A3.2.10 Poner las pajuelas horizontalmente a 5 cm del nivel de nitrógeno líquido durante 15 min (esto asegurará una velocidad de enfriamiento de aproximadamente de 20°C/mn hasta -145°C).
- A3.2.11 Sumergir en nitrógeno líquido y almacenar.

▶ Descongelado

- A3.2.12 La descongelación se hace en un baño María a 38°C durante 20 segundos.
- A3.2.13 Mezclar el contenido de 7 pajuelas (o 5; ver Tabla 5.2) con 95 ml del Diluyente >1= a 38°C para obtener una dosis de IA.
- A3.2.14 Inseminar a la cerda dentro de una hora de realizada esta dilución (5.3×10^9 espermatozoides por AI).

▶• A3.3 Congelación del semen de carnero

▶ Congelado

- A3.3.1 Colectar el semen (4×10^9 esp. por eyaculado); seleccionar sólo aquellos con una motilidad masal >4.5 en una escala de 5.
- A3.3.2 Evaluar la concentración espermática y determinar el volumen final V para una concentración de 400×10^6 espermatozoides/ml.
- A3.3.3 Agregar el Diluyente >1=• (25. 75g de lactosa en 250ml de agua bidestilada +20% de tema de huevo) a 30°C hasta 3/5 del volumen final V

- A3.3.4 Enfriar progresivamente hasta $+4^{\circ}\text{C}$ durante 2 horas ($0.2^{\circ}\text{C}/\text{min}$)
- A3.3.5 Preparar el Diluyente $>2=$: primero reconstituir la leche a partir de leche en polvo descremada (4g en 100ml de agua destilada) y ajustar el pH a 6.6 con una solución de Tris (20g de citrato trisódico- $5.5 \text{ H}_2\text{O}$ en 70ml H_2O); después mezclar 9 volúmenes de la solución de más arriba con 1 volumen de glicerol.
- A3.3.6 Agregar el Diluyente $>2=$ en 3 partes iguales, durante 30 minutos, a 4°C hasta un volumen final V.
- A3.3.7 Mantener el semen durante 90 minutos a $+4^{\circ}\text{C}$.
- A3.3.8 Llenar las pajuelas de 0.25ml con semen.
- A3.3.9 Poner las pajuelas horizontalmente en vapores de nitrógeno líquido a -75°C durante 8 minutos.
- A3.3.10 Transferir directamente al nitrógeno líquido a -196°C y almacenar.

► Descongelado

- A3.3.11 Descongelar las pajuelas en baño María a 37°C durante 30 segundos.
- A3.3.12 Evaluar viabilidad del semen. Para ello mezclar un volumen de semen con 4 volúmenes de solución de citrato de sodio (20g de citrato trisódico- $2\text{H}_2\text{O}$ en 70ml de agua bidestilada) a 38°C y estimar la proporción de espermatozoides móviles a los 5 minutos y 2 horas posdescongelación: sólo el semen con más de 30% de espermatozoides móviles a las 2 horas puede ser utilizado para la inseminación.
- A3.3.13 Realizar la inseminación intrauterina por laparoscopia en las receptoras previamente sincronizadas.

►• A3.4 Congelación del semen de conejo

► Congelado

A3.4.1 Colectar el semen.

A3.4.2 Preparar el Diluyente >1=. En 100ml de agua bidestilada disolver: 3,028g de Trishydroxy-methylaminomethane (Tris); 1,25g de glucosa; 1,67g de ácido cítrico- H₂O; 5ml de Dimethyl-sulfoxide (DMSO); agregar 1 volumen de yema de huevo por cada 4 volúmenes de solución.

A3.4.3 Agregar 4 volúmenes del Diluyente >1=• a un volumen de semen

A3.4.4 Progresivamente enfriar el semen diluido hasta +5°C en un período de 1 a 3 horas.

A3.4.5 Preparar el Diluyente >2=. En 100ml de agua bidestilada disolver: 8,25g de lactosa; 1,3ml de glicerol; agregar 20% de yema de huevo (1 volumen de yema de huevo para 4 volúmenes de solución).

A3.4.6 Agregar un volumen del Diluyente >2=• preenfriado a +5°C a un volumen de semen diluido.

A3.4.7 Llenar pajuelas de 0.5ml con semen.

A3.4.8 Dejar 10 minutos a +5°C.

A3.4.9 Congelar las pajuelas horizontalmente en vapores de nitrógeno líquido durante 3 minutos a -120°C.

A3.4.10 Sumergir directamente en nitrógeno líquido y almacenar.

► Descongelado

A3.4.11 Descongelar pajuelas en baño María a +37°C durante 1 minuto.

A3.4.12 La inseminación intravaginal de las hembras es seguida por una inyección intramuscular 0.2ml de GnRH.

►• A3.5 Congelación del semen de caballo

► Congelado

- A3.5.1 Colectar el semen (aproximadamente 8×10^9 esp por eyaculado) y filtrar en gasa.
- A3.5.2 Evaluar volumen y concentración del eyaculado.
- A3.5.3 Preparar el Diluyente >1=• (1 volumen de leche descremada UHT +1 volumen de una solución conteniendo: 50g/l de glucosa, 3g/l de lactosa; 3g/l de rafinosa; 0,6g/l citrato de sodio; 0,82g/l de citrato de potasio; 100 000ui/l de penicilina; 0,100ui/l de gentamicina).
- A3.5.4 Agregar al Diluyente >1=• 2% de yema de huevo y mezclar tres volúmenes de esta solución con un volumen de semen a +32°C.
- A3.5.5 Enfriar a +4°C durante aproximadamente 1 hora (0,4°C/min)
- A3.5.6 Centrifugar a 600g durante 10 min a +4°C. Retirar el sobrenadante.
- A3.5.7 Preparar el Diluyente >2=• a partir del Diluyente >1=• suplementado con 2% de yema de huevo y 2% de glicerol.
- A3.5.8 Resuspender el fondo de semen a 4°C con el Diluyente >2=• hasta alcanzar una concentración final de 100×10^6 espermatozoides/ml (50×10^6 espermatozoides/pajuela de 0.5ml).
- A3.5.9 Mantener a 4°C durante 30 a 45 min.
- A3.5.10 Llenar las pajuelas de 0.5ml con semen.
- A3.5.11 Congelar las pajuelas en una congeladora programable desde +4°C hasta -140°C a una tasa de 60°C/min. Alternativamente, congelar a las pajuelas horizontalmente en vapores de nitrógeno líquido poniéndolas 4cm por encima del nivel de ebullición del nitrógeno líquido durante 4 min.
- A3.5.12 Sumergir en nitrógeno líquido y almacenar.

► Descongelado

- A3.5.13 Descongelar ocho pajuelas de 0.5ml (400×10^6 esp) juntas en un baño María a $+37^\circ\text{C}$ durante 30 segundos.
- A3.5.14 El semen deberá ser depositado diariamente en el cuerpo uterino durante el período del estro.

►• A3.6 Congelación del semen de macho cabrío

► Congelado

- A3.6.1 Colectar el semen (4×10^9 esp por eyaculado en estación sexual); seleccionar sólo los eyaculados con una motilidad masal >4.5 ; dejar a 32°C .
- A3.6.2 Lavar el semen con una solución Krebs Ringer Fosfato Glucosa (0,9%NaCl; 1,15% KCl; 1,22% CaCl_2 ; 2,11% KH_2PO_4 ; 3,82% $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$; 5,24% glucosa) mezclando un volumen de semen con 9 volúmenes de solución de lavado a $28\text{-}32^\circ\text{C}$, seguido por una centrifugación a 500g durante 15 minutos a 20°C .
- A3.6.3 Descartar el sobrenadante y evaluar el semen (motilidad en ondas, concentración) Calcular el volumen final (V). Repetir la centrifugación bajo las mismas condiciones a 20°C .
- A3.6.4 Preparar el Diluyente $>1=\bullet$: 80ml de una solución de citrato de sodio (194mg de glucosa +3,52g de citrato de sodio +1,05g de estreptomocina +50 000 UI de penicilina en 100ml de agua destilada) suplementado con 20 ml de yema de huevo.
- A3.6.5 Agregar $V/2$ del Diluyente $>1=\bullet\bullet$ al pellet de semen a 20°C .
- A3.6.6 Enfriar a $+4^\circ\text{C}$ dentro de 30 min (a $0.5^\circ\text{C}/\text{min}$).
- A3.6.7 Agregar $V/2$ del Diluyente $>2=\bullet$ (Diluyente $>1=\bullet$ +14% v/v de glicerol) en tres etapas sucesivas con 10 min de intervalo.
- A3.6.8 Llenar pajuelas de 0.25ml con semen.
- A3.6.9 Congelar las pajuelas en vapores de nitrógeno líquido durante 5 min.

A3.6.10 Sumergir las pajuelas directamente en nitrógeno líquido y almacenar.

► Descongelado

A3.6.11 Descongelar las pajuelas en baño María a 37°C durante 30 segundos.

A3.6.12 Evaluar la motilidad posdescongelación.

A3.6.13 Proceder a la inseminación de cabras previamente sincronizadas.

►• A.3.7 Congelación de semen de gallo

► Congelado

A3.7.1 Colectar el semen (1.5×10^9 esp por eyaculado).

A3.7.2 Mezclar tres volúmenes de semen (un eyaculado tiene aproximadamente 300µl) con cuatro volúmenes del Diluyente >1= (0,7g de Acetato de Magnesio (tetra hidratado) +19,2g de Glutamato de Sodio +5,0g de Acetato de Sodio +8,0g de Fructosa +3,0g de P.V.P (PM 10000 a 15000) en un litro de agua bidestilada.

A3.7.3 Enfriar el semen diluido inmediatamente durante 20-30 minutos hasta +5°C (0.5°C/min).

A3.7.4 A +5°C, agregar un volumen de semen diluido a un volumen del Diluyente >2=• (Diluyente >1=• +11% glicerol). Esto dará una concentración final de 300×10^6 espermatozoides/ml.

A3.7.5 Equilibrar durante 30 min a +5°C.

A3.7.6 Llenar pajuelas de 0.25ml con semen.

A3.7.7 Congelar a una tasa de 7°C/min desde +5°C a -35°C; y a una tasa de 8°C/min desde -35°C a -140°C.

A3.7.8 Introducir en Nitrógeno Líquido y almacenar.

► Descongelado

- A3.7.9 Preparar el Diluyente >3=•: 0,8g Acetato de Magnesio (tetrahidratado) +1,28g Citrato de Potasio +19,2g Glutamato de sodio +6,0g Fructosa +5,1g Acetato de Sodio en un litro de agua bidestilada.
- A3.7.10 Descongelar pajuelas en baño María a +5°C durante 3 minutos. Abrir y transferir el semen en un vaso de precipitado de vidrio. Mezclar un volumen de semen con 20 volúmenes del Diluyente >3=•, hasta llegar a 5°C.
- A3.7.11 Retirar el glicerol por centrifugación a 700g a +5°C durante 15 min.
- A3.7.12 Preparar el Diluyente >4=•: 0,8g Acetato de Magnesio (tetrahidratado) +1,28g Citrato de Sodio +15,2g Glutamato de Sodio +6,0g Glucosa +30,5g B.E.S (ácido N,N-bis-2-hydroxyethyl-2-amino-ethanesulfónico) +58ml NaOH (1M/l) en un litro de agua bidestilada.
- A3.7.13 Descartar el sobrenadante obtenido en A3.7.11 y agregar un volumen del pellet de semen a un volumen del Diluyente >4=• a +5°C.
- A3.7.14 Inmediatamente proceder a la inseminación de las hembras con una dosis total de 600×10^6 espermatozoides (2 pajuelas) por inseminación, haciendo 2 inseminaciones por semana. El volumen de inseminación deberá ser de aproximadamente 60 a 100µl (si se insemina un volumen mayor, parte del semen será eliminado).

►• A3.8 Congelación de semen de Búfalo

► Congelado.

- A3.8.1 Colectar semen (5 a 10×10^9 esp por eyaculado) a 35°C . Evitar cambios de la temperatura después de la colecta del semen.
- A3.8.2 Evaluar la concentración espermática y determinar el volumen V final para alcanzar una concentración de 100×10^6 esp/ml.
- A3.8.3 Agregar la mitad del volumen final con el diluyente >1=• (leche + 10% de yema de huevo + antibióticos + 3% glicerol). Esto debe ser agregado progresivamente durante 15 min a 35°C .
- A3.8.4 Enfriar a $+4^{\circ}\text{C}$ dentro de 1,5 horas.
- A3.8.5 Agregar el Diluyente >2=• hasta el volumen final (Diluyente >2=• consiste del Diluyente >1=• + 11% glicerol). La concentración final de glicerol es entonces de 7%.
- A3.8.6 Dejar a $+4^{\circ}\text{C}$ durante 4 horas.
- A3.8.7 Mientras tanto son llenadas las pajuelas de 0,50 ml preimpresas con el semen (aproximadamente 50-60 millones de espermatozoides/pajuela).
- A3.8.8 Enfriar desde $+4^{\circ}\text{C}$ hasta -140°C en 5 minutos, después son sumergidas en nitrógeno líquido.
- A3.8.9 Transferir las pajuelas al nitrógeno líquido donde serán almacenadas.

► Descongelado

- A3.8.10 Descongelar una muestra para evaluar la calidad.
- A3.8.11 Descongelar la pajuela directamente en baño María a $+35^{\circ}\text{C}$ durante 30 segundos.
- A3.8.12 Inseminar hembras transcervicalmente 12 horas después de observado el estro.

►• A3.9 Congelación del semen de Pavo y Pato

En la actualidad se recomienda que las muestras de semen de Pavo y Pato sean tratadas como las de Gallo, aunque se esperan mejoras a este procedimiento. Para la inseminación de Pavos, se recomienda usar tres pajuelas por inseminación. Sírvase dirigirse a FAO para las últimas recomendaciones al respecto.

► Anexo 4 Procedimientos Técnicos para la Congelación de los Embriones

Se anticipa que el grupo responsable de la colecta y congelación de los embriones deberá haber demostrado su pericia técnica antes de implementar un programa de (ver A2.2).

►• A.4.1 Congelación de embriones bovinos

► Congelado

- A4.1.1 Los embriones son obtenidos no quirúrgicamente en los estadios de mórula compacta y blastocisto de día 7.
- A4.1.2 Lavar los embriones en 10 baños consecutivos de solución fosfato buffer (PBS).
- A4.1.3 Equilibrar a los embriones a temperatura ambiente durante 10 min en PBS + 10% FCS –suero fetal bovino- + 10% glicerol.
- A4.1.4 Acondicionar a los embriones entre dos espacios con aire en una pajuela de 0,25 ml.
- A4.1.5 Poner las pajuelas horizontalmente en el congelador programable y enfriar de la temperatura ambiente a -7°C a la velocidad de $5^{\circ}\text{C}/\text{min}$.
- A4.1.6 Inducir la cristalización a -7°C y congelar los embriones hasta -35°C a la velocidad de $0.5^{\circ}\text{C}/\text{min}$, y después sumergir directamente a las pajuelas en el nitrógeno líquido.
- A4.1.7 Almacenar las pajuelas en el nitrógeno líquido a -196°C .

► Descongelado

- A4.1.8 Descongelar las pajuelas rápidamente en un baño María a +20°C durante 30 segundos.
- A4.1.9 Rehidratar a los embriones en una solución de sucrosa 1M durante 10 min, seguido por un baño en PBS.
- A4.1.10 Transferir un embrión por receptora sincronizada.

►• A4.2 Congelación de embriones de Ovinos y Caprinos

► Congelado

- A4.2.1 Colectar los embriones, preferentemente en los estadios de mórula compacta – blastocisto, en días 6-7.
- A4.2.2 Lavar a los embriones en 10 baños consecutivos de PBS.
- A4.2.3 Equilibrar los embriones a temperatura ambiente durante 10 min en PBS + 10% FCS + 10% crioprotector (etilenglicol para los ovinos, glicerol para los caprinos).
- A4.2.4 Acondicionar a los embriones entre dos columnas de aire en una pajuela de 0,25 ml.
- A4.2.5 Colocar las pajuelas horizontalmente en un congelador programable y enfriarlas de la temperatura ambiente a -7°C a la velocidad de 5°C/min.
- A4.2.6 Inducir la cristalización a -7°C y congelar los embriones hasta -30°C a una velocidad de 0.3°C/min, y después sumergir las pajuelas directamente en el nitrógeno líquido.
- A4.2.7 Almacenar las pajuelas en el nitrógeno líquido a -196°C.

► Descongelado

- A4.2.8 Descongelar las pajuelas rápidamente en un baño María +20°C durante 30 segundos.
- A4.2.9 Rehidratar los embriones en una solución de sucrosa 0,5M durante 10 min, seguido por un baño en PBS.
- A4.2.10 Transferir dos embriones por receptora sincronizada.

►• A4.3 Congelación de embriones de conejo

► Congelado

- A4.3.1 Colectar los embriones preferentemente en el estado de mórula compacta, 65 hs post coitum.
- A4.3.2 Lavarlos en 10 baños sucesivos de PBS.
- A4.3.3 Equilibrar los embriones durante 5 minutos en 3 baños de PBS conteniendo respectivamente 0,5M, 1M y 1,5M de DMSO.
- A4.3.4 Acondicionar a los embriones entre dos columnas de aire en una pajuela de 0,25 ml.
- A4.3.5 Poner las pajuelas horizontalmente en el congelador programable y enfriar de la temperatura ambiente a -7°C a la velocidad de 5°C/min.
- A4.3.6 Inducir la cristalización a -7°C y congelar los embriones hasta -35°C a la velocidad de 0.5°C/min, y después sumergir directamente a las pajuelas en el nitrógeno líquido.
- A4.3.7 Almacenar las pajuelas en el nitrógeno líquido a -196°C.

► Descongelado

- A4.3.8 Descongelar las pajuelas rápidamente en un baño María a +20°C durante 30 segundos.
- A4.3.9 Rehidratar a los embriones progresivamente en tres baños de PBS de 5 min cada uno conteniendo respectivamente 1M, 0,5M y 0M de DMSO.
- A4.3.10 Transferir los embriones (10 o 15) en los cuernos uterinos de las receptoras sincronizadas.

► Anexo 5 Protocolos Técnicos para la Extracción del ADN

Los protocolos para la extracción del ADN son exigentes desde el punto de vista técnico. Estos procedimientos no deberían ser utilizados en el marco de un programa de conservación en tanto que no haya sido asegurada la aptitud del laboratorio que los realizará. Esto puede ser hecho mediante una demostración de extracción exitosa de ADN, con los rendimientos esperados, a partir de muestras del mismo tejido y de la misma especie que aquellos que son colectados en el marco del programa.

Ciertos productos químicos utilizados en estos protocolos deben ser manipulados con precaución y se deberá consultar con atención las informaciones sobre salud y seguridad que deben acompañar a todo producto de laboratorio. Sin embargo, los protocolos indicados más abajo para la extracción del ADN pueden ser llevados a cabo con total seguridad en laboratorios bien dirigidos y poseyendo la experiencia técnica necesaria.

En la sangre de los mamíferos, el ADN es obtenido de los glóbulos blancos ya que los glóbulos rojos no poseen núcleo. En las aves es diferente ya que tienen ADN en los glóbulos blancos y rojos (ambos nucleados), lo cual significa que se necesitará mucha menos sangre para obtener una buena cantidad de ADN. Los métodos de extracción descritos en este Anexo pueden servir para sangre o esperma de aves y mamíferos. La sangre y el semen son las muestras más fáciles de obtener (y que tienen un rendimiento apropiado) en los programas de conservación: el semen es colectado frecuentemente como parte del programa y las muestras de sangre se obtienen también con frecuencia en cualquier actividad de seguimiento sanitario. Sin embargo, las técnicas para el semen dependen de numerosos parámetros: la especie (concentración de espermatozoides del eyaculado); si el semen es fresco o congelado y por último de la dilución. De manera que aquí se presentarán solamente los métodos para aplicar a la sangre de mamíferos y aves.

En el Capítulo 5 se recomienda repartir el volumen de sangre en dos tubos en el momento de la extracción. Esto tiene por objetivo reducir el riesgo de pérdida accidental de cualquier muestra de un determinado individuo. Se recomienda mantener las muestras en duplicado durante todo el tratamiento y el almacenado (ver 5); además, las dos mitades deben ser tratadas en dos lotes separados de manera tal que, frente a un fracaso imprevisible de la técnica de extracción aplicada en uno de los dos lotes, sea posible recuperar todavía el ADN de un individuo dado a partir de la otra mitad de la muestra.

Una vez extraído, el ADN deberá ser repartido en alícuotas de 50 μ l etiquetadas (ver 5.5) en una concentración de 200 μ g/ml con vistas a un almacenaje de larga duración. Esta división evitará las congelaciones y descongelaciones repetidas sobre una misma muestra. El ADN puede ser conservado con total seguridad a + 4°C durante dos meses antes de ser alicuotado, *siempre que* el preparado sea lo suficientemente puro, es decir que la Dnasa que podría estar presente en los tejidos contaminantes haya sido eliminada, sin lo cual, es obligatorio pasar rápidamente al almacenado de larga duración. Para la conservación de larga duración, una temperatura de alrededor de - 20°C provee condiciones de almacenado seguras (o temperaturas más bajas como por ejemplo la del nitrógeno líquido, pero esto no es necesario).

►• A5.1 Extracción del ADN a partir de la sangre de mamíferos

- A5.1.1 Poner la sangre (7 ml) en tubos de vidrio Corex de 30 ml.
- A5.1.2 Agregar 7 ml NaCl a 0,9%. Centrifugar a 5000 rpm durante 10 min.
- A5.1.3 Recuperar la capa marrón-amarillenta en un tubo de centrifuga de plástico de 15 ml.
- A5.1.4 Agregar 9 ml H₂O, mezclar, agregar 1 ml NaCl a 9% y mezclar de nuevo.
- A5.1.5 Agregar 10 ml NaCl a 0,9%. Centrifugar a 5000 rpm durante 10 min. Eliminar el sobrenadante dejando el fondo de glóbulos blancos.

- A5.1.6 Lavar el fondo con NaCl a 0,9%. Centrifugar a 5000 rpm durante 15 min y decantar el sobrenadante.
- A5.1.7 Agregar 5 ml de tampón de lisis al fondo más 50 µl de proteinasa K (20 mg/ml en agua), mezclar bien para dispersar el fondo y después agregar 200 µl de SDS al 10% (Sodium Dodecyl Sulphate).
- A5.1.8 Incubar a + 65°C durante 1h, agregar de nuevo 50 µl de proteinasa K e incubar durante 1h.
- A5.1.9 Agregar 5 ml de fenol y mezclar sin interrupción durante 10 min invirtiendo suavemente el tubo. Centrifugar a 8000 rpm durante 5 min para separar las fases.
- A5.1.10 Retirar y descartar la capa de fenol (la capa inferior) con la ayuda de una pipeta Pasteur, agregar 3 ml de fenol y 3 ml de cloroformo. Mezclar suavemente invirtiendo el tubo durante 5 min. Centrifugar a 8000 rpm durante 5 min.
- A5.1.11 Repetir A5.1.10.
- A5.1.12. Retirar y descartar la capa orgánica (la capa inferior), agregar 5ml de cloroformo a la capa superior acuosa y mezclar durante 5 min. Centrifugar a 5000 rpm durante 5 min.
- A5.1.13 Recuperar la capa acuosa (superior) (pero no descartarla, contiene ADN!) y adicionarle 3 volúmenes de etanol (15 ml), debobinar el ADN mezclando con una pipeta de vidrio, secar al aire durante 5 min para evaporar el etanol. Disolver al ADN en 500 a 1000 µl de H₂O. Almacenar a + 4°C por un período corto o a - 20°C en forma indefinida.

►• A5.2 Extracción del ADN a partir de la sangre de aves

- A5.2.1 Preparar los reactivos. A: 10mM Tris; 320 mM Sacarosa; 5mM MgCl₂; 1% Triton X-100; y ajustar a pH 8,0. B: 400 mM Tris (pH 8,0); 60mM EDTA; 150 mM NaCl; 1% SDS. Los dos reactivos deben ser pasados por autoclave antes de ser usados. El SDS en el reactivo B, debe ser agregado *después* del pasaje por autoclave. El reactivo A es sólo necesario para las gallinas.

- A5.2.2 Si la sangre ha coagulado **no** lavar en el reactivo A ya que se perdería todo el ADN. Dedicar 5 min a homogeneizar manualmente el coagulo en el reactivo B. No utilizar agitadores magnéticos de gran velocidad para acelerar el proceso ya que se recuperará solamente ADN de bajo peso molecular. Si la sangre no ha coagulado, pasar a la próxima etapa.
- A5.2.3 **Únicamente para las gallinas; para las otras especies avícolas, saltar esta etapa!** Poner 0,5ml de sangre en un tubo Falcon de 50 ml y agregar 20 ml del reactivo A, mezclar durante 5 min a temperatura ambiente y después centrifugar a 1300 g (es decir aproximadamente 2500 rpm en un rotor estándar) durante 3 min. Eliminar el sobrenadante tomando la precaución de no perder el fondo (centrifugaciones más rápidas darán un fondo difícil a resuspender).
- A5.2.4 Agregar 30 ml del reactivo B y utilizar un cono de P 1000 para resuspender suavemente el fondo. Es importante que la suspensión sea regular de lo contrario la cantidad obtenida será pobre.
- A5.2.5 Agregar 50 µl de RNAsa (10 mg/ml) e incubar a + 37°C durante 60 min.
- A5.2.6 Agregar 7,5 ml de Perclorato de Sodio 5M y agitar a temperatura ambiente durante 25 min.
- A5.2.7 Completar a 50 ml con cloroformo y agitar con la mano durante al menos dos minutos.
- A5.2.8 Centrifugar las muestras a velocidad máxima en una microcentrífuga durante 5 min y después retirar 25 ml de la fase superior (que contiene el ADN) a un nuevo tubo, tomando la precaución de no tomar nada de la fase media.
- A5.2.9 Agregar 0,8 volúmenes de iso-propanol e invertir el tubo hasta que el ADN precipite. Juntar el ADN en el fondo del tubo centrifugando durante 5 min a velocidad máxima. Eliminar el sobrenadante teniendo la precaución de no perder el fondo.
- A5.2.10 Lavar el fondo agregando 10 ml de etanol 70% (+ 4°C) y agitando. Centrifugar de nuevo brevemente, eliminar el sobrenadante y secar el fondo.

- A5.2.11 Para resuspender el ADN, agregar 10 ml de TE (50 mM Tris, 10mM EDTA a pH 7,4) y agitar suavemente durante una noche a + 37°C.
- A5.2.12 Alicuotar. Verificar la calidad pasando 0,5 µg sobre un gel de agarosa a 0,7% durante 60 min y verificar que el ADN aparece a un peso molecular de 23000 o más. Medir la cantidad haciendo una lectura de desviación óptica a 260 nm. Verificar de nuevo la calidad calculando la relación 260/280: todo lo que esté entre 1,8 y 2,0 será bueno.

▶ Anexo 6 Principios que Sustentan las Simulaciones para Determinar el Tamaño de las Muestras

▶• A6.1 Simulación de las necesidades de semen.

A6.1.1 Objetivo 5.2.1: recreación de una raza utilizando el semen.

Esto requiere de la producción de retrocruzas que tienen el objetivo de llegar al 92,5% de la raza congelada. La simulación supuso partir de F hembras de otra raza para el cruzamiento. Cada hembra tuvo una duración de vida de m camadas. El valor de m fue el menor número entero mayor que 2 dividido por el número de crías fértiles por gestación dado en el Cuadro 5.4. La edad de la hembra a la primera de las m camadas fue tomada como 2 intervalos de reproducción. El tiempo fue tratado en intervalos de reproducción (supuestamente constantes), y se hizo el acoplamiento de todas las hembras que tienen la edad apropiada. Para cada hembra, el número de pajuelas para producir una gestación ha sido representado con una distribución binomial negativa con un número de dosis tomado del Cuadro 5.4.

El tamaño de camada para cada servicio se supuso que seguía la ley de Poisson con la media para las crías fértiles por gestación mostrada en el Cuadro 5.4.

Para cada réplica, la simulación fue seguida hasta que: (i) hubo fracaso, es decir que está claro que se producirá un número demasiado bajo de crías cruzas al 92,5%; o, (ii) éxito, se produjeron un total de 12 machos al 92,5% durante la simulación y de 12 hembras al 92,5% las cuales alcanzan simultáneamente la edad de la reproducción. Los machos no tienen necesariamente que tener la misma edad a la

reproducción que las hembras ya que se supuso que se practicaba la IA.

Se ha generado un total de 1000 réplicas para una gama de valores de F. Para los valores de F que dan >900 éxitos, el número de pajuelas requerido fue rankeado y la 900 fue tomada como el número requerido. El valor de F fue elegido para minimizar el número requerido (con una gran F, el éxito es casi seguro, pero son acopladas muchas hembras sin necesidad y producen cruza 92,5% en mucha mayor cantidad que las necesarias para cumplir con el objetivo).

A6.1.2 Objetivo 5.2.2: Desarrollo de nuevas razas.

El procedimiento de arriba fue modificado en consecuencia

A6.1.3 Objetivo 5.2.3: Apoyando a la conservación *in vivo*.

Las 200 hembras fueron multiplicadas por el número de camadas requeridas para una tasa esperada de reemplazo >1 (m como fue definida en A6.1.1) y el número esperado de pajuelas por preñez.

A6.1.4 Objetivo 5.2.4: Investigación en la identificación de genes simples de gran efecto.

Las simulaciones fueron hechas como se describió en A6.2.1, pero modificadas al efecto. Se usaron altas tasas reproductivas para su potencial completo.

►• A6.2 Simulación de las necesidades de embriones.

Se supuso que M machos y F hembras han sido usados para la recuperación de embriones. Se supuso que la fecundación de las donantes se hacía con IA y que cada macho tuvo una probabilidad de 0,2 de ser inapropiado. Para las F hembras, cada una tuvo una probabilidad de 0,15 de nunca producir un embrión. Para las hembras que producen embriones, se supuso que cada colecta tenía una probabilidad de 0,2 de

no dar embriones viables y para el resto, el número de los embriones fue tomado como una parte entera de $\exp(X)$, donde X es una variable aleatoria con una distribución log-normal. El número promedio de embriones y el coeficiente de variación para aquellas donantes capaces de responder han sido ajustados a los valores dados en el Cuadro 5.3. Las recuperaciones de diferentes colectas en una misma hembra fueron consideradas independientes. El procedimiento para colectas sucesivas fue el recomendado en el Capítulo 5. La transferencia de embriones fue simulada como un ensayo binomial con las tasas de éxito dadas en el Cuadro 5.6.

El número mínimo de embriones requeridos para producir 12 machos y 12 hembras ha sido estimado a partir de 1000 réplicas de la transferencia de T embriones. El valor más pequeño de T que da un éxito más de 900 veces ha sido tomado como el valor estimado.

El número de colectas necesarias para satisfacer las condiciones de varianza después de las transferencias ha sido obtenido a partir de 1000 réplicas. Para cada réplica, el éxito ha sido verificado por: (i) al menos 12 machos y 12 hembras producidos; (ii) para un subconjunto de 12 machos y 12 hembras con la máxima variabilidad de los padres, la varianza del tamaño de la familia hembra $<24/F$ y de la familia macho $<24/M$. Se ha determinado el número de colectas que produzcan 900 éxitos para valores dados de M y de F .