

Desarrollo de cultivos de fibroblasto en el bovino Criollo en Uruguay

R. Puentes¹, D. Fila², G. Roses², R. Aragunde², A. Hernandez², N. Cazales², F. Macedo³, B. Mernies³, A. Postiglioni³

¹*Departamento de Ciencias Microbiológicas.*

²*Departamento de Reproducción.*

³*Departamento de Genética y Mejora Animal, Facultad de Veterinaria, Uruguay.*

En Conservación el impacto potencial más grande es la protección del ecosistema entero (la protección *in situ*), seguido de la protección de comunidades, especie y poblaciones (Soule, 1991). Finalmente, la conservación de materiales biológicos por criopreservación es otra estrategia como bancos de recurso genéticos que pueden proporcionar gametos, embriones, tejidos y cultivos de células como fuentes de información genética. La preservación de células viables *in vitro* es una tecnología esencial para la biología de conservación (Tovar et al., 2008). El objetivo de este trabajo fue la obtención de tejidos de piel y el desarrollo de cultivos celulares de fibroblastos con el fin de generar un banco de material genético y células de la especie para futuras investigaciones y para la conservación genética.

Se depiló y desinfectó la zona de la articulación del hombro a muestrear de dos toros de la raza Bovino Criollo del Uruguay del Parque Nacional de San Miguel (Rocha) tomados al azar de los 14 existentes. Se extrajeron muestras de aproximadamente 1 a 2 cm³ de piel y tejido subcutáneo, luego de haber realizado un bloqueo con anestesia local en la zona. Las muestras fueron sumergidas en buffer fosfato (PBS) con antibióticos (100 mg/ml penicilina y 100 U/ml estreptomicina) y refrigeradas a 4 °C durante 24 horas hasta el procesamiento en el laboratorio. Los fragmentos de tejido fueron cortados en pequeños trozos (1 a 2 mm³ aproximadamente) y cultivados directamente en forma de explantos en placas de 24 pocillos con Medio Mínimo Esencial con sales de Eagle (E-MEM, Sigma-Aldrich - EE.UU.) suplementado con 20 % de Suero Fetal Bovino (FCS, Probiomont®, Montevideo - Uruguay). Las placas se conservaron durante cuatro semanas a 37 °C bajo una atmósfera húmeda con 5 % CO₂ y luego de una semana de cultivo, se evidenció el crecimiento de una monocapa de células fibroblasto alrededor de los trozos. Las mismas fueron colectadas y propagadas en botellas de 25 cm² (Greiner Cellstar®) para su posterior conservación en nitrógeno líquido. La presencia de contaminación con bacterias u hongos fue evaluada macroscópicamente y por técnicas microbiológicas de rutina. La extracción de las muestras de tejido de toros bovinos criollos fue exitosa y procesadas favorablemente. Los resultados obtenidos hasta el momento permitirán la creación del primer banco de cultivos celulares de bovino criollo, que podrá ser de utilidad para futuras investigaciones y para la conservación genética de la especie en el Uruguay.

Referencias

SOULÉ, M. 1991. Conservation: tactics for a constant crisis. *Science* 253:744-750.

TOVAR, H.; NAVARRETE, F.; RODRÍGUEZ, L.; SKEWES, O.; CASTRO, F. 2008. Cold storage of biopsies from wild endangered native Chilean species in field conditions and subsequent isolation of primary culture cell lines. *In Vitro Cell. Dev. Biol.—Animal*. 44:309-320.