

BIOTECNOLOGÍA REPRODUCTIVA

Comprende una serie de biotécnicas que están permitiendo aumentar la productividad y la tasa de mejoramiento genético de los animales ampliando la eficiencia reproductiva y una calidad superior de sus productos.

Edwin Mellisho S., *MSc.*



Estas biotécnicas posibilitan:

1. Mejorar la producción del sector ganadero.
2. Conservar especies en peligro de extinción.
3. Incrementar la multiplicación y transporte de material genético.
4. Conservar recursos genéticos únicos que puedan disponerse con relativa facilidad para su posible utilización futura.



Biotécnicas:

Espermatozoide

- ❏ Criopreservación
- ❏ Inseminación artificial
- ❏ Fecundación *in vitro*
- ❏ Sexaje

Ovocito

- ❏ Criopreservación
- ❏ Inseminación artificial
- ❏ Fecundación *in vitro*
- ❏ Clonado
- ❏ Sincronización e inducción de la ovulación
- ❏ Recuperación de ovocitos y maduración

Embriones

- ❏ Criopreservación
- ❏ Transferencia de embriones
- ❏ Clonado
- ❏ Sexaje



Progreso genético

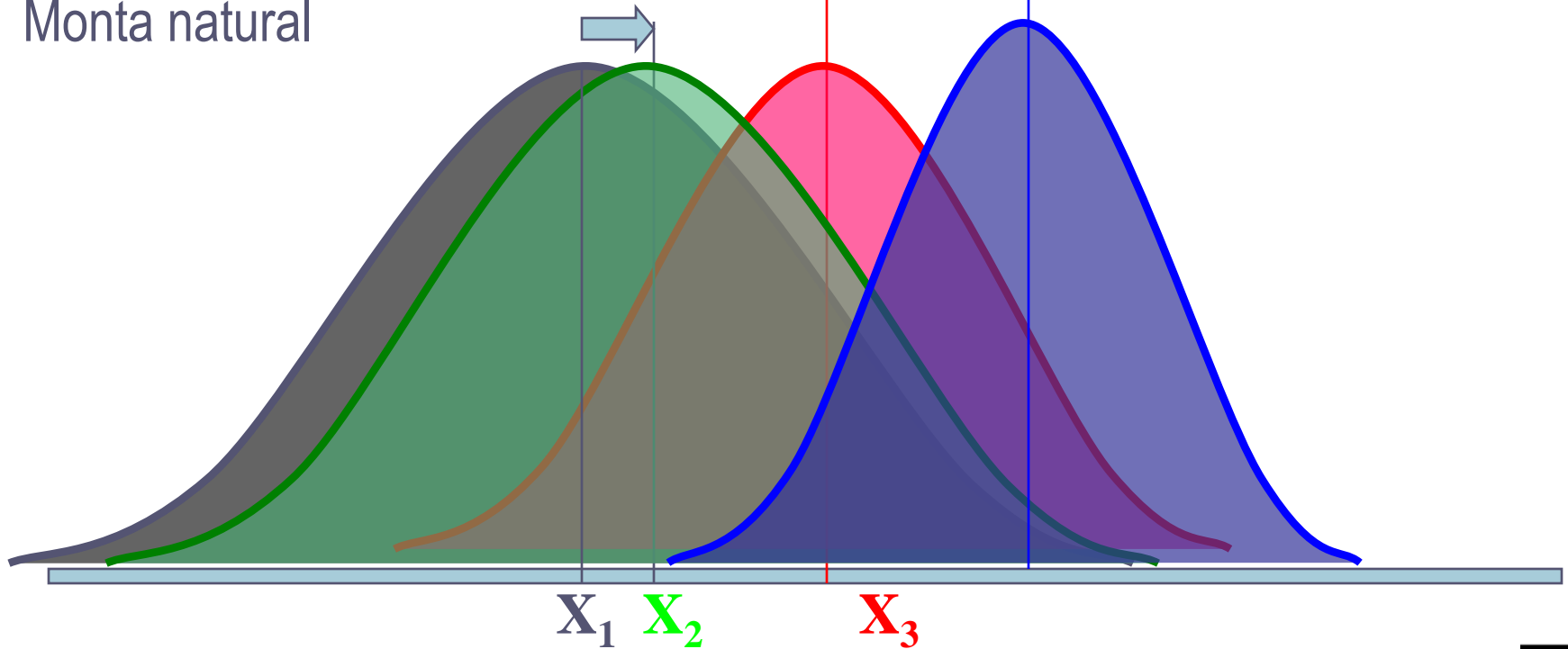
Transferencia de embriones



Insem. Artificial



Monta natural



Inseminación Artificial en bovinos



Edwin Mellisho Salas, Ms. Sc.



Historia de la inseminación

- Jefes Árabes, recuperaron el semen de la vagina con una esponja e inseminaron su yegua
- Leeuwenhook – 1677, Uso el microscopio para observar el espermatozoide
- Spallenzani – 1780, utilizo el semen refrigerado y congelado
 - Ivanov (Russia) – 1900, Desarrollo los métodos de Inseminación que hasta hoy se utiliza
 - En Dinamarca – 1933, se fundo la primera cooperativa lechera en usar Inseminación
 - La primera cooperativa de Inseminación en EEUU se formo en 1937 en New Jersey.

Ventajas de IA

- Mejoramiento genético
- Uso intensivo de los toros genéticamente superiores. Ej. 1 toro puede donar semen para inseminar 100,000 vacas por vida
- El semen puede ser usado después de muerto. El semen congelado de 40 a 45 años de antigüedad tiene buena fertilidad.
- Es posible trasladar semen de cualquier parte del mundo
- Se puede realizar la prueba de progenie
- Toros que representan peligro, pueden ser eliminados del hato
- Se reduce o elimina las enfermedades.
- Se mejora el sistema de manejo
- Es económico



Desventajas de IA

La detección de estro tiene que ser muy bueno

Preparación del inseminador

Dificultad al mantener el semen en buena calidad

- Son muy pocos los países en desarrollo donde se practica la IA en una escala que repercute considerablemente en la producción ganadera
- En el Perú, (10 a 15%) de las vacas en producción son inseminadas artificialmente, siendo los mayores demandantes los productores de las principales cuencas lecheras del país que manejan ganadería intensiva y semi extensiva.

Colección de semen,



Inseminación artificial



Colección de semen



Edwin Mellisho Salas, Ms. Sc.



Banco Nacional de Semen

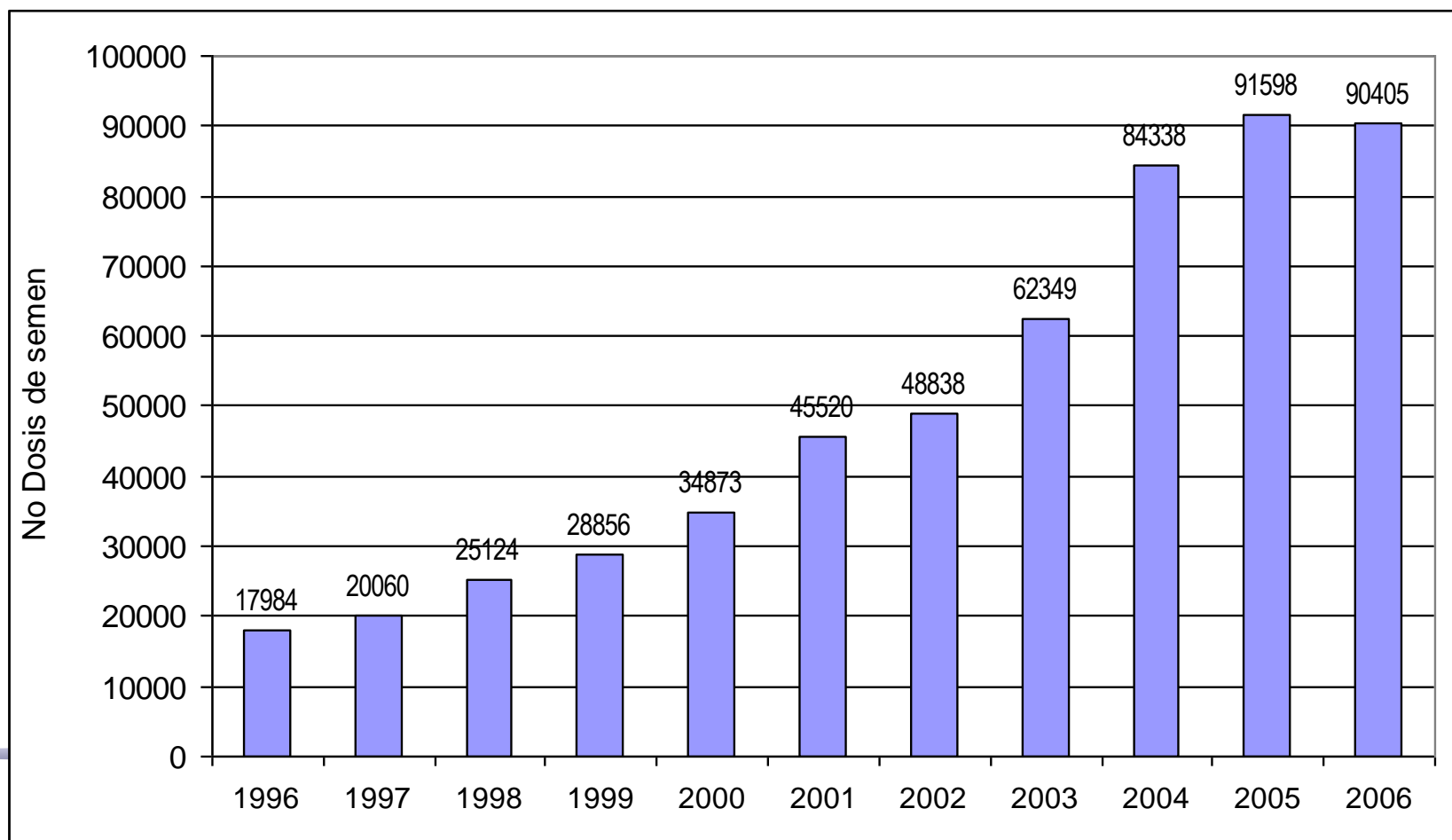


Equipo técnico



Banco Nacional de Semen

Distribución de semen congelado, periodo 1996 a 2006.

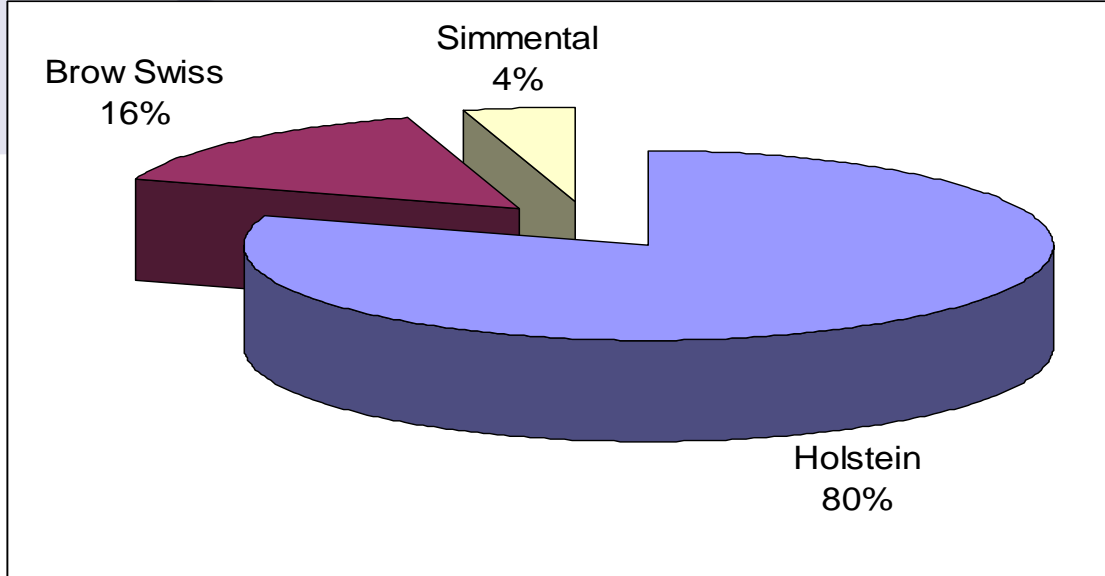


Radio de acción

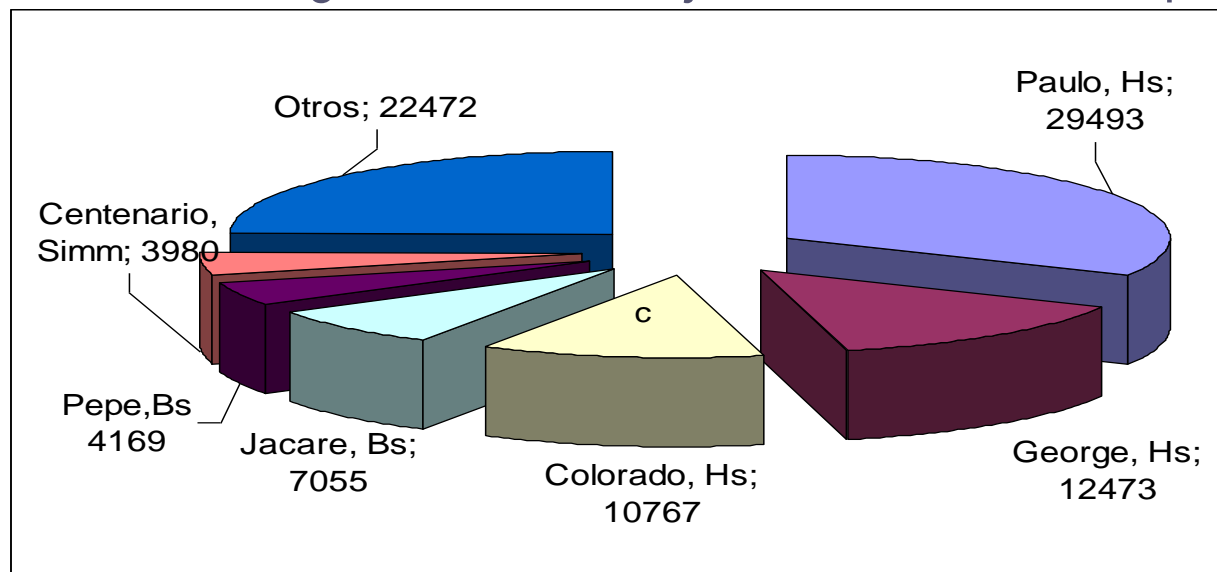
Departamentos	No Dosis
Lima	40.468
Arequipa	14.884
Cajamarca	7.482
Junín	5.656
La Libertad	5.093
Lambayeque	2.492
Ancash	2.415
Tacna	2.020
Amazonas	1.947
Apurímac	1.123
Piura	1.015
Ica	1.005
Madre de Dios	1.000
Huancavelica	965
San Martín	740
Ayacucho	652
Cusco	405
Ucayali	303
Huanuco	233
Puno	186
Tumbes	186
Pasco	135



El Banco Nacional de semen en el año 2006 distribuyó, semen de toros jóvenes nacionales en 22 departamentos del país, de los cuales el 70% (62 834 pajillas) se distribuye entre los ganaderos de las tres cuencas más importantes de Perú Lima, Arequipa y Cajamarca, destacando entre ellos Lima con un consumo de 40 468 pajillas (45% del total) de semen congelado de bovino.



Distribución de semen congelado de toros jóvenes nacionales, por razas



Distribución de semen congelado de toros jóvenes nacionales, por toros



Banco Nacional de Semen

Espartaco HTE: + 489 lb leche



Nombre: El Sequion Denmark Elevator **Espartaco**
Origen: Perú F.N.: 10-Ene-2001
R.G.: 10665

Padre: R-Hart TC **Denmark-ET**
Origen: EEUU
AHB: 189181

Madre: Sequion Elevator Blend **Sibila**
Origen: Perú
Lact.: 02 a 04m 305d 2X **7 561** kg de leche

Propietario: S.G. El Sequion S.A., Lurín-Perú



Banco Nacional de Semen

Centenario

Doble
propósito



Nombre: Derselbe Molinero Zeutello Susane

Centenario-ET

R.G.: 016

Origen: Alemania

F.N.: 12-Ago-2000

Padre: Zeutello

Origen: Alemania

WB: 3623827

Madre: Susanne

Origen: Alemania

WB: 2218908

Lactación: 305d **2X 5 650** kg de leche, 4,2% de
grasa

Propietario: Establo La Molina, Universidad
Nacional Agraria La Molina



Lechera de Lima

SERVICIO OFICIAL DE PRODUCTIVIDAD LECHERA

LOS MEJORES ESTABLOS - CUENCA DE LIMA

MARZO DE 2007

ORDEN	ESTABLO	NUMERO DE VACAS			PROMEDIO	PROMEDIO	PERIODO	INTERVALO	PADRE	PROPIETARIO
		TOTAL	EN	ORDEÑO	DIARIO	VACAS EN	DE SECA	ENTRE	IDENT	
		Nº	Nº	%	General	ORDEÑO	Dias	PARTOS	%	
					Leche Kg	Leche Kg		Meses		
<i>Establo con mas de 270 vacas</i>										
1º	EL LAURE	433	369	85	24,8	29,1	73	15,1	98	CAU. LOS LAURELES.
2º	GRANADOS	295	267	91	23,8	26,3	71	13,8	88	ADA ACHIC ENCALADA
3º	LOS TILOS	375	345	92	22,3	24,3	66	15,3	97	GANADERA LOS TILOS
4º	SAN ISIDRO	797	701	88	21,8	24,8	98	16,8	96	AGROIND. SAN ISIDRO
5º	SANTA JUANA	1.161	1.042	90	21,4	23,8	77	15,1	97	SOC. AGROP. CAMAY
<i>Establo con menos de 270 vacas</i>										
6º	LOS SAUCES	9	8	89	25,3	28,4	--	--	71	DIANA CUNLIFE
7º	LOS PATITOS	53	48	91	25,0	27,6	98	16,9	92	JOSÉ BAERTL MONTORI
8º	ITALIA	47	43	91	23,0	25,1	50	11,4	100	AGROPECUARIA ITALIA
9º	EL ROSAL	114	104	91	21,6	23,6	95	15,7	83	ELEUTERIO ACHIC E.
10º	EL ENCANTO	254	227	89	21,0	23,5	139	18,1	34	ALBERTO EDUARDO Z.
<u>CUENCA:</u>										
	PROMEDIO :	276	238	86	20.2	23,4	79	15,1	84	
	TOTAL :	25 Establos; 6 830 Vacas								

Telefax : 3492186

www.lamolina.edu.pe/productividadlechera

La Molina, Mayo de 2007

SERVICIO OFICIAL DE PRODUCTIVIDAD LECHERA

LAS MEJORES VACAS - CUENCA DE LIMA**MARZO DE 2007**

Lechera de Lima

<u>ORDEN</u>	<u>REGISTRO DE PRODUCT.</u>	<u>ARETE</u>	<u>LECHE</u> kg/día	<u>DIAS EN EN LACTANCIA</u>	<u>EDAD AL PARTO</u> (años)	<u>Nº de Parto</u>	<u>DIAS EN SECA</u>	<u>INTERVALO ENTRE PARTOS</u> Meses	<u>PADRE IDENTIF.</u>	<u>ORIGEN</u>	<u>ESTABLO</u>
1º	162648	4499	54,6	34	3,7	2	60	21,6	JULIAN	PERU	Santa Juana
2º	160830	592	53,8	40	3,5	3	49	12,5	AEROTATION	USA	Granados
3º	164635	1557	53,8	48	3,3	2	55	11,8	GILLES	USA	El Laure
4º	157126	535	52,4	37	5,4	4	57	14,0	AEROTATION	USA	Granados
5º	164638	1593	51,2	60	3,0	2	57	11,7	JUPITER	PERU	El Laure
6º	159422	4058	51,1	18	4,9	3	111	16,0	YANKUNTA	PERU	Santa Juana
7º	160931	124	51,0	3	4,7	3	57	12,6	BLACK BART	USA	Los Patitos
8º	149070	3154	51,0	25	7,6	6	66	14,5	JACK	USA	Santa Juana
9º	164447	1551	51,0	109	3,2	2	70	12,0	AEROTATION	USA	El Laure
10º	164590	256	50,9	55	3,1	2	49	13,2	YANKUNTA	PERU	El Remanso
11º	161380	603	49,6	79	4,3	3	50	11,7	AEROTATION	USA	Granados
12º	164487	1093	49,5	30	3,1	2	37	13,2	SILVER	USA	Piamonte
13º	164648	6871	49,2	21	3,2	2	72	12,9	YANKUNTA	PERU	San Isidro
14º	160487	1292	48,4	97	4,8	3	67	12,9	SONIC	USA	El Laure
15º	164221	1544	48,2	52	3,4	2	72	15,1	AEROTATION	USA	El Laure

CRIOPRESERVACIÓN

Es el proceso de congelar muestras biológicas para reducir su actividad metabólica y mantenerlas a temperaturas muy bajas durante tiempos prolongados, preservando al mismo tiempo su viabilidad

Métodos de criopreservación:

- Refrigeración o Preservación hipotérmica
- Criopreservación convencional
- Vitrificación

Criopreservación de gametos, embriones, tejidos ...

Espermatozoides



Ovocitos



Criobiología
1600s – 1700s
Lazzaro Spallanzani

Primera Criopreservación exitosa Polge (1949) en gallo y bovino

Embriones



Ovarios

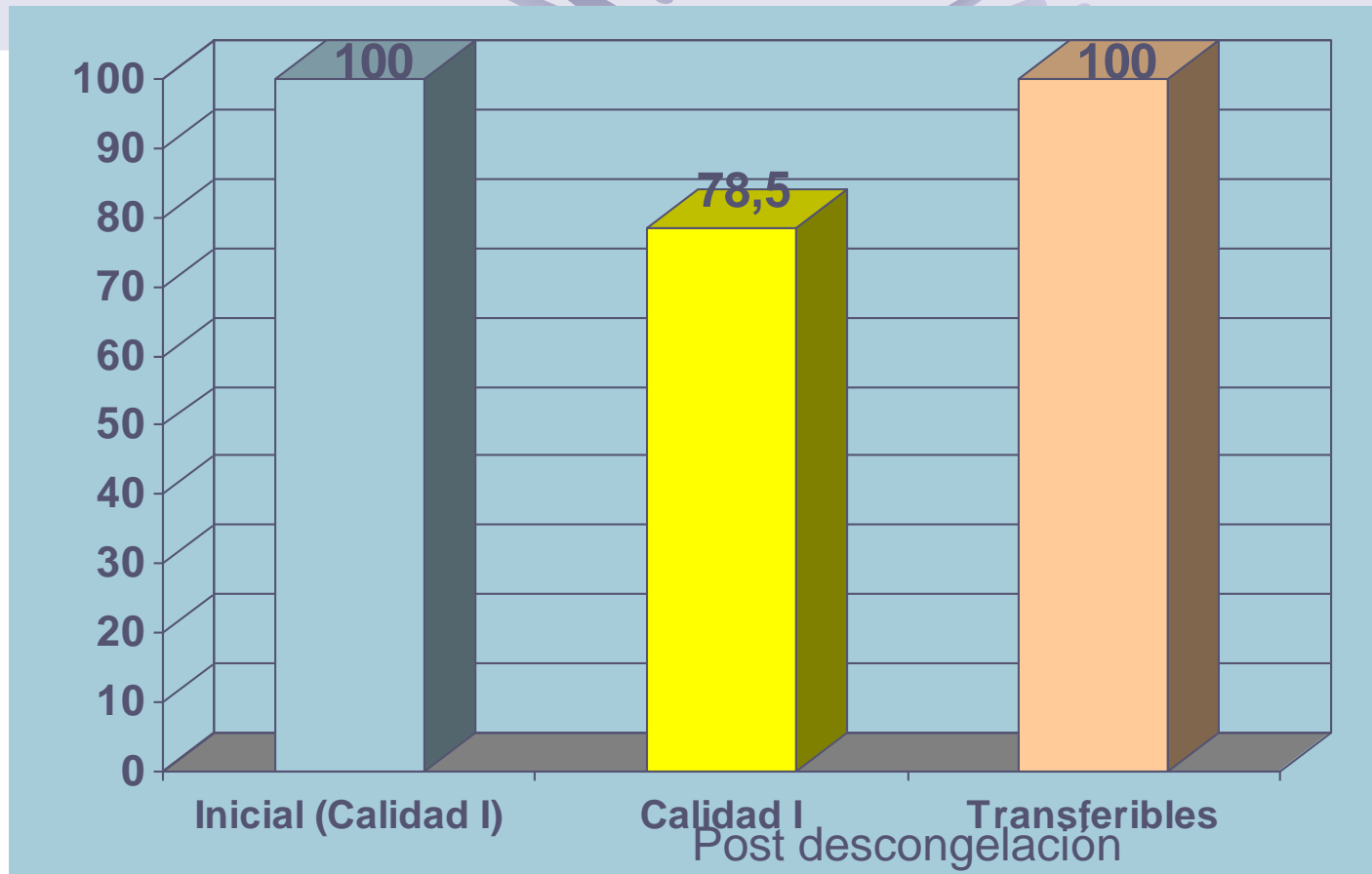


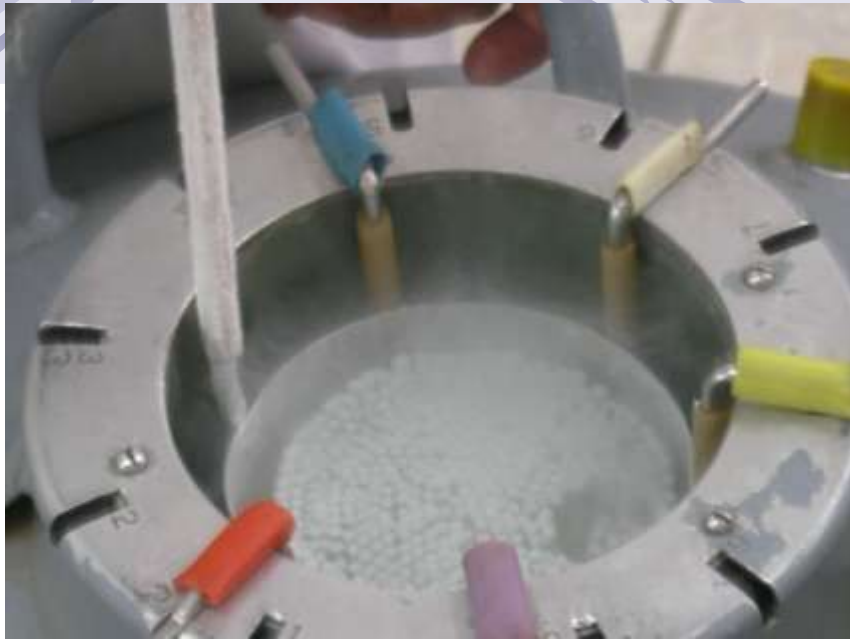
Primeros nacimientos de embriones mamíferos criopreservados

Especies	Referencias
Ratón	Whittingham y col. (1972); Wilmut (1972)
Bovino	Wilmut y Rowson (1973)
Conejo	Bank y Maurer (1974)
Ovino	Willadsen y col. (1976)
Caballo	Yamamoto y col (1982)
Humano	Zeilmaker y col. (1984)
Cerdo	Hayashi y col. (1989)

Adaptado de Leibo y Songansen (2002)

Calidad post descongelación de embriones de coneja vitrificados





Sincronización e inducción de la ovulación

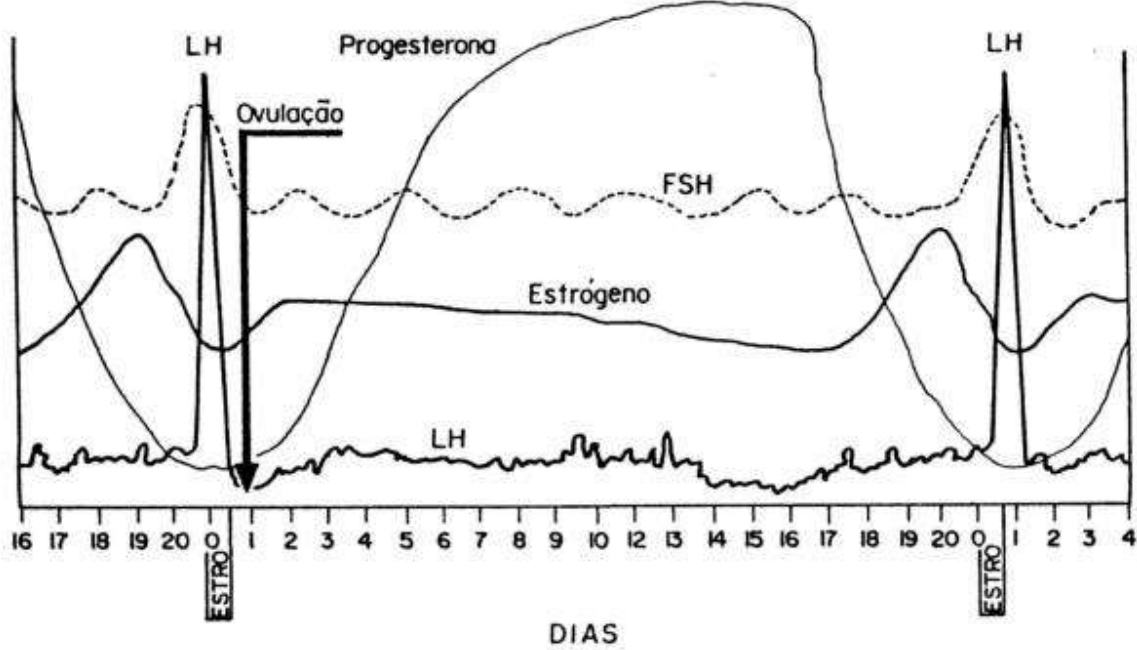
El conocimiento de los mecanismos involucrados en el control del ciclo estral dan las bases para comprender y establecer métodos eficientes de:

- Sincronización del celo
- Inducción de ovulación
- Superovulación

Ventajas

- Permite predecir el momento del celo con un grado razonable de precisión
- Reduce el tiempo para detectar el celo.
- No se requiere detectar celo.
- Se reduce el tiempo de detección e inseminación
- Posibilita la inseminación artificial programada sin la detección de celo.





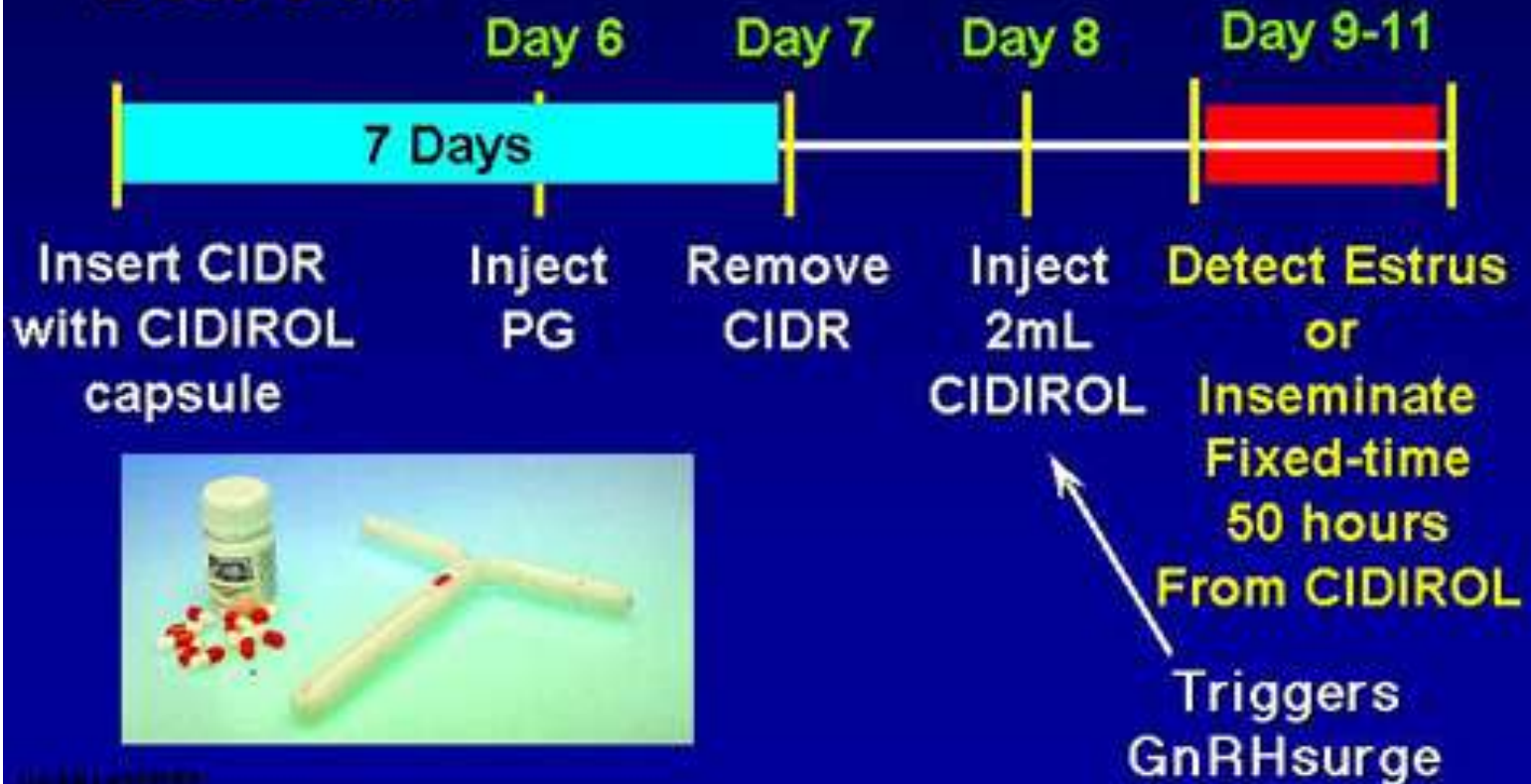
Factores en consideración

- Grado de sincronización requerida
- Época del año
- Factores económicos y de mercado

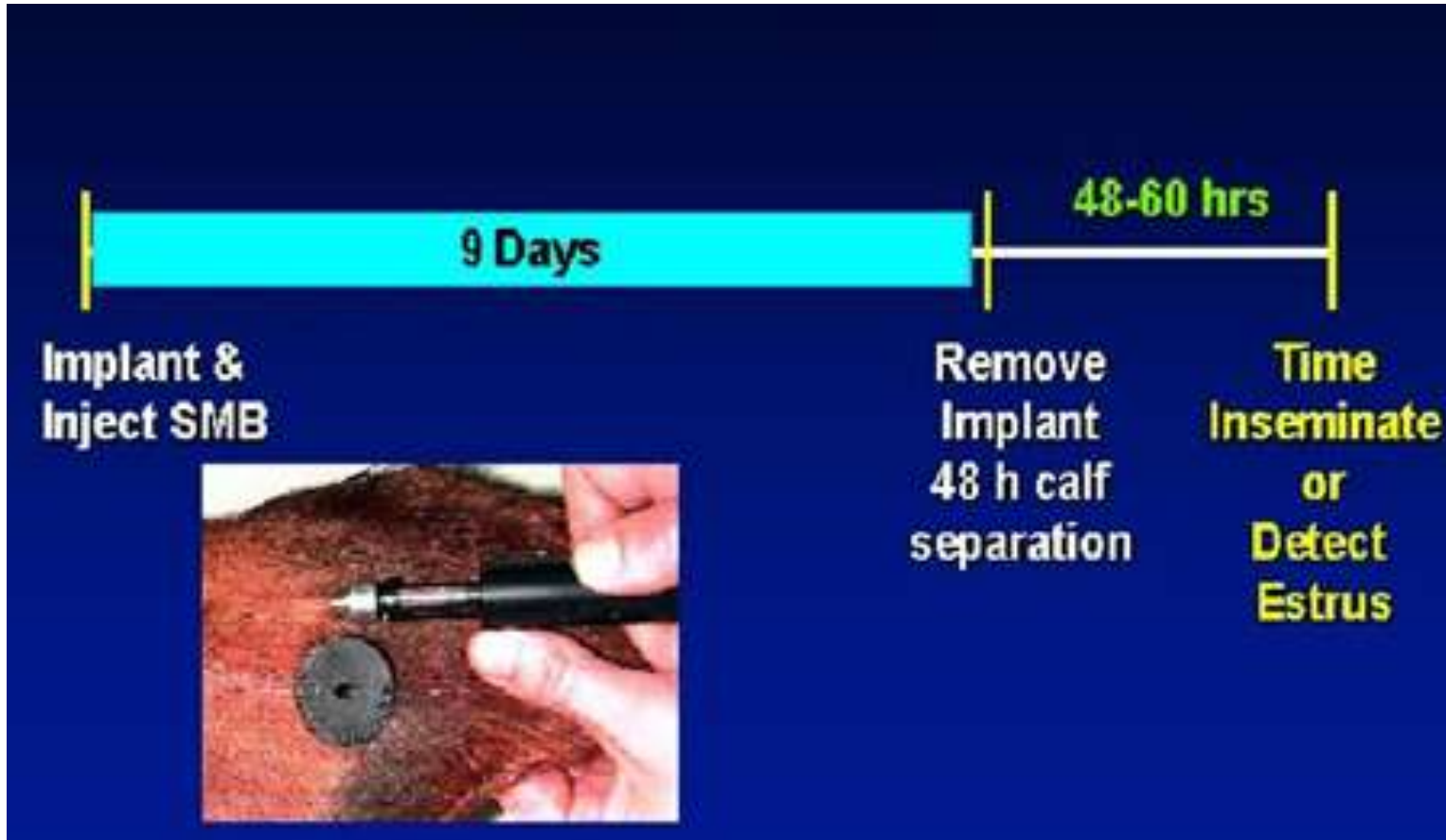


EAZI-BREED CIDR

Beef Cow



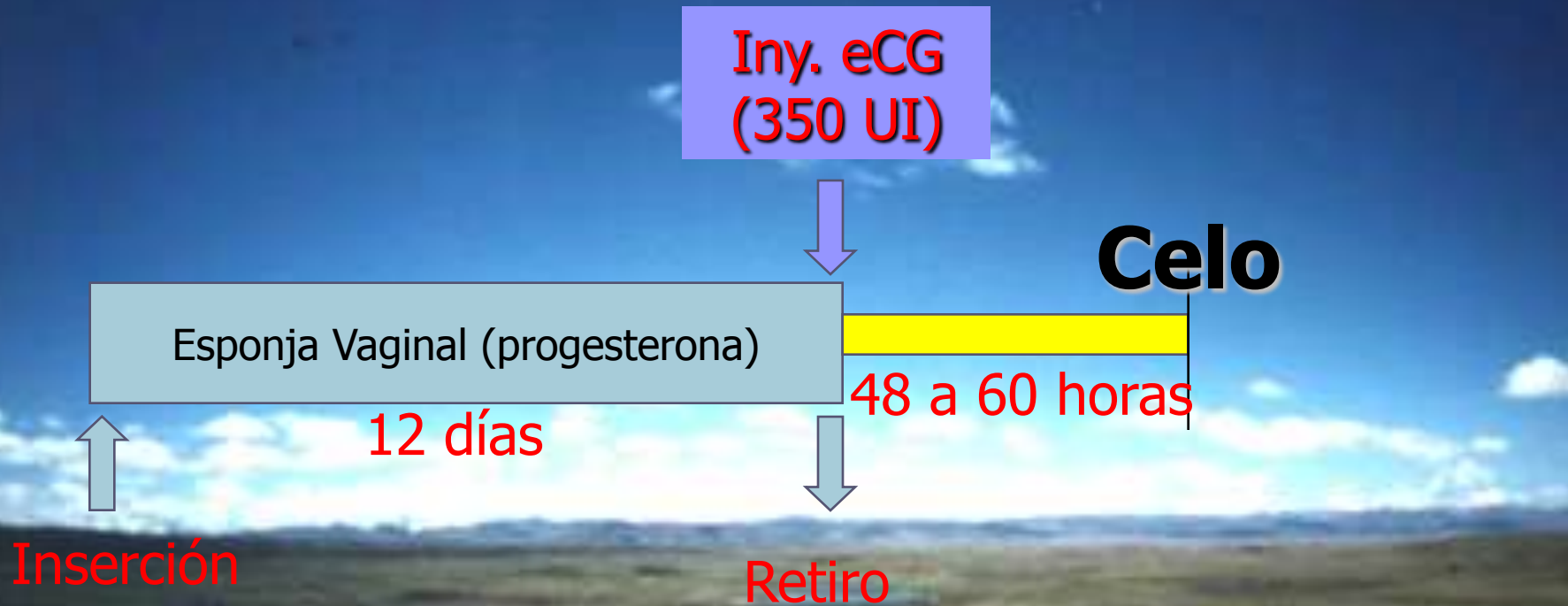
Crestar, Intervet



Productos intravaginales



Sincronización de estro e inducción de ovulación



Inseminar

- Inseminar a 48 a 56 h. del retiro de esponja
- Detectar celo para inseminar

Tasa de presentación de celos

Esponjas intravaginales	
N° de ovejas tratadas	138
N° de ovejas en celo	134
% Ovejas en celo	97.1

(Mellisho y Col., 2005)

Producción de embriones *in vivo*

Transferencia de embriones



Edwin Mellisho S.
MSc. Reproducción Animal
Universidad Nacional Agraria La Molina

Ventajas

- Incrementa el número de crías/hembra
- Incrementa el mejoramiento genético rápidamente.
- Reduce el intervalo entre generaciones
- Bajo costos de transporte
- Evita problemas sanitarios
- Se reproduce animales en peligro de extinción
- Contribuye al estudio de esterilidad y baja fertilidad
- Contribución en la biología y medicina

(Hanagawa, 1988)

Desventajas

- Requiere de conocimientos en técnicas avanzadas
- Requiere investigación en muchas áreas
- Es costoso
- Posible efecto adverso de las hormonas exógenas
- Lesiones al realizar procedimientos quirúrgicos



Desarrollo Histórico de la transferencia de embriones

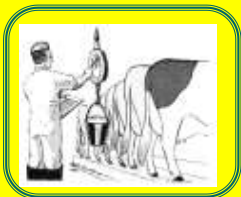
Autor, año	País	Evento	Especies
Heape, 1890	ENG	Primer éxito en E.T	Coneja (4 cr.)
Beidl et al, 1922		Éxito en E.T.	Coneja
Nicholas, 1933		Éxito en E.T.	Rata
Warwick and Berry, 1934- 49		Éxito en E.T.	Oveja y cabra
Lopyrin et al., 1950	USA JAP	Éxito en E.T.	Oveja
Kvansnickii, 1951		Éxito en E.T.	Cerda
Willet et al, 1951		Éxito en E.T.	Vaca
Oguri an Tsutsumi, 1974		Éxito en E.T.	Yegua
Kraemer et al, 1976		Éxito en E.T.	Mono
Schriber and Kraemer, 1978		Éxito en E.T.	Gata
Steptoe and Edwards, 1978		Bebe Mujer nacida por E.T	Mujer
Kinney et al., 1979		Éxito en E.T.	Perra
Marden and Chang, 1952	CAN	Primer transporte intercontinental de embrión almacenado a 10° C	Coneja
Alberta Livestock transplants Ltd., 1971		Primera compañía comercial para E.T. en animales de granja	Vaca
Whittingham et al., 1972		Nacimiento de cría de embrión refrigerado a largo periodo.	Ratón
Wilmut and Rowson, 1973		Nacimiento de cría de embrión congelado	Vaca
1974	USA	Estableció la "Internacional Embryo Transfer Society"	



Selección de donadoras

Las donadoras tienen que ser seleccionadas y manejadas muy cuidadosamente y tomando en consideración lo siguiente:

- Calidad genética
- Ciclos estrales regulares
- Posean historia reproductiva
- Buena condición corporal
- Fértiles
- Animales postpuberes
- Saludable
- Producción de leche pasada el pico de lactancia



Lechera de Lima

SERVICIO OFICIAL DE PRODUCTIVIDAD LECHERA

LACTANCIAS ELITE, 305 DIAS - CUENCA DE LIMA**Diciembre de 2005**

ORDEN	REGISTRO DE PRODUCT.	ARETE	LACTANCIA 305 DIAS kg de leche	FECHA * DE PARTO	AL PICO DE LACTANCIA kg de leche	EDAD AL PARTO (años)	Nº de Parto	INTERVALO ENTRE PARTOS Meses	PADRE		ESTABLO
									IDENTIF.	ORIGEN	
1º	155925	3719	14.143	15-ene-05	53,0	3,8	02	20,8	Aerotation	USA	SANTA JUANA
2º	161997	207	12.608	12-ene-05	46,6	3,7	01	...	Samoa	PERU	EL ROSAL
3º	147168	865	12.336	3-ene-05	50,2	6,0	04	18,2	Alvoor	USA	EL LAURE
4º	153415	1067	12.171	15-ene-05	42,0	4,6	03	18,2	Boagy	USA	EL LAURE
5º	159010	6288	12.096	12-ene-05	45,6	3,6	02	11,4	Elton Bob	USA	SAN ISIDRO
6º	158808	3823	12.053	3-ene-05	53,0	3,4	02	11,9	Aerotation	USA	SANTA JUANA
7º	161995	201	11.597	8-ene-05	47,3	3,7	01	...	Pablo	PERU	EL ROSAL
8º	158073	544	11.542	17-dic-04	42,4	3,2	02	13,4	Aerotation	USA	GRANADOS
9º	161896	6644	11.523	7-ene-05	37,6	1,9	01	...	Emory Ken	USA	SAN ISIDRO
10º	158814	3976	11.515	27-dic-04	41,9	2,9	02	11,4	Aerotation	USA	SANTA JUANA
11º	157610	1216	11.482	8-ene-05	49,0	3,3	02	15,8	Destruction	USA	EL LAURE
12º	162266	960	11.409	13-ene-05	41,0	2,0	01	...	Integrity	USA	SAUSALITO
13º	150009	896	11.215	5-ene-05	51,4	8,2	04	12,9	Silvestre	PERU	LOS TILOS
14º	159081	1172	11.146	1-ene-05	48,4	2,8	02	11,1	Chance	USA	LOS TILOS
15º	158341	6384	11.089	20-dic-04	41,0	3,3	02	12,9	Elton Bob	USA	SAN ISIDRO

Telefax : 3492186

La Molina, Febrero de 2006

* Solo se incluye record de vacas con parto del 15/dic/2004 al 15/ene/2005
y completaron 305 dias de lactancia en el control de diciembre/2005

Hormonas que son usadas comercialmente



FSH-p



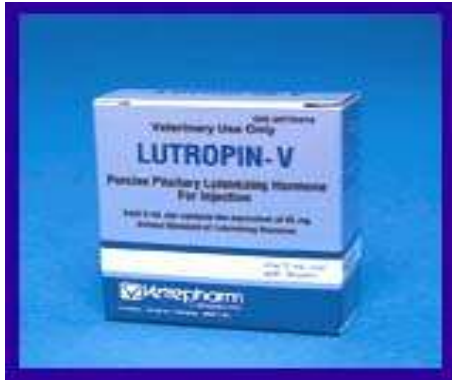
FSH-o



hMG



eCG



LH-P



PGF2 α



GnRH



Progesterona

Recuperación de embriones

Animales pos-mortem

Animales vivos

- Recuperación quirúrgica
 - Laparotomía media ventral
 - Recuperación por el flanco
 - Recuperación transvaginal
 - Recuperación laparoscópica
- Recuperación no quirúrgica

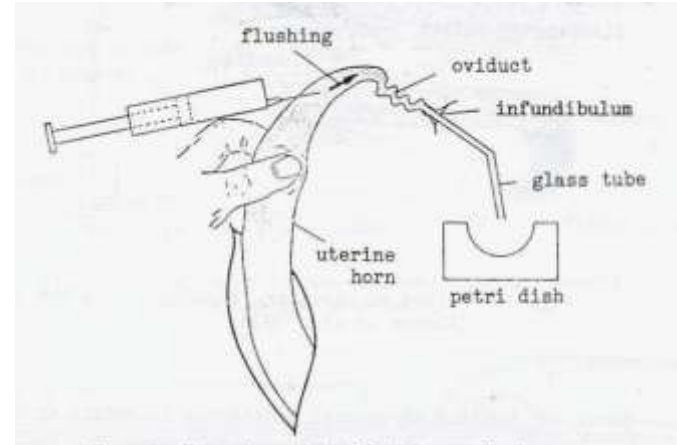
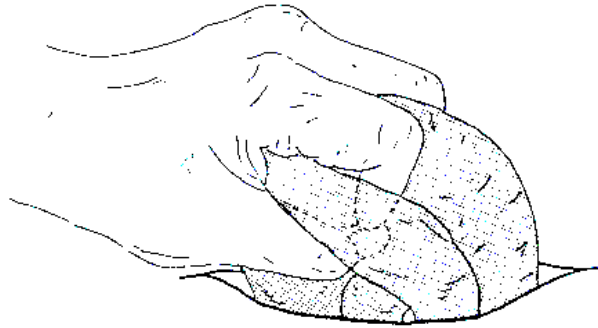


Recuperación de embriones



La primera transferencia quirúrgica con éxito en bovinos fue lograda por Willet et al., (1951) y practicaron la cirugía bajo anestesia general, con el animal en posición de cubito dorsal y por la línea media

Recuperacion de embriones



Historia reproductiva sobre la respuesta a la primera superovulación.

Parámetros	Estado reproductivo	
	Fértil	Infértil
Nro de animales	666	318
Nro de huevos /donante	10_a	6_b
Nro de embriones viables/donante	6_a	2_b
Donantes sin embriones transferibles	14%_a	51%_b
% preñez en receptoras	68_a	58_b

Hasler (2003)

Recuperación de ovocitos, maduración y fecundación *in vitro*

- La recuperación de ovocitos en mamíferos permite:
 - Extraer repetidas veces ovocitos inmaduros directamente del ovario, sin consecuencias de importancia para la hembra donante y utilizar esos ovocitos en programas de maduración y fecundación *in vitro*. (*ovum pick up*)
 - Recuperar COCs de ovarios de hembras sacrificadas en mataderos, madurarlos y:
 - Fecundación *in vitro*
 - Criopreservación
 - Clonado



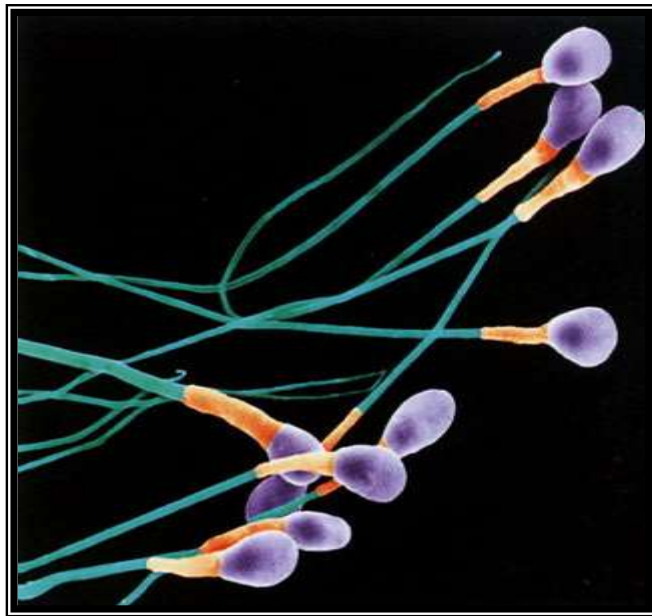
FECUNDACIÓN *in vitro*

Fases:

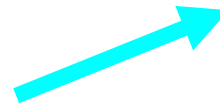
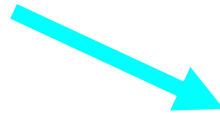
- 1. Estimulación del ovario**
- 2. Extracción de ovocitos**
- 3. Inseminación**
- 4. Cultivo *in vitro* del embrión**
- 5. Congelación y descongelación de embriones**



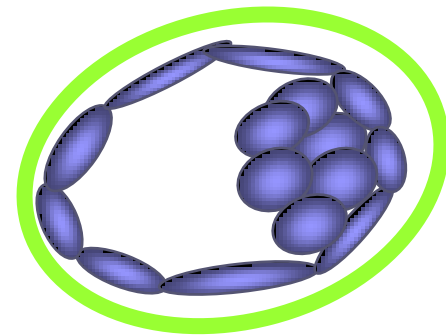
Calidad del ovocito



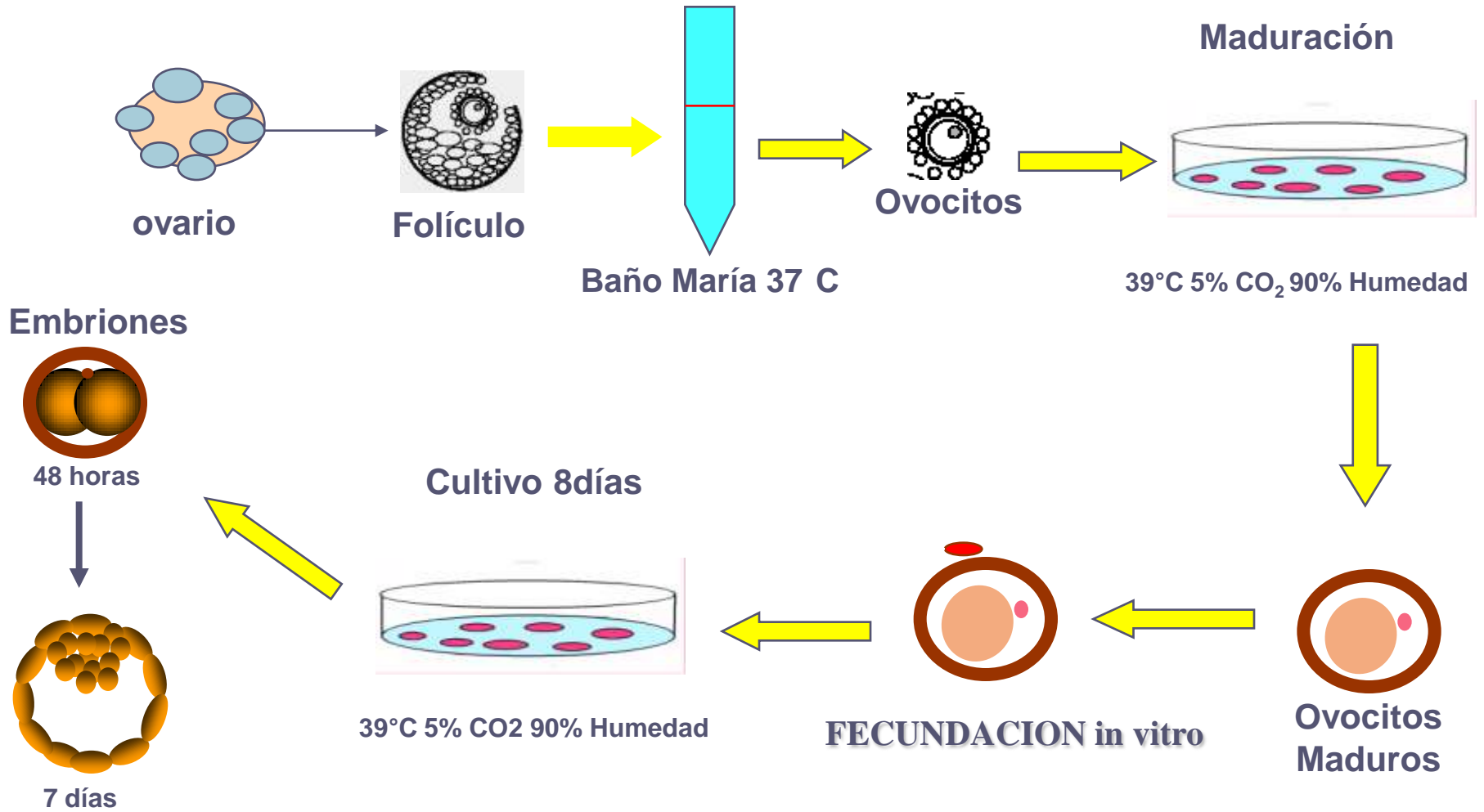
Calidad del
espermatozoide



Calidad del embrión



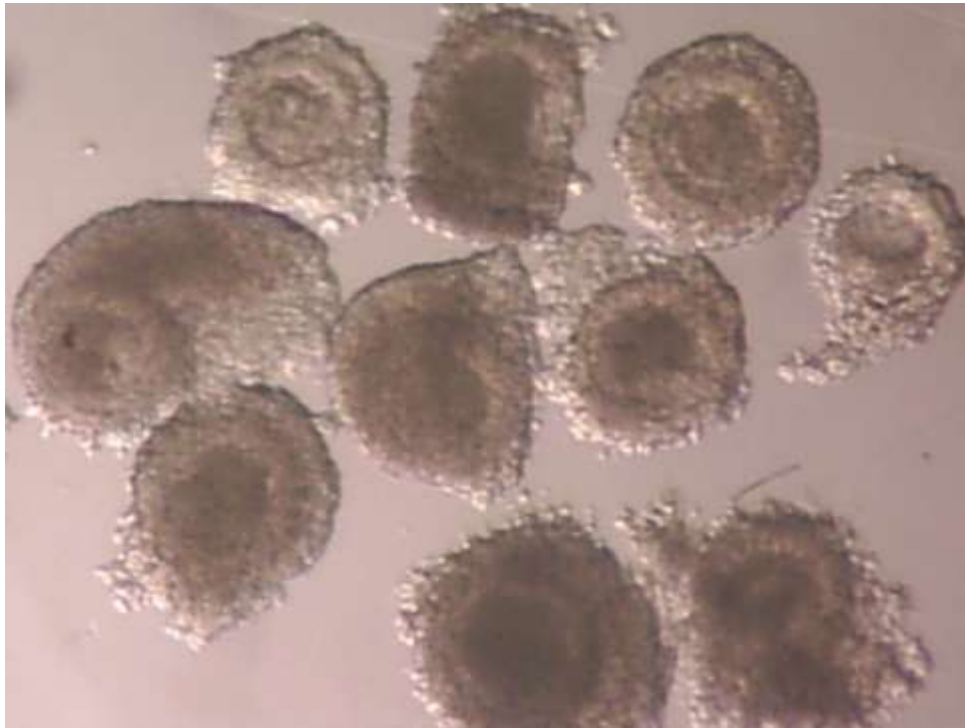
Modelo de Producción Embriones *in vitro*



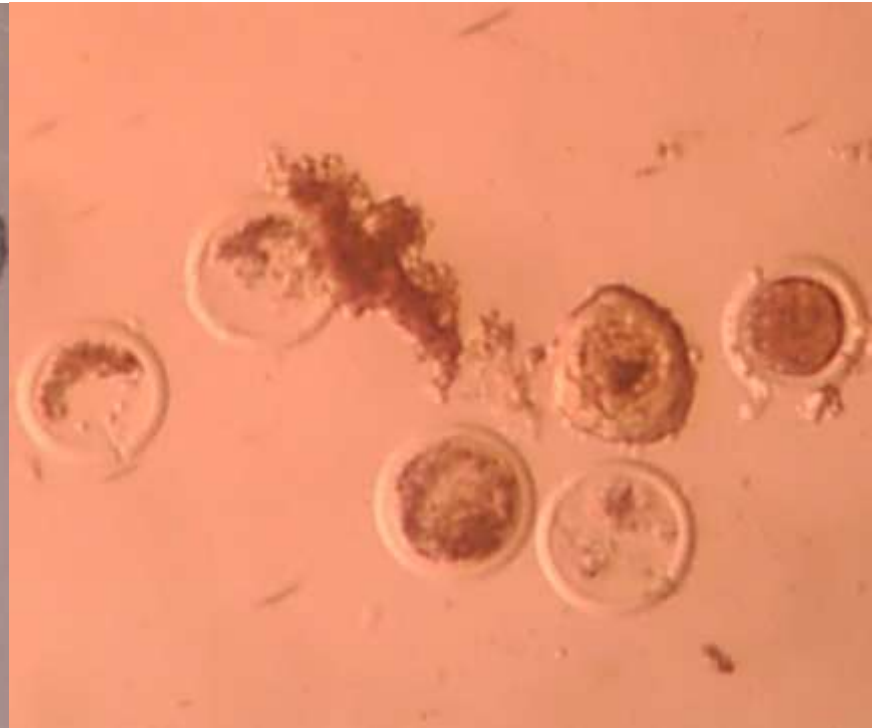


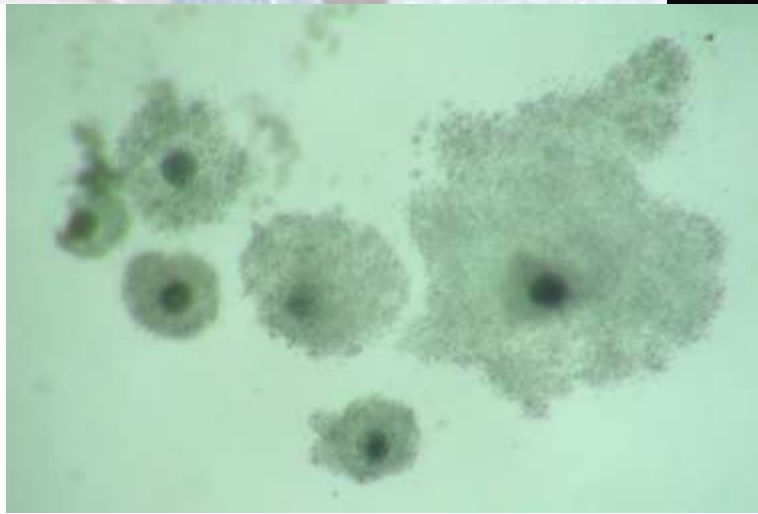
Calidad de ovocitos recuperados

I, II



III, IV





Tasa de recuperación

Investigador	Tratam.	Edad	Método de Recup.	Folículos aspirados	Ovocitos recuper.	% recup.
Taneja et al (2000)	FSH	4 m	Lap-OPU	47,4	39,8	84,0
Herrera y Correa (2000)	FSH, eCG, LH	2 m	Lap-OPU	7,9	6,4	81,0
Caccia y Brogliatti, (1999)	FSH	1 m	Ult-OPU	11,5	5,6	48,7
Caccia y Brogliatti, (1999)	eCG	3 m	Ult-OPU	19,2	7,2	37,5
Fry et al (1998)	FSH, eCG, GnRH	5 m	Lap-OPU	22,0	10,8	49,1

Recuperación de ovocitos

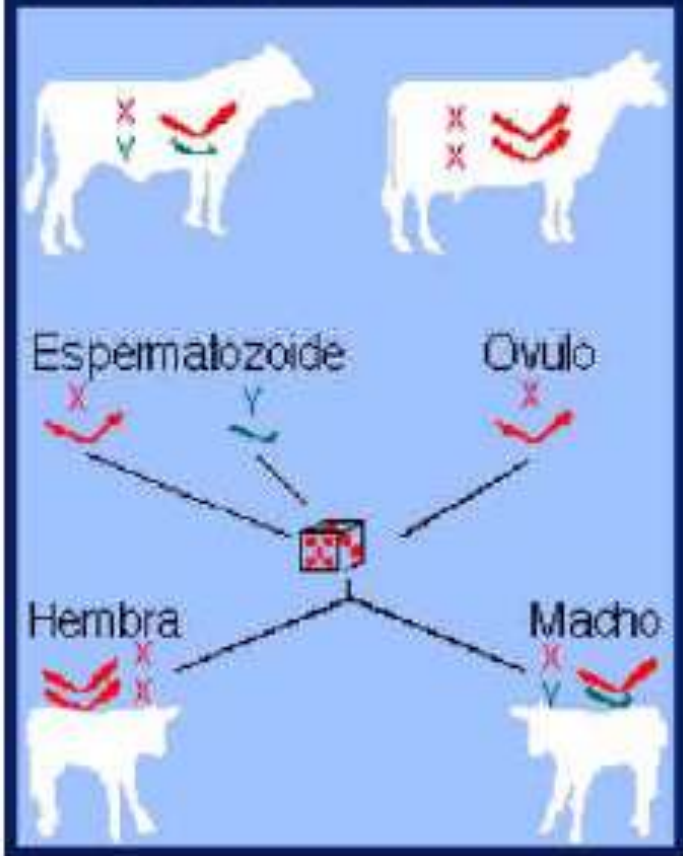
Investigadores	Edad (meses)	COCs/sesión
Galli y col., 2001	6 a 8	9,7
Snel-Olivera y col., 2003	10	12,2
García y Salaheddine, 1998; Hidalgo y col., 2002; Reis y col., 2002; Mogollón, 2003	Vacas	4,7 a 5,8

Sexaje

- Permite generar únicamente ejemplares del sexo deseado en puntos específicos de un programa de mejoramiento genético, lo que reduce considerablemente el número de animales necesario y acelera el progreso genético.
- El semen sexado permitiría aumentar notablemente las tasas de mejoramiento y tendrá importantes consecuencias para la producción comercial del producto final.



¿Macho o hembra?



Flujo de citometria Citómetria

Biopsia y PCR



Sexaje de semen

- 100 vacas
- Tasa de eliminación, 30%
- Tasa de parición, 85%
- 85 Crías nacidas año
- Mortalidad 5 a 10%(7)
- 39 hembras, 39 machos
- Mortalidad (3)
- 37 hembras, 38 machos**
- 30 remplazan + 7 incremento (1500US \$)**
- 10,500 US\$ excedente**

- 100 vacas
- Tasa de eliminación, 30%
- Tasa de parición, 85%
- 85 Crías nacidas año
- Mortalidad 5 a 10%(7)
- 70 hembras, 8 machos
- Mortalidad (5)
- 67 hembras, 6 machos**
- 30 remplazan + 37 incremento (1500 US \$)**
- 55,500 US\$ excedente**

Clonación

- Promete ser una biotécnica que contribuirá de manera sustancial en el desarrollo de la producción animal, la biomedicina, la preservación de especies en extinción y en la investigación básica.

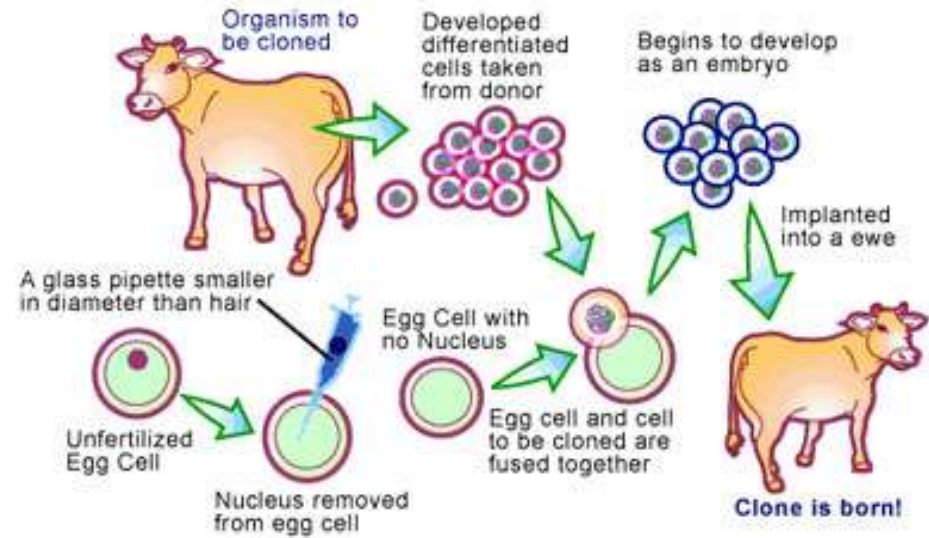
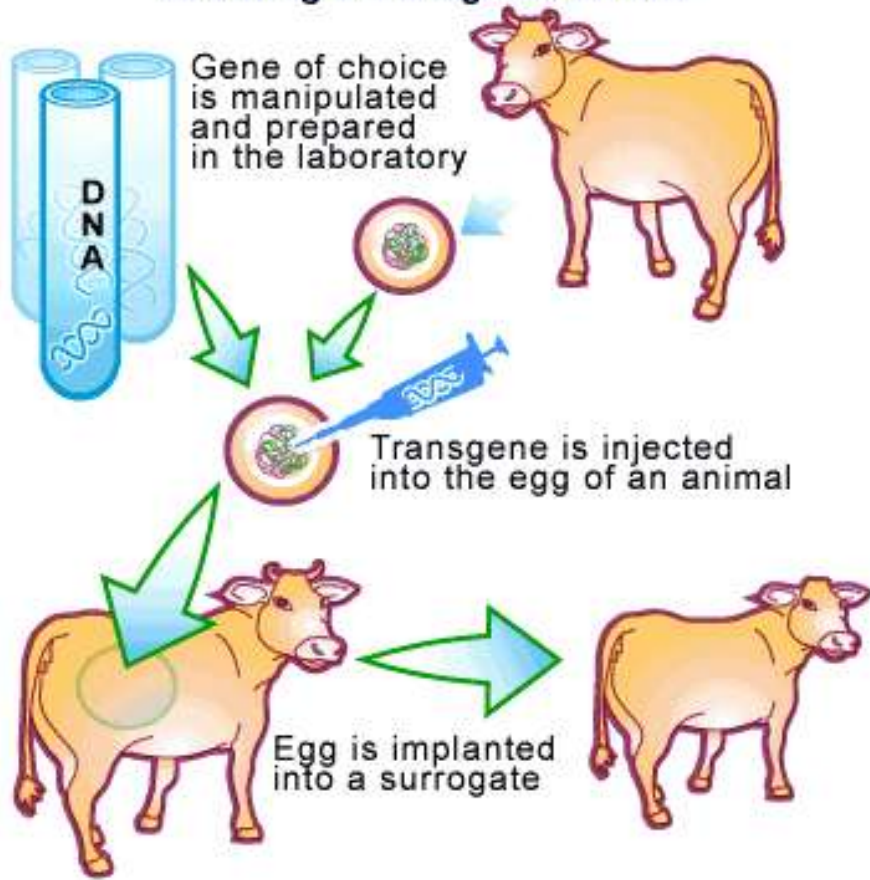




Caso, Dolly, el embrión se implantó en el útero de una Scottish Blackface y al cabo de 148 días de gestación esta parió un cordero (Dolly) de raza Finn Dorset (totalmente blanca) e idéntico a animal donador de núcleo.



Creating a transgenic animal



Con genes humanos que codifica una proteina llamada Factor IX ,en leche, para tratar la Hemofilia B.

Somatotropina humana



Gracias

