

BIOTECNOLOGIA APLICADA A LA REPRODUCCIÓN ANIMAL

LIVIO OSCAR SALA

CENTRO DE REPRODUCCIÓN ANIMAL

INTA-CORFO

Desarrollo de la biotecnología reproductiva

- ▶ Investigación básica en reproducción (fisiología, embriología, ingeniería genética, etc.).
- ▶ Reproducción asistida en humanos.
- ▶ Apoyo a planes de mejoramiento genético de animales de producción

Inseminación artificial.

- ▶ Estudio de los reproductores
- ▶ Tratamientos para la sincronización celos en las hembras
- ▶ Inseminación de las hembras con semen fresco o congelado

Estudio de reproductores.

- ▶ Evaluación morfológica y fisiológica del sistema reproductivo en machos.
- ▶ Evaluación de semen
 - ▶ Volumen de eyaculados
 - ▶ Motilidad masal
 - ▶ Recuento de espermatozoides
 - ▶ Evaluación de porcentajes de vivos y muertos (eosina/nigrocina)
 - ▶ Evaluación de funcionalidad de membrana (test de Host)
 - ▶ Funcionalidad mitocondrial
 - ▶ Progresión lineal
 - ▶ Fragmentación del ADN

Extracción de semen



Extracción de semen

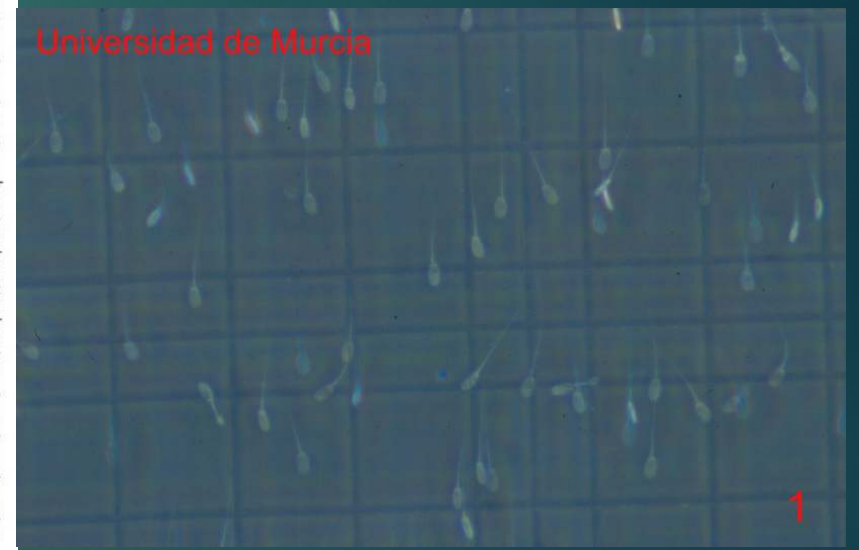
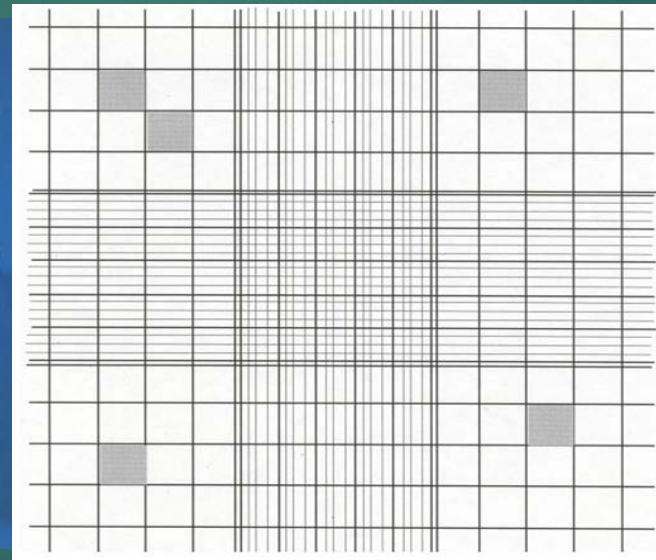


Observación de la vitalidad

Motilidad masal



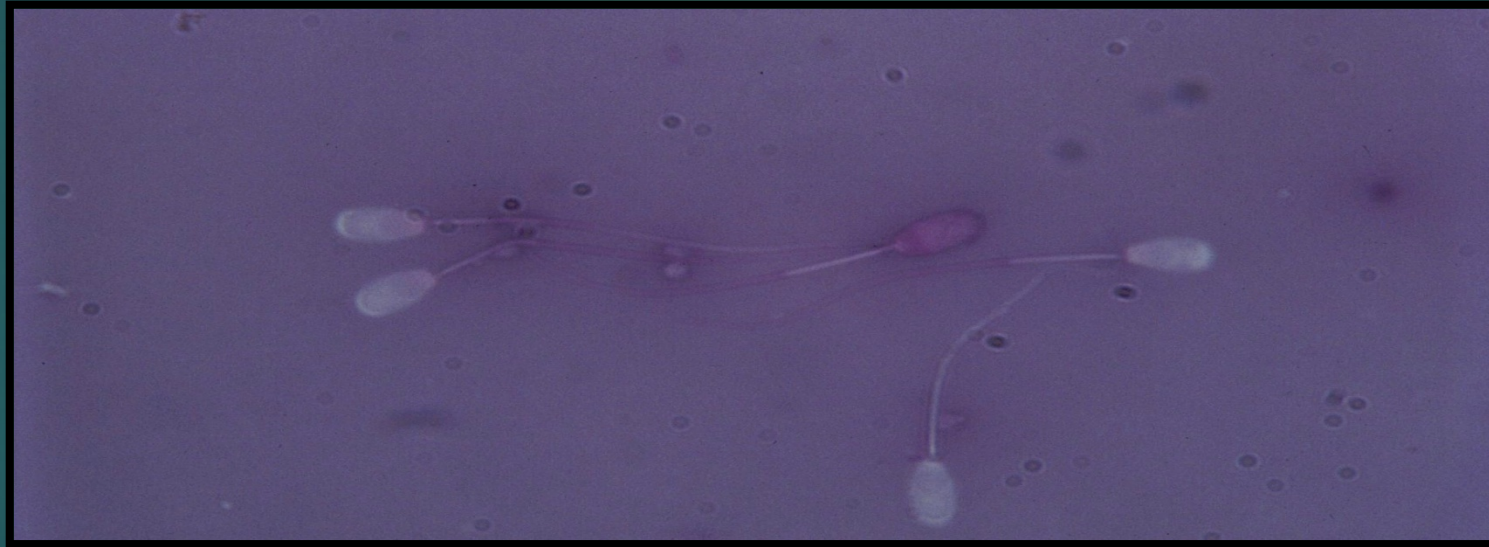
Recuento de espermatozoides



Universidad de Murcia

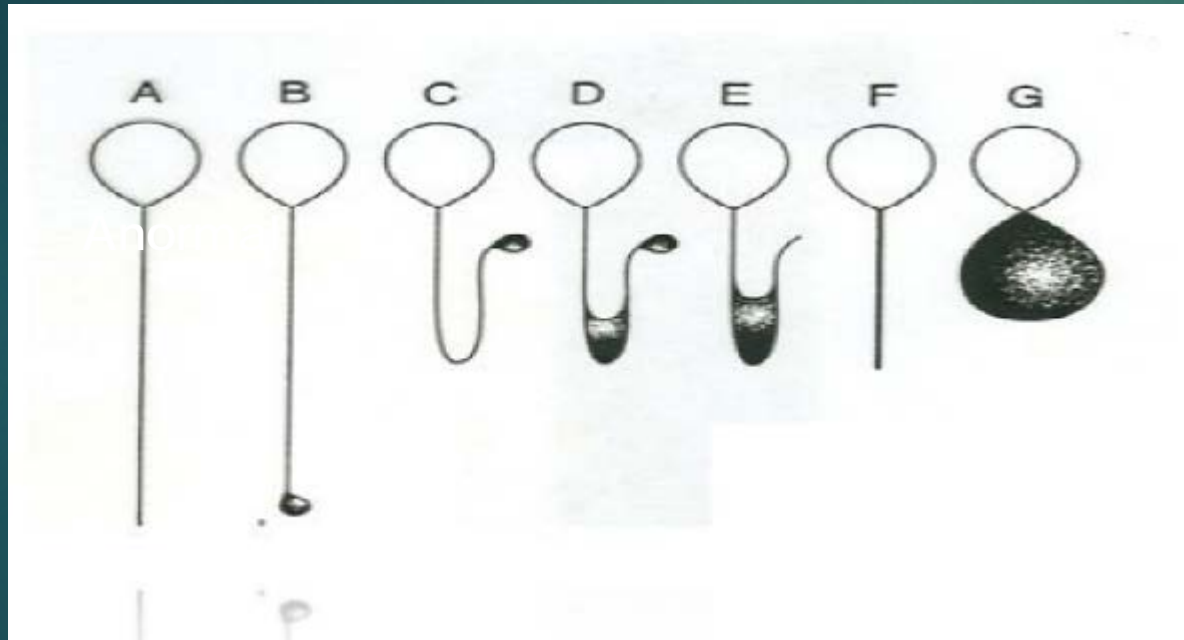
Porcentaje de vivos y muertos

Tinción con eosina/nigrosina



Funcionalidad de la membrana

Test de hos



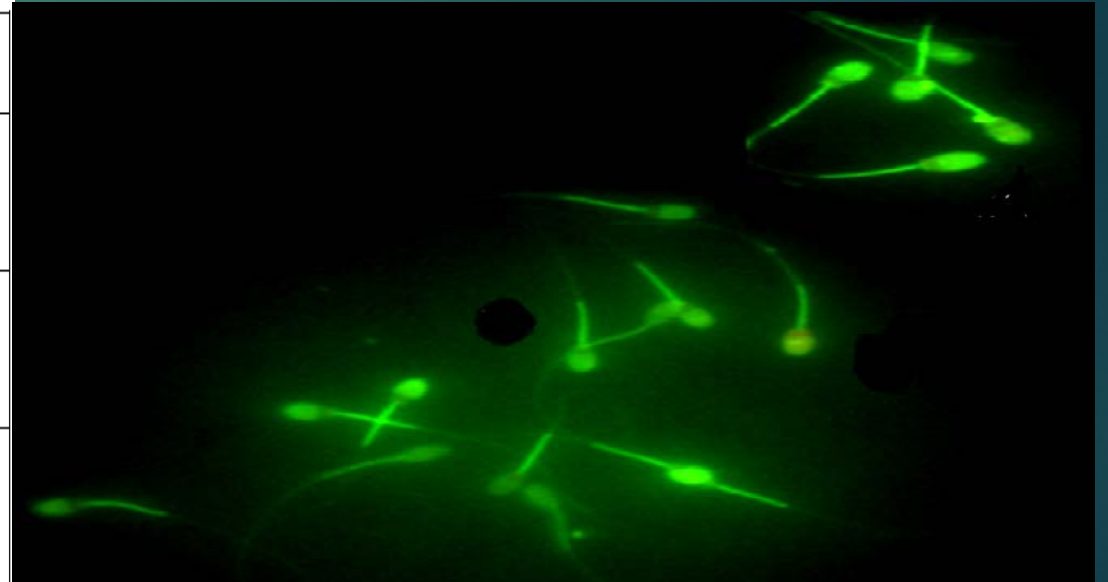
Normal



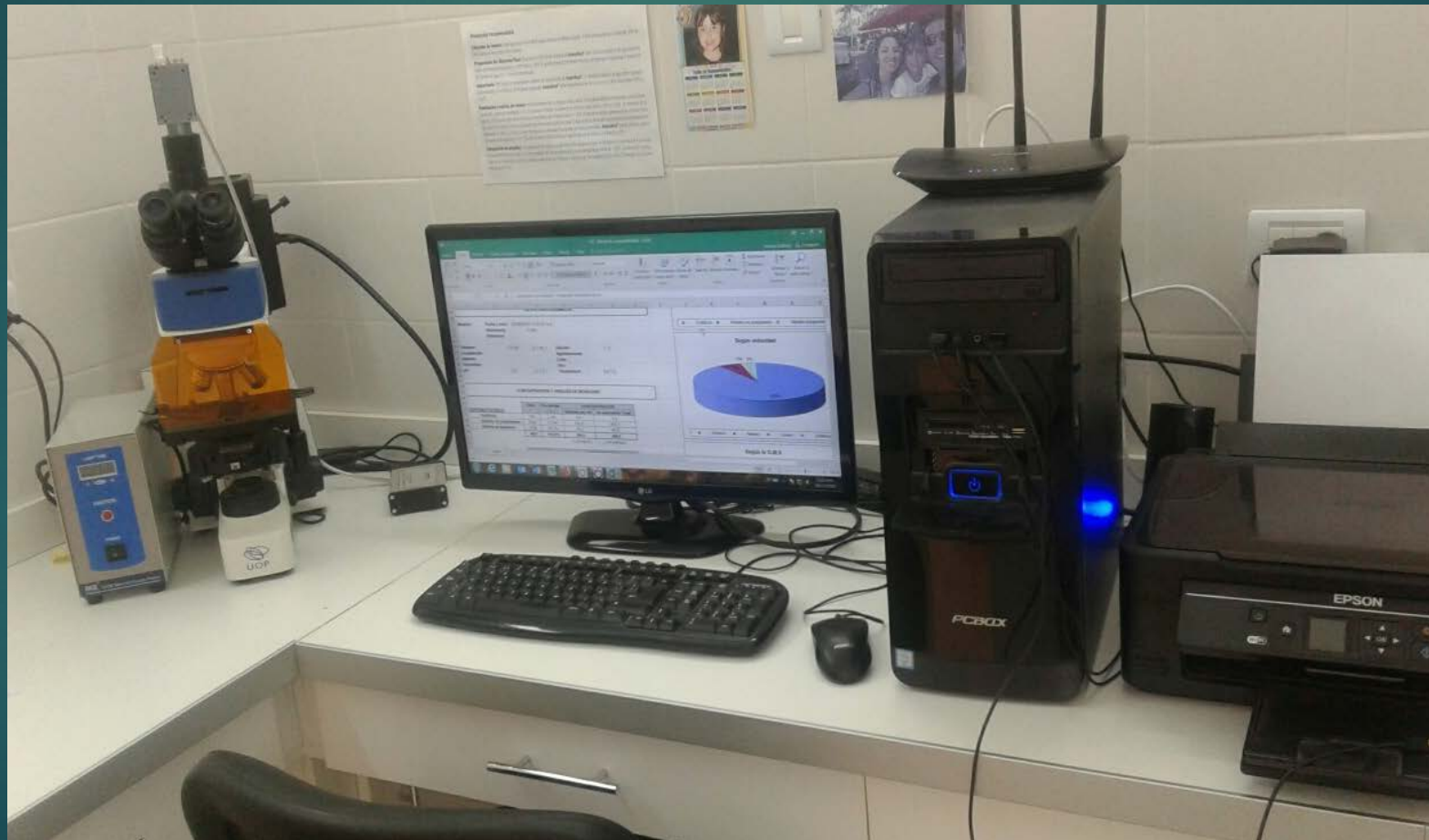
Energía de movimiento

► Funcionalidad mitocondrial

Interpretación	Rh 123	IP
ESPZ viables con mitocondrias funcionales	+	-
ESPZ viables con mitocondrias no funcionales	-	-
ESPZ no viables con mitocondrias no funcionales	-	+



Sistema automatizado de evaluación seminal



Criopreservación de semen a -196°C (N líquido)



En pastillas



En pajuelas

Tiempo	Temperatura
10:44	37
10:47	35
10:50	33
10:53	31
10:56	29
10:59	27
11:02	25
11:05	23
11:08	21
11:11	19
11:14	17
11:17	15
11:20	13
11:23	11
11:26	9
11:29	7
11:32	5

Inseminación

Transcervical



Laparoscópica





Ovulación Múltiple y Transferencia Embrionaria (MOET)

Ventajas

- ▶ Permite la utilización de hembras y machos seleccionados
- ▶ Se obtienen entre 8 y 10 embriones en promedio por cada donante.
- ▶ Embriones resistentes a la criopreservación por congelamiento.

Desventajas

- ▶ Altos costos en hormonas para tratamiento de superovulación
- ▶ Riesgos quirúrgicos y limitado número de intervenciones.

1 frasco ampolla conteniendo 17.6 mg NIADDK – oFSH - 17 y 1 frasco ampolla conteniendo 20 ml de solvente.

COMPOSICION

FSH liofilizada, (equivalente a NIH)	400 mg.
Excipientes c.s.p.	20 ml.

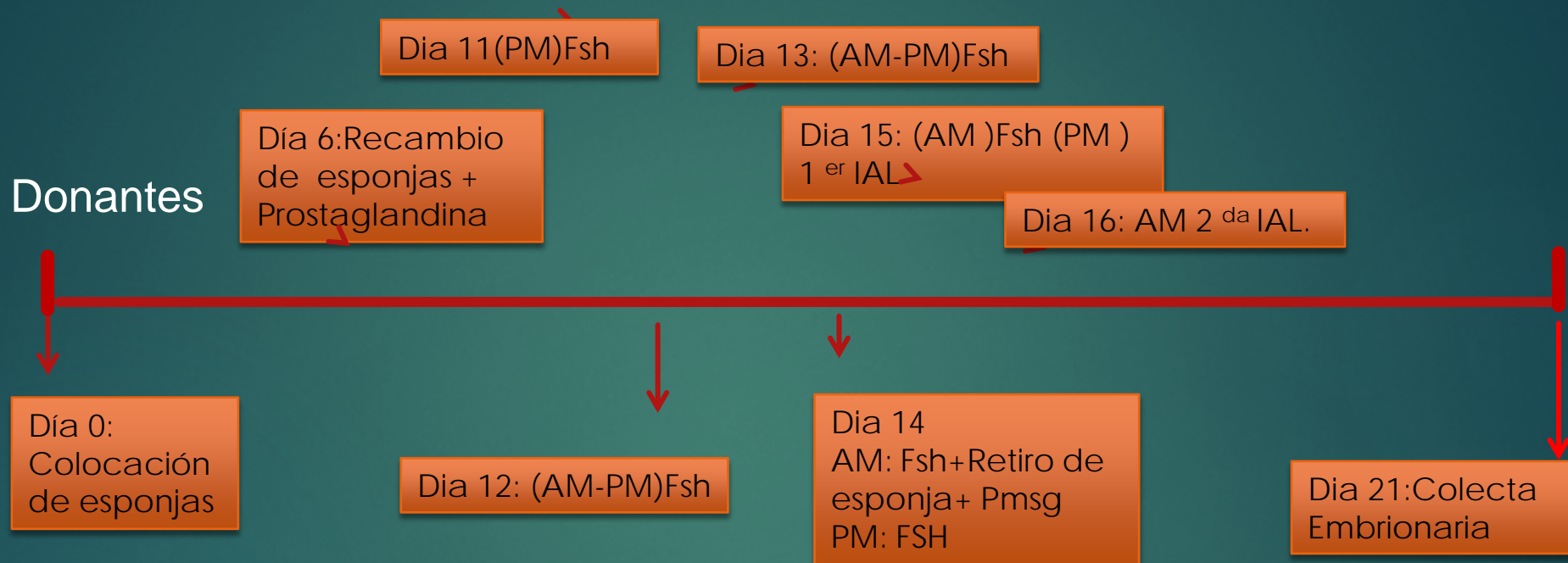


COMPOSICION

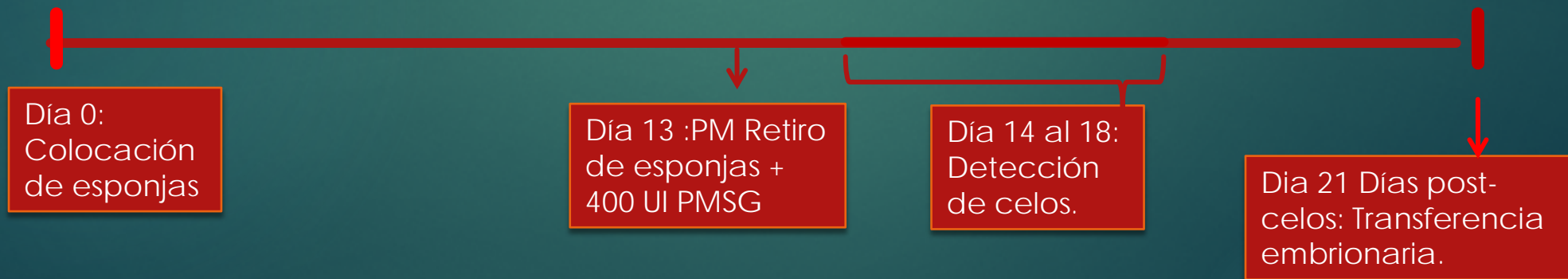
Hormona foliculo estimulante (FSH)	500 U.I.
Hormona luteinizante (LH)	500 U.I.
Vial de disolvente c.s.p.	20 ml.



Donantes



Receptoras



Servicio

MONTA NATURAL

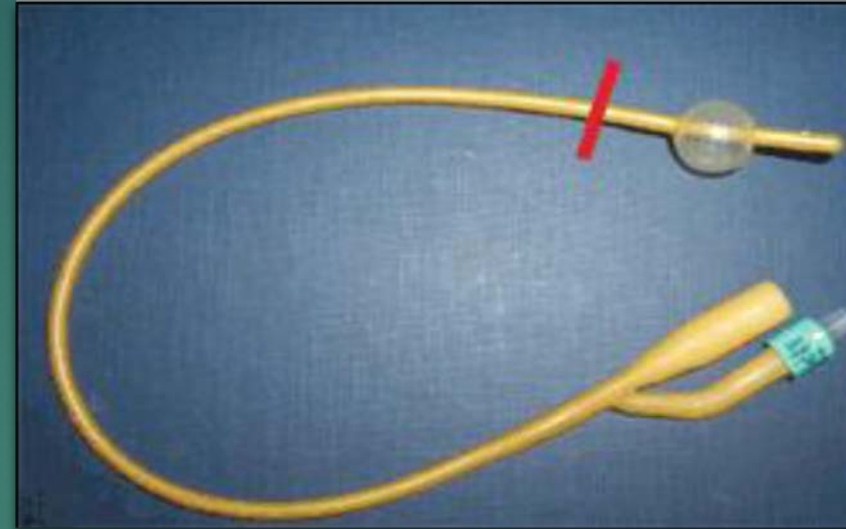


INSEMINACION LAPAROSCOPICA





Respuesta al tratamiento superovulatorio



Lavado uterino para colecta embrionaria



PARÁMETROS EVALUADOS

- TASA DE OVULACION: NUMERO DE CUERPOS LUTEOS/HEMBRA DONANTE
- ESTRUCTURAS RECUPERADAS: ESTRUCTURAS FECUNDADAS O NO EN AMBOS LAVADOS UTERINOS.
- NUMERO DE EMBRIONES OBTENIDOS: ESTRUCTURAS FECUNDADAS CON Y SIN VIABILIDAD
- NUMERO DE EMBRIONES VIABLES: MORULAS, BLASTOCISTOS.
- NUMERO DE EMBRIONES CONGELABLES: EMBRIONES DE BUENA CALIDAD Y ESTRUCTURA
- TASA DE RECUPERACIÓN :% ESTRUCTURAS RECUPERADOS EN RELACIÓN A TASA DE OVULACIÓN

Planilla de lavado y recuperación de embriones Fecha 23/05/17 Establecimiento EEA INTA-Trelew

Lavado intrauterino							Clasificación de estructuras							Observaciones				
Donante N°	Padre N°	Hora	Ovario	CL	Estruc.	Recup. %	Degen.	Ovoc.	Mórulas			Blastos			Transfer.	Total transfer.	por ovario	generales
									G1	G2	G3	G1	G2	G3				
Dohne 382	579	9:00	der	14	17	82,0%	0	1	10	5	1				16	25		Se congelaron 5 M(V) G1
			izq	12	10	120,0%	0	1	8	1				9				
Dohne 666	747	9:50	der	9	10	110,0%	0	0	8	2				10	22	Quiste	Se congelaron 5 M(V) G1	
			izq	8	12	150,0%	0	0	8	4				12				
Dohne 460	Far Valley 55	14:20	der	5	5	100,0%	0	1	2	2				4	8	Quiste		
			izq	5	4	80,0%	0	0	2	2				4				
donhe 522	747	14:44	der	5	5	100,0%	0	5						0	0			
			izq	9	6	66,0%	0	6						0				
Dia 24/05/2017																		
610	Far Valley 359	9:00	der	9	5	55,0%	0	3			2			2	2			
			izq	8	0	0,0%	0	0										
699	579	9:50	der	10	9	90,0%	8	0			1			1	2			
			izq	7	6	85,0%	4	1			1			1				
672	747	10:20	der	6	10	160,0%	0	0				3	6	1	10	14	Quiste	
			izq	5	4	80,0%	0	0			1	3			4			
452	579	10:50	der	2	1	50,0%	0	0				1			1	6		
			izq	5	5	100,0%	0	0	3				2		5			
totales				119	109	92,0%	12	18	41	16	6	7	8	1	79			

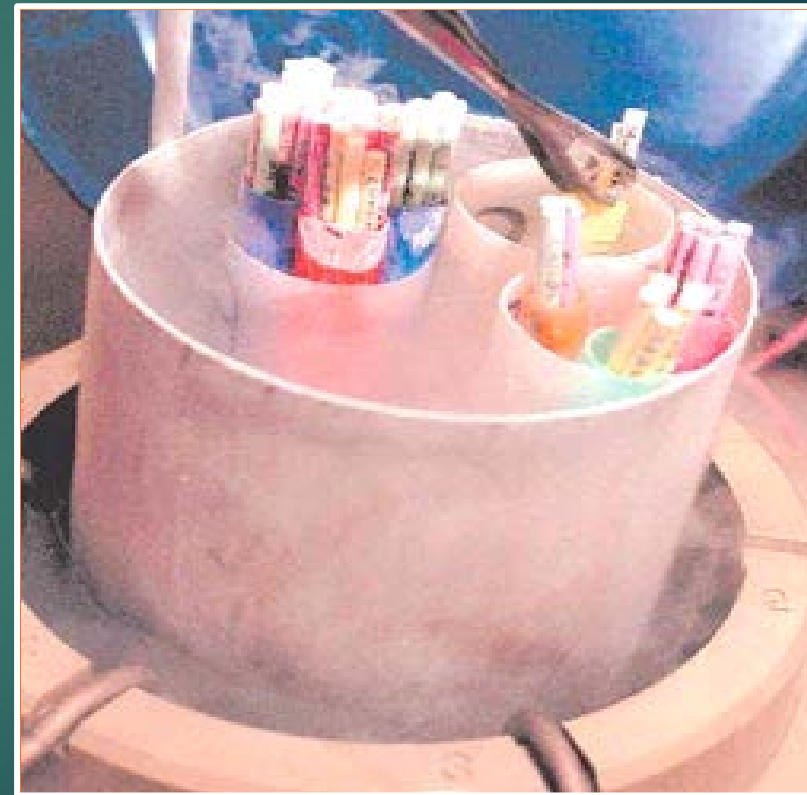
Promedio de embriones transferibles obtenidos por donante = **9,875**

Embriones Obtenidos

Transferencia embrionaria en Fresco



Congelamiento

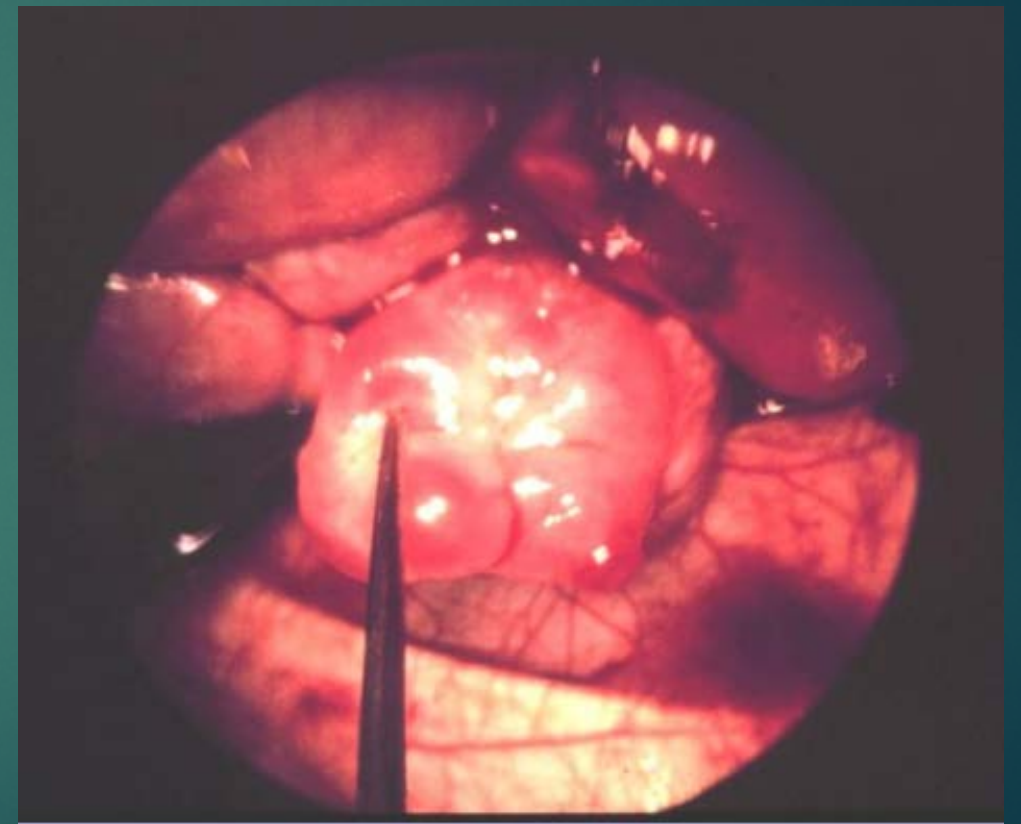




Producción *in vitro* de embriones



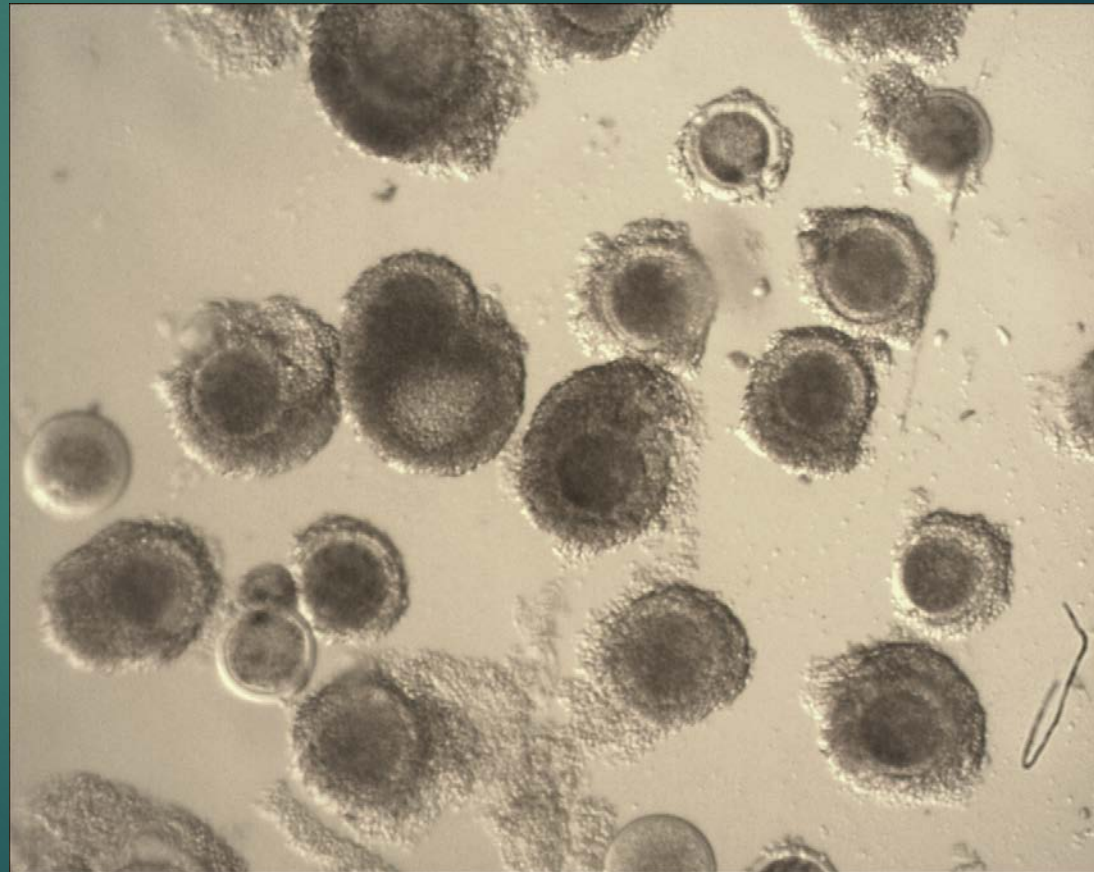
Punción folicular laparoscópica (ovinos y caprinos)



Aspiración folicular ecográfica (bovinos)

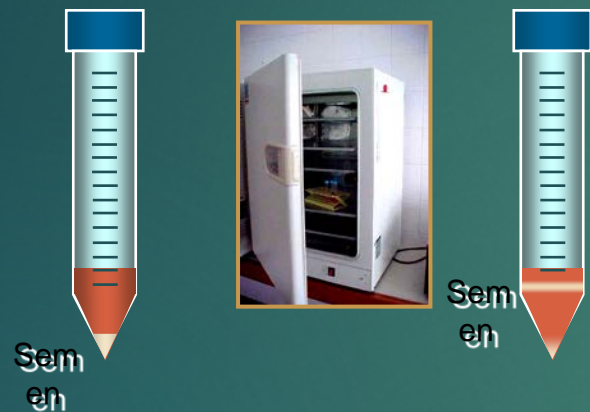


Colecta de ovocitos

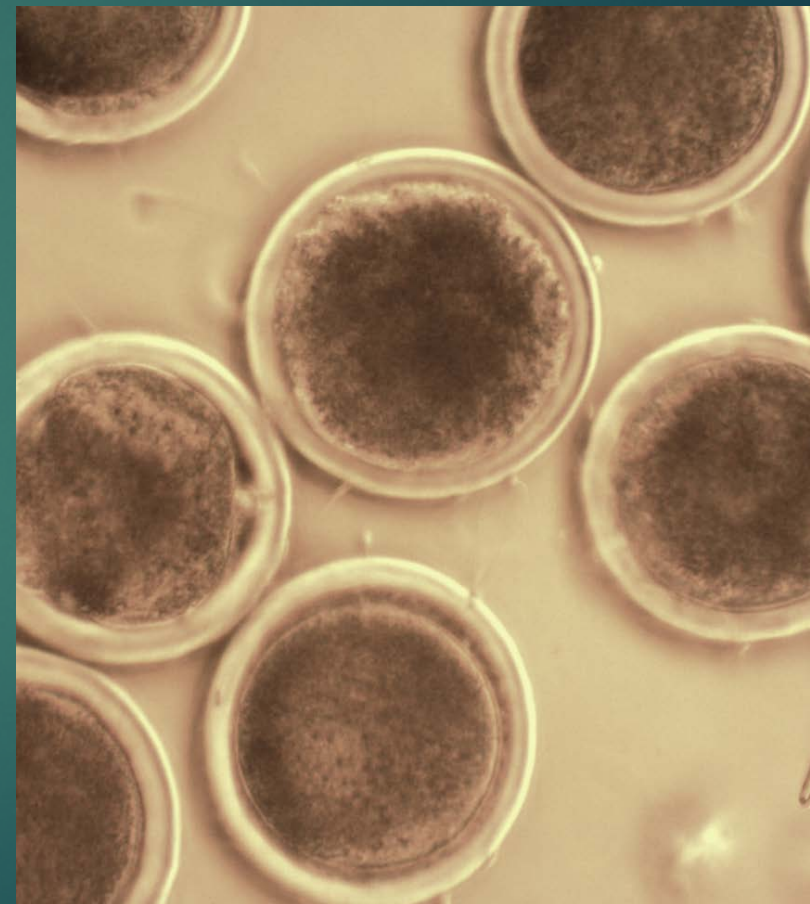


Fecundación in vitro por co-cultivo de ovocitos y espermatozoides

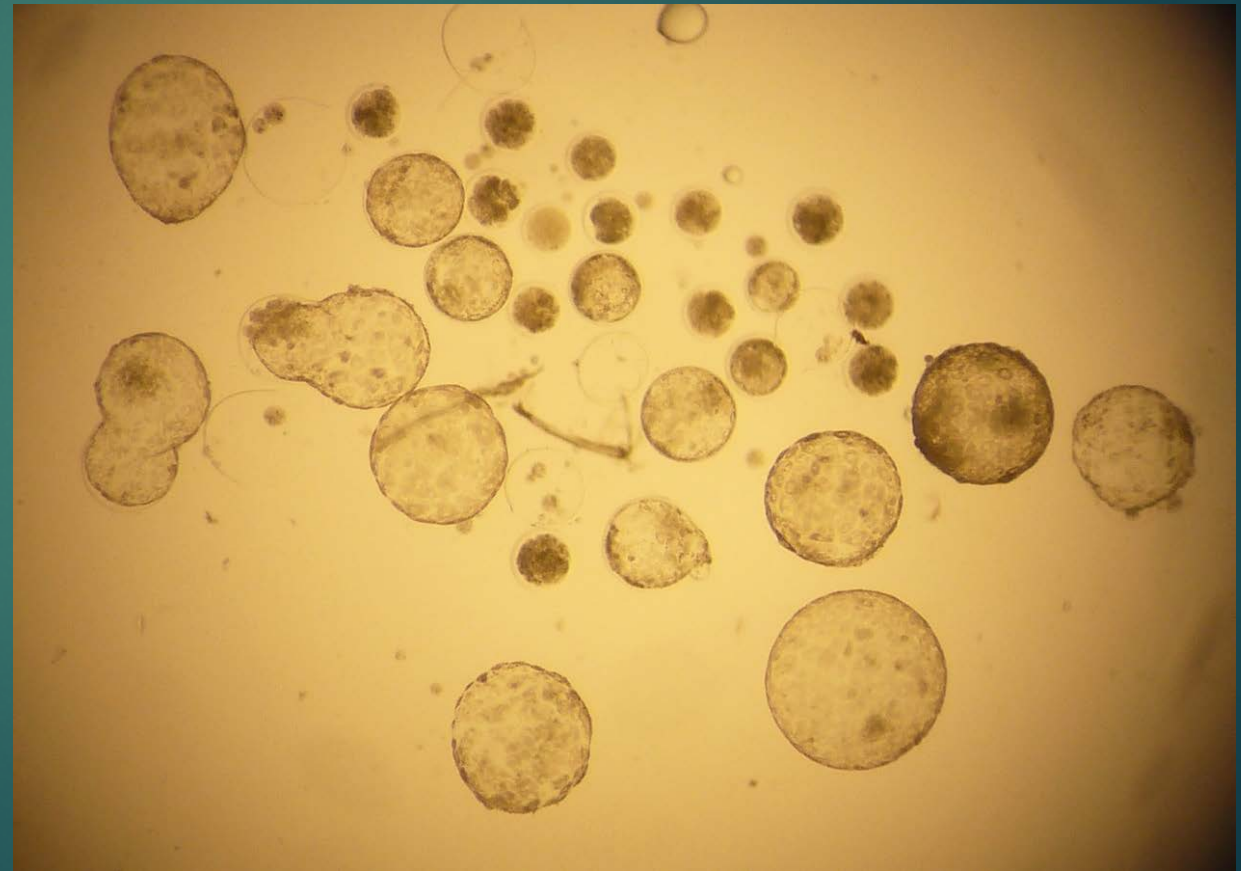
Swim up



Gradiente de percoll



Cultivo *in vitro* hasta el estadio de blastos expandidos



Biotechnologías avanzadas en fase de desarrollo

ICSI

Micromanipulador

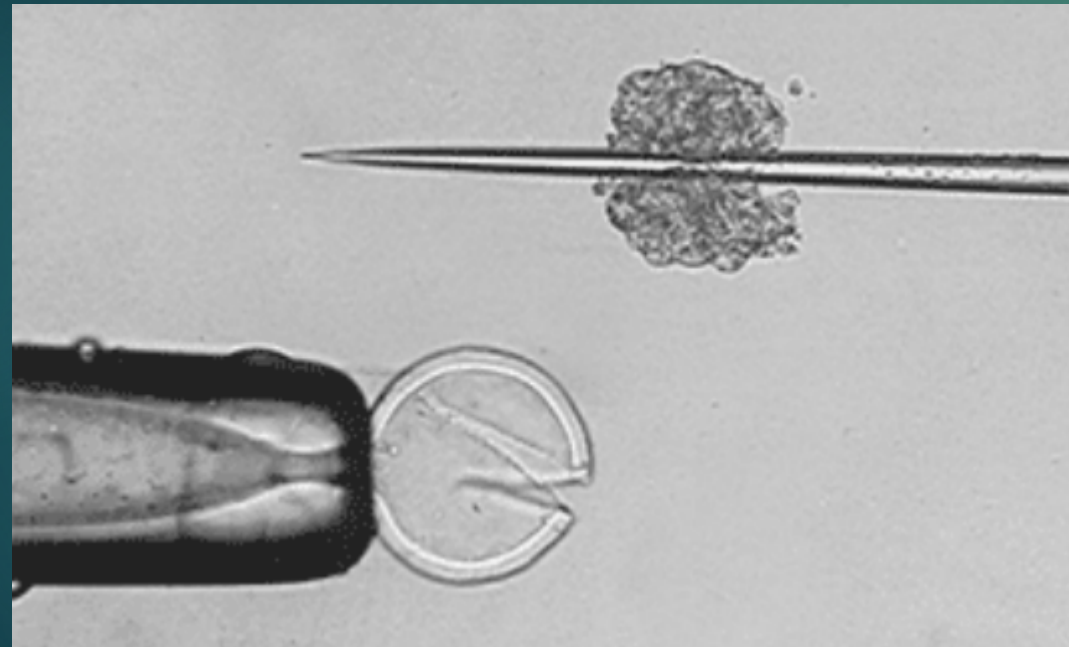


Micromanipulación de embriones

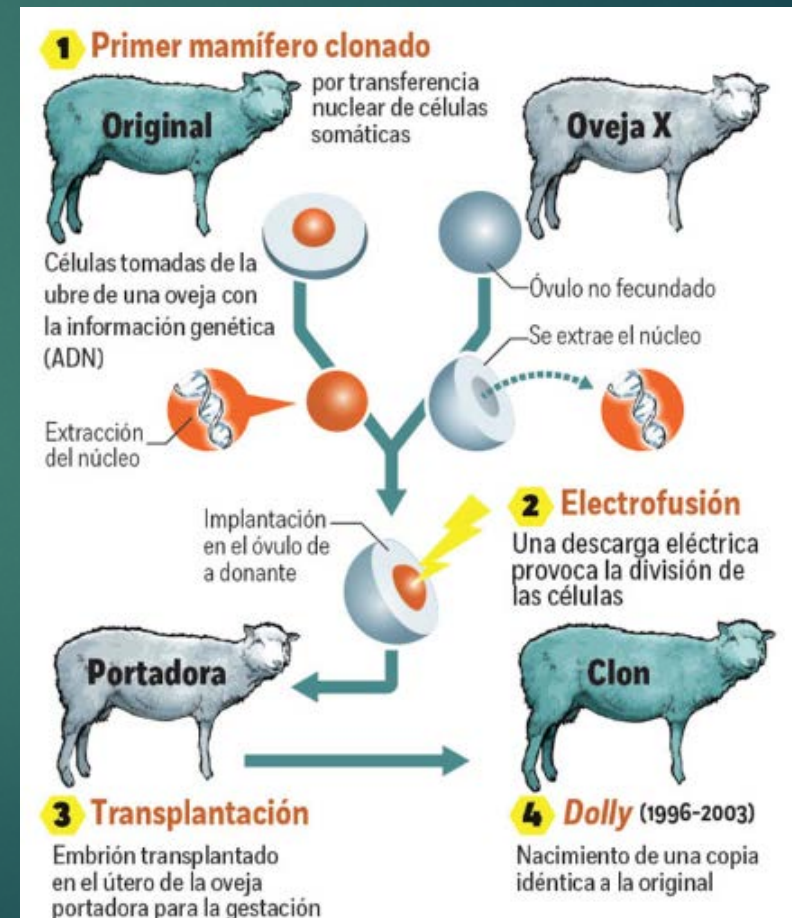


Clonación

Clonación horizontal y Partición de embriones



Transferencia nuclear



Biopsia de embriones

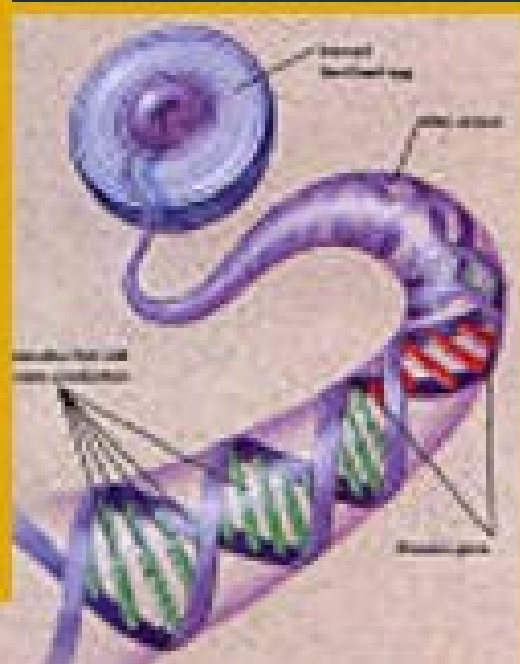


Sexado



**Análisis genómico
Pre-implantacional**

Transgénesis





Muchas Gracias