



909

FOLIO DE
BASES

081

CÓDIGO
(uso interno)

BIOT-01-P-74

1. ANTECEDENTES GENERALES DEL PROYECTO

NOMBRE DEL PROYECTO:

PRODUCCION DE MELLIZOS DE CARNE EN REBAÑOS HOLSTEIN FRIESIAN POR MEDIO DE TRANSFERENCIA DE EMBRIONES ECONOMICOS OBTENIDOS POR TECNOLOGIA IN VITRO.

Línea Temática:

Agricultura y
Ganadería

Rubro:

Ganadería Bovina

Región(es) de Ejecución:

Octava

Fecha de Inicio:

1/03/2002

DURACIÓN:

36 meses

Fecha de Término:

28/02/2005

AGENTE POSTULANTE:

Nombre : Universidad de Concepción, Sede Chillán

Dirección : Avda. Vicente Méndez N° 595 Ciudad y Región: Chillán, VIII

RUT :

Teléfono : (42) 20 88 17 Fax y e-mail: jcox@udec.cl

Cuenta Bancaria (tipo, N°, banco):

AGENTES ASOCIADOS:

Faenadora de Carnes Ñuble S.A.

REPRESENTANTE LEGAL DEL AGENTE POSTULANTE:

Nombre: Alejandro Santa María Sanzana

Cargo en el agente postulante: Director General del Campus Chillán, Universidad de Concepción

RUT:

Dirección: Vicente Méndez 595

Fono: 42 20 87 05

Firma

Ciudad y Región: Chillán, VIII

Fax y e-mail: 42 270212 asantama@udec.cl

COSTO TOTAL DEL PROYECTO

(Valores Reajustados) : \$

FINANCIAMIENTO SOLICITADO

(Valores Reajustados) : \$

48,32
%

APORTE DE CONTRAPARTE

(Valores Reajustados) : \$

51,68
%





2. EQUIPO DE COORDINACIÓN Y EQUIPO TÉCNICO DEL PROYECTO

2.1. Equipo de coordinación del proyecto

(presentar en Anexo A información solicitada sobre los Coordinadores)

COORDINADOR DEL PROYECTO

NOMBRE José Francisco Cox Ureta	RUT	FIRMA
AGENTE Universidad de Concepción	DEDICACIÓN PROYECTO (%/año) 30%	
CARGO ACTUAL Profesor Asociado de Facultad de Medicina Veterinaria	CASILLA 567	
DIRECCIÓN Vicente Méndez 595	CIUDAD Chillán	
FONO 42-208834	FAX 42-270212	E-MAIL Jcox@udec.cl

COORDINADOR ALTERNO DEL PROYECTO

NOMBRE Eduardo Héctor Valdés Salinas	RUT	FIRMA
AGENTE Carnes Ñuble SA	DEDICACIÓN PROYECTO %/AÑO 10%	
CARGO ACTUAL Gerente de Administración y Finanzas	CASILLA 764	
DIRECCIÓN Panamericana Norte Km 3.	CIUDAD Chillán	
FONO 42-272399	FAX 42-271957	EMAIL edvaldes@beaf.cl





2.2 . Equipo Técnico del Proyecto
(presentar en Anexo A información solicitada sobre los miembros del equipo técnico)

Nombre Completo y Firma	RUT	Profesión	Especialidad	Función y Actividad en el Proyecto	Dedicación al Proyecto (%/año)
José Francisco Cox Ureta 		Médico Veterinario	Reproducción Animal	Director, Responsable de la producción segura y transferencia de embriones	30%
Eduardo Valdes Salinas 		Ingeniero Comercial	Finanzas	Evaluación económica y proyección comercial de resultados	10%
Fernando Saravia Ramos 		Médico Veterinario	Reproducción Animal	Clínica y alimentación donantes y receptoras, colección de oocitos y transfer. embriones	30%
René Ortega Vásquez 		Médico Veterinario	Virología	Control de calidad microbiológica de cultivos y embriones	20%
Oscar Torrealba Munita 		Médico Veterinario	Producción Bovina de Leche	Responsable de desarrollo de sistemas de crianza de terneros	10%
Barbara Butendieck Auster 		Bioquímico	Biología Molecular	Responsable del sexaje molecular de embriones	20%
Médico Veterinario-1		Médico Veterinario		Cirugía receptoras colección de ovarios, oocitos y biopsias sexaje	50%
José Garcés Valenzuela		Obrero Especializado		Manejo de animales, aseo y alimentación del rebaño	40%
Obrero especializado		Obrero Especializado		Manejo de animales, aseo y alimentación del rebaño	50%





3. BREVE RESUMEN DEL PROYECTO

El presente proyecto, presentado en conjunto por la Universidad de Concepción y Faenadora de Carnes Ñuble S.A. responde a la necesidad de desarrollar nuevas tecnologías e implementar su práctica en los procesos normales de la industria de producción bovina que permitan aumentar los niveles de eficiencia y por ende reducir los costos de producción y aumentar la competitividad neta del rubro productivo, que viene enfrentando una fuerte competencia externa en los últimos 5 años en virtud de las políticas de apertura del gobierno.

Por medio de la estandarización y abaratamiento de tecnología de punta para la producción de embriones bovinos *in vitro* y su posterior transferencia a receptoras vivas, se pretende desarrollar la industria de producción de carne al eliminar las barreras naturales y dejar de depender de la genética materna en la producción de terneros. Combinando esta técnica con los ajustes necesarios para obtener partos de mellizos, se generará una potente herramienta para nuestra industria de producción bovina. Aunando esto con el potencial de producir embriones a partir de ovarios de razas de carne obtenidos de matadero, inseminado con semen de toros de razas compatibles con la producción de mellizos, el costo de un embrión puede llegar a niveles muy bajos. Adicionalmente, está la posibilidad de obtener embriones de hembras vivas de alto interés genético, y sexarlos para obtener las hembras de reposición deseadas, dejando de depender de la genética del plantel para dar saltos productivos, y eligiendo a priori el sexo de la prole.

En el presente proyecto, se desarrollarán estas tecnologías en su optimización y estandarización a escala experimental de laboratorio, y posteriormente se llevarán al plano práctico en una experiencia piloto. Adicionalmente se dejará establecido el mecanismo y la institucionalidad necesarias para que los resultados del proyecto sean de amplia difusión y adopción en el sector pecuario bovino.

Con una duración de 36 meses, el proyecto contempla 5 líneas de trabajo, las 3 primeras destinadas a optimizar la implementación de los principios teóricos implicados en la producción de embriones *in vitro* a partir de donantes vivos o muertos con especial énfasis en la economía de recurso, y en la mantención de un status sanitario limpio de las partidas de embriones producidas. La 4ª línea de trabajo consiste en llevar lo aprendido a escala piloto productivo, y la 5ª está destinada a difundir los resultados y dejar establecidas las bases para el empleo comercial de los resultados obtenidos.

El proyecto cuenta con expertos en la materia y con experiencia científica y práctica en manejo de reproducción artificial en especies domésticas. Todo ello cuenta con el respaldo de la infraestructura y equipos disponible en la Universidad de Concepción para la producción de embriones *in vitro* gracias al aporte FONDEF. En este sentido, este proyecto es una prolongación de esa iniciativa, dando el paso final hacia la masificación de esta sobresaliente y útil biotecnología.





4. IDENTIFICACIÓN DEL PROBLEMA A RESOLVER

El desarrollo agropecuario nacional está sujeto al marco establecido por la definición del país de optar por un modelo económico sustentado por un aparato exportador eficiente y dinámico y a la estrategia regional de desarrollo 2000-2006 que sostiene que el progreso de las comunidades debe estar sustentado en el concepto de globalidad, que enfatiza un desarrollo productivo integral, sustentable y competitivo que mejore la calidad de vida rural y diversifique su base productiva y aumente la demanda de empleos permanentes. En ese contexto, la posibilidad de establecer una agricultura rentable y sustentable en el largo plazo es orientándola a mercados generados por una demanda nacional e internacional creciente e insatisfecha por productos agropecuarios inocuos y aumentando la diversificación en las posibilidades de negocios en el agro.

En el área pecuaria, Chile carece de enfermedades de la lista de las más infecciosas (lista A de la OIE), lo que sumado a la producción de carne de calidad, podría representar una ventaja fuertemente significativa en un mercado internacional afectado por enfermedades como fiebre aftosa, encefalopatía espongiiforme del bovino (BSE) y otras de alto riesgo, en donde la tendencia de los sectores consumidores es precisamente a aumentar sus exigencias en términos de inocuidad microbiológica y toxicológica de los productos pecuarios. A pesar que nuestra falta de especialización del rubro ganadero para la producción de carne y la sanidad de los rebaños limita sus potencialidades en el comercio exterior, en los últimos años se ha desarrollado independientemente la capacidad tecnológica para especializar la ganadería y la infraestructura de procesamiento para dirigir la producción nacional al exterior.

La reorientación de la ganadería pasa por mejoramientos significativos en capacidad de gestión, capacidad de asociación e infraestructura de certificación, sin embargo existe consenso en que la existencia de una masa animal crítica para enfrentar el proceso de exportación es la motivación necesaria para que la empresa privada grande y pequeña, pueda asumir el desafío subsiguiente. Frente a este escenario de transformación que vive la agricultura chilena, el desarrollo ganadero debe involucrar a la agricultura empresarial y a la pequeña agricultura tanto por razones de seguridad sanitaria, como por razones comerciales derivadas de la gran superficie de tierra utilizada por esta última. Por lo mismo, el mejoramiento de la competitividad del sector debe reconocer las particularidades y potencialidades de cada una y de sus potencialidades de articulación para abordar eficazmente los mercados.





De acuerdo a los antecedentes mencionados, el problema que se desea atacar por medio de la implementación del proyecto es llegar a establecer una alternativa tecnológica de aplicación en el sector pecuario, que permita facilitar un rediseño de sistemas productivos que sea compatible con el sistema económico globalizado vigente. En este sentido, el desarrollo y la aplicación del sexaje de embriones asociado a la tecnología de producción in vitro de embriones, y a su adaptación y perfeccionamiento para la obtención de partos dobles en el ganado bovino, permitirá post proyecto abordar la producción en escala comercial de embriones sexados y no sexados de bajo costo que facilitará la estructuración de una ganadería de exportación, rentable, diversificada en cuanto a la genética que se puede emplear, libre de enfermedades de carácter cuarentenario, y menos vulnerable a las fluctuaciones de precio en los mercados internacionales. Es importante mencionar las principales ventajas prácticas que la implementación de las tecnologías a desarrollar por el proyecto permitirían, a saber:

- Reducción del costo de cambio de calidad genética de los planteles lecheros y de carne, al poder adquirir un escaso número de animales de alta calidad genética y multiplicarlos rápidamente y a bajo costo por medio de la tecnología de embriones in vitro.
- Aumento de la producción de terneros de razas de carne en planteles lecheros que quedan disponibles para programas de engorda en feed lot.
- Facilidad y bajo costo para adecuar el número de hembras de reemplazo en los planteles lecheros.

Con una meta de 36 meses para el logro de sus objetivos, la obtención de los objetivos planteados en el proyecto permitirá la producción de alrededor de 10.000 embriones sexados y no sexados de bovinos por unidad de producción al año, lo que debería traducirse en 5.000 crías bovinas por año. Lo anterior puede traducirse en progreso productivo en términos de diversificación del aparato productivo y de las posibilidades de negocios, mayor rentabilidad de las explotaciones y mayor fortaleza económica del aparato productivo. El acceso y distribución de los recursos genéticos facilitará el rediseño de sistemas productivos y fomentará la asociatividad y el potencial de acceso al mercado exterior. En su conjunto, establecerá un modelo moderno y competitivo de desarrollo para este sector de la agricultura.





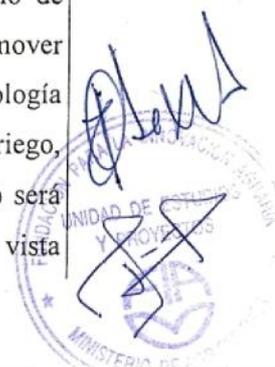
5. ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO

1. Introducción

La definición del país de optar por un desarrollo sustentado por un aparato exportador eficiente y dinámico asociada a las oportunidades generadas por una demanda internacional creciente por productos pecuarios limpios y seguros y a la limitación de ser una economía pequeña y dependiente del intercambio comercial activo, permite concluir que la posibilidad de establecer una ganadería rentable y sustentable en el largo plazo es orientándola a mercados difíciles de abastecer por países competidores y aumentando la diversificación en las posibilidades de negocios. Desde hace un tiempo que los indicadores productivos agropecuarios muestran la eficiencia del país en producción intensiva con relación a otros países latinoamericanos (Odepa, 2000), y los indicadores de competitividad internacionales, muestran que la estabilidad política y económica, la eficiencia relativa del aparato estatal asociado al proceso exportador y la disciplina del sector privado para seguir estrategias exitosas constituyen ventajas comparativas importantes a la hora de ingresar al comercio exterior.

Sin embargo, la integración de nuestra ganadería al mercado exterior está limitada por la sanidad de los rebaños, la heterogeneidad de la masa animal y la escasa oferta de producción exportable. Por otro lado, la estabilidad del sector como sustituidor de exportaciones, también está limitada, tanto por la baja rentabilidad de los negocios como por la oferta del exterior de productos subsidiados. Debido a que el país negocia anualmente salvaguardas para el sector lácteo, y el mercado de la carne aunque desprotegido, enfrenta una fuerte competencia de carnes importadas y carnes blancas, las posibilidades de estabilizar la ganadería y proyectarla en el largo plazo son también limitadas (Esnaola y Amunátegui, 2000; Moya, 2000).

Es evidente que la solución productiva para el sector pasa básicamente por un aumento en la eficiencia productiva y económica de los rebaños de leche y carne. Así, el Ministerio de Agricultura ha decidido fomentar el desarrollo de una ganadería competitiva por medio de promover activamente la organización de los productores de leche y carne en torno a la captación de tecnología apropiada para sus sistemas productivos y ha establecido un subsidio al establecimiento de riego, empastadas y de fertilización de las mismas. Sin embargo, la proyección de la ganadería sólo será posible si la rentabilidad del negocio se sustenta sobre un producto seguro desde el punto de vista



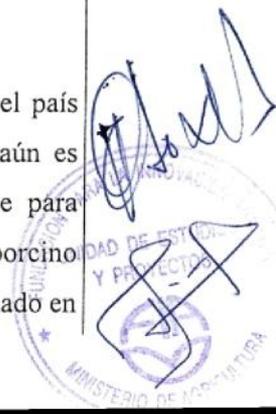


sanitario y toxicológico y con un precio atractivo para el sector consumidor. Con los sistemas vigentes, lo anterior es complicado de lograr. Por de pronto las políticas convencionales de control y erradicación de enfermedades por lo general son de largo plazo y de hecho, salvo en el caso de Fiebre Aftosa, han tenido un efecto limitado en la limpieza de rebaños como lo han demostrado el programa de control de Brucelosis, sin considerar la alta prevalencia de Tuberculosis, Leucosis y enfermedades virales que podrían afectar los procesos de comercialización. Esta limitación básica hace difícil motivar al sector productor a adoptar procesos que no estén asociados a mejores precios o estabilidad en el largo plazo del negocio.

2. Estado actual de la producción ganadera

La producción de leche bovina está sustentada en unas 650.000 vacas. La recepción de leche en plantas se situó en 1999 en los 1.468 millones de litros, sin embargo el país aún debió importar US\$ 30,5 millones en lácteos, aunque exportó alrededor de los US\$ 26,2 millones. La expansión de la producción de leche se ha frenado en el último tiempo por una reducción en la rentabilidad del negocio por una reducción de precios reales pagados a productores y del consumo de leche que se situó en los 127 lts por persona. Esta figura puede modificarse por políticas tendientes a proteger el sector de la competencia externa desleal y a aumentar la demanda, ya afectada por las restricciones económicas que tienden a revertirse (Esnaola y Amunátegui, 2000). De acuerdo a los análisis del sector en la Región Centro-Sur, aproximadamente un tercio de la leche entregada en planta está basada en sistemas de alta producción basados en el confinamiento o semi-confinamiento y en una alimentación centrada en silo de maíz y alfalfas. Idealmente estos sistemas deberían estar integrados a otros sistemas horto-frutícolas y pecuarios de manera de optimizar la capacidad de adaptación de la empresa a las fluctuaciones de precios internacionales. Aunque existe la capacidad tecnológica para aumentar sustancialmente la producción, y la productividad laboral en producción intensiva representa una ventaja comparativa del país frente a los países competidores, la heterogeneidad productiva del rebaño y las tasas de eliminación existentes impiden un progreso productivo acelerado. De hecho, la vida media productiva son 2,3 lactancias en la Región (Báez, 1996) y los rangos de producción fluctúan entre 4.000 y 14.000 kgs (Bórquez et al., 1996).

En el sector carnes el panorama se torna aún más competitivo. Aun cuando el país tiene unos 4 millones de cabezas y produce unas 230.000 toneladas de carne en vara y aún es deficitario en carnes, la eficiencia de producción local deberá aumentar significativamente para competir adecuadamente en el marco del Mercosur y con la oferta del sector avícola y porcino nacional. Interpretando el aumento de los precios en el ganado de carne (2,7% en precios de ganado en



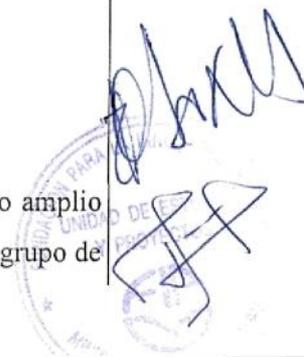


pié) como un evento coyuntural (brotes de fiebre aftosa en el Mercosur), en términos reales el precio de la carne bovina debería estabilizarse entre los US\$ 0,8 y 1 dólar para evitar una penetración más significativa del sector avícola y porcino (Moya y Amunátegui, 2000). Por lo anterior, los análisis que se hacen del sector muestran que la conservación de una rentabilidad razonable sólo será posible con un aumento en la cantidad y calidad de la oferta y una mayor eficiencia económica en cada una de los eslabones de la cadena de la carne. Desde el punto de vista de la producción, la introducción y multiplicación acelerada de razas especializadas, el aumento en la capacidad productora de forrajes y de la carga animal y la incorporación efectiva de sectores que tradicionalmente han tenido poca significación, como el sector forestal, constituyen una base sobre la cual desarrollar una ganadería de carne competitiva y con potencial de utilizar nichos de mercado externo (Maino y Prado, 1995). De hecho, la mediana empresa forestal está interesada en sistemas silvo-pastorales por las posibilidades de diversificar los ingresos, mejorar los flujos de cajas y facilitar el control de incendios forestales (Viñuela, 1996). Por otro lado, en un estudio destinado a cuantificar el potencial productor de carne, se estima que entre la VII y IX regiones existe la capacidad de duplicar la producción de carne con el potencial de producción de forraje existente (Klee, resultados no publicados), sin considerar que existen proyectos en cursos destinados a mejorar la capacidad productora de forrajes de la Región. Sin embargo, el aumento de producción tendría que hacerse sobre una base fundamentalmente Frisón Alemán, que no sólo no responde apropiadamente a las condiciones de precordillera y secano interior y es menos eficiente en condiciones de engorda, sino tiene un valor comercial limitado con relación a las razas especializadas (Prado, 1995; Maino y Prado, 1995).

La biotecnología de embriones ofrece soluciones tecnológicas concretas. Con el apoyo de Fondef y Corfo, el Laboratorio de Reproducción Animal desarrolló procedimientos para la producción de embriones in vitro a escala, de manera que el precio unitario de los mismos es la décima parte de los embriones equivalentes cotizados en el mercado nacional. La tecnología in vitro de embriones ha mostrado superar con creces la potencialidad productiva de la tecnología convencional (Bousquet et al., 1999; Cox, 2000) y se utiliza en unidades genéticas del exterior, para producir embriones por contrato para productores de genética locales. Además ha internado genética bovina (Angus Rojo y Murray Grey), caprina (Boer, Saanen y Alpina Británica) y ovina (Dorper) que permite proyectar la tecnología de embriones como solución productiva.

3. La tecnología de embriones in vitro y sus proyecciones

La tecnología de la transferencia de embriones puede definirse en un sentido amplio como el conjunto de técnicas involucradas en la producción de embriones a partir de un o un grupo de





individuos, para ser transferidos a otros individuos para que éstos los incuben y lleven a término. Como el genoma del embrión es aportado por el donador de los embriones, la receptora de los mismos no contribuye de manera significativa en la potencialidad genética de producción de las crías que permitirá generar.

La producción de embriones puede ser basada en procedimientos convencionales in vivo, cuando los oocitos de la hembra donante son fecundados por inseminación y dejados evolucionar hasta alcanzar estados uterinos de desarrollo embrionario, desde donde son extraídos y conservados antes de ser transferidos a receptoras definitivas para que los geste. Alternativamente, los embriones pueden ser producidos por procedimientos in vitro cuando los oocitos son obtenidos inmaduros, para luego madurarlos, fecundarlos y cultivarlos en el laboratorio hasta alcanzar estados de desarrollo embrionarios aptos para conservarlos criogénicamente y eventualmente transferirlos a receptoras definitivas. Finalmente, también es posible combinar procedimientos in vivo e in vitro para aumentar la eficiencia de algunas de las etapas involucradas en la producción de los embriones.

Esta tecnología ofrece un número de posibilidades comerciales y de investigación, lo cual puede ser utilizado en los esfuerzos por mejorar la competitividad de la ganadería:

a) Desde luego permite aumentar el potencial reproductivo de hembras de interés comercial por sus características productivas sobresalientes, lo cual facilita el establecimiento de bancos de embriones para programas de producción específicos o de fomento ganadero. Con la tecnología disponible, y en los niveles de eficiencia presentes, se estima que es posible aumentar el potencial reproductivo de una hembra en más de 200 veces combinando la tecnología in vivo e in vitro (Gordon, 1994), con una reducción de costos que permite una aplicación amplia de sus posibilidades.

b) Facilita la introducción y multiplicación de especies y razas de interés económico. La protección sanitaria, el transporte y la adaptación al nuevo ambiente asociados al menor costo relativo de la genética, hacen de los embriones el sistema de elección para el movimiento internacional y nacional de individuos (Singh, 1987). Sólo en 1992 se exportaron sobre 35.000 embriones y se estima se realizaron sobre 520.000 transferencias (Thibier, 2000). La protección sanitaria es consecuencia de la probada impermeabilidad de la zona pelúcida del oocito a la penetración por bacterias y virus, que sumada a baños enzimáticos secuenciales para remover microorganismos adheridos a su superficie, otorgan en la práctica un razonable nivel de seguridad en contra de la internación de enfermedades exóticas o en los programas de control regional o predial de enfermedades (Stringfellow y Givens, 2000). De hecho, en los 20 años de la aplicación comercial de la tecnología de

[Handwritten signature and stamp]
UNIDAD DE E...
FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA



embriones, no se ha observado aún la transmisión de enfermedades a través de embriones o de su manipulación (Wrathall y Suttmoller, 1998).

c) Facilita la selección de machos para programas de inseminación artificial (IA). El aumento del potencial reproductivo de las hembras seleccionadas para ser madres de machos destinados a inseminación artificial, aumenta la intensidad de selección facilitando el progreso genético de la población para caracteres de producción, por lo que se aplica rutinariamente en combinación con pruebas de progenie (Betteridge y Smith, 1988). De hecho, se estima que la utilización de MOET (multiple ovulation and embryo transfer) en combinación con IA podría producir una tasa de progreso genético de más de un 30% comparado con las técnicas convencionales tanto en bovinos de leche y carne, y han mostrado ser exitosas en otras especies donde el tamaño de la población y la falta de registros apropiados dificulta la identificación de superioridad genética por pruebas de progenie (Nicholas y Smith, 1983; Woolliams y Wilmut, 1989; McGuirk, 1990; Christensen, 1991). De hecho, se estima que los programas MOET, de los cuales existen varios en Europa y Nueva Zelanda, están indicados para propagar razas de interés económico (McClintock y Nicholas, 1991; Betteridge, 1993) y se espera que las nuevas tecnologías reproductivas que incluyen el sexaje y la producción de embriones a partir de oocitos colectados por laparoscopia amplifiquen el impacto (McClintock y Nicholas, 1991; ver: Gordon, 1994).

d) Facilita la producción de individuos destinados a la reproducción. Al disponer de fuentes de genética en la forma de embriones, es posible producir los toros en forma intrapredial, controlando en forma más económica el origen de la genética y la sanidad del rebaño. Esta posibilidad ya se ha evaluado a nivel de campo, en combinación con programas de producción de carne. Se transfirieron 10 embriones en 6 sistemas productivos de carne sin experiencia previa y se obtuvo un 65% de gestación, que fue similar a la inseminación artificial (Cox et al., 2001). Esto permitiría además estabilizar los precios de los individuos y hacer más rigurosos los controles sanitarios, particularmente en rebaños libres de Leucosis, Brucelosis y Tuberculosis.

e) Facilita el sexaje de embriones. La utilización masiva de la tecnología PCR (Polimerase Chain Reaction) ha permitido establecer sistemas rutinarios de sexaje de embriones. Lo anterior permitiría rediseñar los sistemas productivos en ganado lechero, incorporando este sector a la producción de carne; permitiría por otro lado, facilitar la obtención de equilibrios productivos (tamaño de rebaños, hembras de reposición, etc.).





f) Facilita el desarrollo e incorporación de normas de manejo destinadas a aumentar la rentabilidad de las explotaciones, tales como un aumento artificial en la tasa de partos múltiples (mellizos).

El avance en los procedimientos de producción in vitro de embriones en rumiantes hace posible diseñar estrategias para utilizar las potencialidades de esta tecnología en el progreso de la ganadería. La gran ventaja de la tecnología in vitro es la potencialidad que tiene para reducir sustancialmente los costos de producción de embriones. Sin embargo, la sofisticación tecnológica requerida por el manejo optimizado de las diferentes etapas involucradas, se traduce en que sólo un número reducido de laboratorios a nivel mundial exhiba resultados con proyección productiva. Con el apoyo de Fondef, el Laboratorio de Reproducción Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad de Concepción ha establecido los procedimientos básicos de producción de embriones in vitro con resultados similares a los laboratorios más avanzados en un plano productivo internacional.

De acuerdo a las proyecciones hechas sobre la base de los resultados obtenidos en el proyecto por el cual se ha montado el Laboratorio de Producción de embriones in vitro (Cox, 2000), se estima que una unidad de producción especializada podría producir alrededor de 10.000 embriones bovinos al año. En el contexto productivo mencionado, el impacto que esta tecnología puede tener en el sector ganadero podría ser mayor, y desde luego facilitaría el establecimiento de una estrategia de rediseño de la ganadería para ajustarla a la realidad y enfrentar en forma agresiva la competencia para abordar el mercado interno y externo.

4. Hipótesis de Trabajo del Proyecto

Mediante la utilización de oocitos obtenidos de ovarios de hembras de carne sacrificadas en mataderos y de ovarios aspirados por técnicas no quirúrgicas desde hembras donantes seleccionadas es posible producir embriones in vitro económicos y de alto potencial genético de producción, los que almacenados en la forma de banco de embriones, permitirá establecer alternativas tecnológicas que facilitarán el desarrollo de una ganadería rentable y orientada al comercio exterior.

5. Producción de Embriones Transferibles

5.1 El desarrollo folicular como limitante de la producción de oocitos





La variabilidad que se observa en la respuesta del desarrollo folicular a los tratamientos hormonales estándares se puede explicar principalmente por variaciones individuales en las poblaciones foliculares dependientes de gonadotrofinas al momento del inicio del tratamiento, por la dinámica folicular misma y su control, por las características del tratamiento de estimulación hormonal y por factores tales como la alimentación y edad que pueden afectar indirectamente la población de folículos reclutables y su potencial de desarrollo (Prado et al., 1990; Boland et al., 1991). Debido a que éstos últimos son más fáciles de estandarizar (ver Mapletoft y Pierson, 1995) y se estima que en conjunto con todos los factores asociados al manejo pueden explicar alrededor del 25% de la variación entre tratamientos (Hahn, 1992), no serán analizados en mas profundidad.

La mayor parte de los folículos ováricos se encuentran como folículos primordiales en un estado de inactividad conformando lo que se denomina al población de reserva ovárica, la cual se establece en rumiantes durante la mitad de la vida fetal, de manera que al nacimiento ésta ya está definida. En términos cuantitativos, se ha estimado en ovinos, un modelo apropiado para rumiantes, que el pool de reserva está conformado por unos 12.000 a 85.000 folículos primordiales, unos 100 a 400 folículos están en diferentes fases de crecimiento, 1 a 3 folículos salen diariamente de la reserva, unos 3 entran a la fase antral de crecimiento y entre 1 y 5 folículos ovulan en cada ciclo dependiendo de la raza y la alimentación (Tornbull et al., 1977; Cahill, 1981; Driancourt et al., 1985; 1990). La información en bovinos es menos precisa, pero consistente con lo observado en ovinos. La reserva folicular es muy fluctuante, el número de folículos antrales varía entre 127 y 490 ($>0,13$ mm; Lussier et al., 1987) y en estudios destinados a caracterizar la influencia de la hembra en los resultados de programas de fecundación in vitro, las colecciones de oocitos desde cada par de ovarios han fluctuado entre 31 y 150 (Carolan et al., 1993). Es decir, existe una gran variabilidad individual que, de acuerdo a la información disponible, no es posible modificar salvo parcialmente en las fases finales de la foliculogénesis, cuando el folículo ovárico se torna dependiente de la influencia de las gonadotrofinas (1-2 mm).

Periódicamente grupos de folículos inician su crecimiento, alcanzan un estado antral de desarrollo y la mayor parte degenera ($>99\%$) y una pequeña parte ovula. Se entiende por dinámica folicular a los ciclos sucesivos de crecimiento, mantención y regresión de los folículos antrales que conduce al eventual desarrollo de los folículos ovulatorios (Lucy et al., 1992; Adams, 1994). Con el advenimiento del ultrasonido como método de diagnóstico no invasivo, se ha podido confirmar y extender el conocimiento asociado a la caracterización y el control de las fases antrales de desarrollo folicular. Así, se sabe que el desarrollo folicular durante el ciclo estral se produce en la forma de ondas, usualmente 2 a 3 en rumiantes y que esta dinámica se mantiene durante la vida de las hembras ya sea





en el período prepuberal (Adams et al., 1994), obviamente durante los ciclos estrales, como también durante la gestación y en el anestro postparto (Ginther et al., 1989; Savio et al., 1990; Roche y Boland, 1991). En general, las ondas se caracterizan por establecerse cuando un grupo variable de folículos pequeños (4-6 mm en vacas) inician súbitamente una fase de crecimiento acelerado, al cabo de unos días la mayor parte experimenta regresión y sólo los folículos propios de la tasa ovulatoria de las especies continúan su desarrollo y ovulan o degeneran de acuerdo al ambiente endocrino existente en el momento (Fortune et al., 1991; Savio et al., 1993; Sunderland et al., 1994).

En forma resumida, la evidencia disponible demuestra sólidamente que el reclutamiento folicular está bajo el control de FSH en presencia de niveles basales de LH en bovinos y ovinos (Mc Neilly et al., 1992; Campbell et al., 1995). Menos claro está el control de la selección folicular que se produce un par de días después del reclutamiento. Tanto en bovinos como en ovinos, un factor determinante es el descenso en los niveles de FSH circulantes a menos del 50% del nivel requerido para reclutar nuevos folículos, producto del efecto inhibitorio de la inhibina y el estradiol en la hipófisis (Mc Neilly et al., 1991). Es probable que el folículo seleccionado sobreviva al ambiente pobre en FSH tanto por la secreción de LH que ha mostrado que al unirse a receptores en células de la granulosa activa vías metabólicas similares que la FSH (McNeilly et al., 1992; Campbell et al., 1995), como por una amplificación de los efectos de la FSH por péptidos foliculares como la activina e IGF-I (Ying et al., 1988; Campbell et al., 1995). Aún cuando no existe evidencia en ovinos (en caprinos no hay información), en bovinos se sabe que los folículos seleccionados son capaces de establecer una dominancia sobre los folículos subordinados a través de la inhibición activa del desarrollo de otros folículos de la cohorte o de nuevos reclutamientos por medio de la reducción en los niveles como en la sensibilidad a la FSH (Fortune, 1994; Adams, 1994; Campbell et al., 1995; Ginther, 1999). El término de la dominancia folicular se produce por ovulación o por una frecuencia de pulsos de LH muy baja para los requerimientos de mantención del folículo (Savio et al., 1993; Adams, 1994).

Enfoques experimentales para mejorar la producción de oocitos en respuesta a tratamientos de estimulación ovárica

Tomada la información en conjunto y estandarizado los factores externos que afectan la respuesta ovulatoria, los factores intrínsecos que pueden afectar los tratamientos de estimulación del desarrollo folicular son básicamente: (a) la población de folículos antrales reclutables, (b) la variación individual en la sensibilidad a la FSH (Chemineau et al., 1993; Evans et al., 1994) y (c) el inicio del tratamiento en el contexto de la dinámica folicular (Boland et al., 1991, Guilbault et al., 1991; ver Webb, 94; Armstrong, 1993; Adams, 1994; Mapletoft et al., 1995b).





Lo anterior hace que la primera posibilidad sea descartar entre los donadores aquellos animales que responden mal por disponer de una población de folículos en crecimiento pobre (menos de 200 folículos $> 0,7$ mm; Monniaux et al., 1983). En general, se ha mostrado que animales con respuestas pobres a los tratamientos de superovulación, continúan respondiendo mal subsecuentemente (ver Moor et al., 1984), y también se ha demostrado que la población de folículos reclutables presenta una alta repetabilidad (Boni et al., 1997). Nuestros propios resultados muestran que existe variación entre individuos en la respuesta a tratamientos para estimular el desarrollo folicular y que esta diferencia se mantiene en el tiempo (Cuadro 1.) Aún cuando el reclutamiento espontáneo de folículos no permite seleccionar donantes potenciales de oocitos, la estimulación hormonal separa rápidamente a los individuos en poblaciones que responderán de manera diferente a tratamientos de estimulación sucesivos.

Cuadro 1. Desarrollo folicular en respuesta a tratamientos de FSH en hembras clasificadas de acuerdo a la respuesta en desarrollo folicular subsiguiente al test de sensibilidad ovárica a FSH.

Tipo de respuesta	Identificación de vacas	Reclutamiento folicular	
		Nº de folículos (media \pm DS)	Rangos
Baja	4597	10,0 \pm 2,4	7 - 12
	1799	8,8 \pm 4,1	4 - 14
	1769	8,0 \pm 5,8	3 - 17
	1785	12,0 \pm 7,1	7 - 17
	1306	14,8 \pm 8,2	7 - 27
Alta	6063	36,0 \pm 18,8	20 - 62
	AR6055	44,3 \pm 29,9	17 - 86
	6119	38,0 \pm 18,0	20 - 62
	CH4072	31,7 \pm 17,4	13 - 59
	ANSC	30,6 \pm 15,2	19 - 57



Para aumentar la población de folículos reclutables las estrategias se han concentrado en: (a) pretratamientos con gonodotrofinas. Sobre la base de que el pique post-ovulatorio de FSH controla el reclutamiento folicular subsiguiente, se ha administrado FSH y eCG para aumentar las tasas ovulatorias subsiguientes. Los resultados han sido inconsistentes, lo cual es difícil interpretar debido a la multiplicidad de factores que interactúan (Gordon, 1994; Mapletoft et al., 1995). Desde el punto de vista de una unidad productora de embriones, esta alternativa es recomendable porque la estimulación hormonal debe ser continua en el tiempo para mantener las hembras en un programa económico de producción. (b) Pretratamiento con somatotrofina bovina. Desde que se ha demostrado que el número de folículos antrales pequeños (2 a 5 mm) aumenta al doble como consecuencia de la administración de bGH (Gong et al., 1991), un número de investigadores ha combinado la utilización de bGh y FSH aumentando la tasa de ovulación en algunos (Rieger et al., 1991; Kuehner et al., 1993; Gong et al., 1995) pero no en otros estudios (Gray et al., 1993). Sin embargo la GH está prohibida en el país.

Finalmente, es posible reducir el efecto de la etapa del ciclo estral en que se inicia el tratamiento de estimulación hormonal (control de la dinámica folicular). En presencia de un folículo dominante al inicio del tratamiento, las tasas ovulatorias subsiguientes a tratamientos superovulatorios son deprimidas (Guibault et al., 1991; Bungartz y Niemann, 1994). Se han utilizado diferentes estrategias para sincronizar las ondas (ver Adams, 1994; Mapletoft y Bo, 1995): (a) administración de una combinación de progesterona y estrógenos (Bo et al., 1995; Mapletoft et al., 1995; Broadbent et al., 1995), aprovechando el efecto inhibitorio de los esteroides sobre la liberación de LH, y (b) remoción física del folículo dominante por aspiración con sondas guiadas ultrasónicamente (Bungartz y Niemann, 1994) u hormonal mediante la administración de GnRH o HCG (Rajamahendra y Sianangama, 1992; Rajamahendran y Calder, 1993). Nuestros resultados muestran que la punción folicular de folículos dominantes es la opción más económica y consistente de controlar la dinámica folicular en bovinos (Cuadro 2) y la utilización de progesterona intravaginal en ausencia de cuerpo lúteo, para asegurar la presencia de tal folículo, permite facilitar este enfoque (Cuadro 3).

Cuadro 2. Respuesta de folículos dominantes y características del reclutamiento folicular subsiguientes al tratamiento con GnRH, HCG, estradiol+progesterona y punción folicular en vacas.

Tratamiento	Nº de vacas	Folículos dominantes (FD)		Reclutamiento	
		Tasa de supresión (%)	Intervalo a supresión (días)	Intervalo al reclutamiento	Nº de folículos (media \pm DS)
GnRH	17	13/17 (76.5)	2.23	2.59 \pm 0.87	9.06 \pm 2.88
HCG	15	12/15 (80.0)	2	3.53 \pm 0.64	10.4 \pm 4.15
Estradiol+Progest	8	0/8 (0.0)	0	4.75 \pm 0.46	11.0 \pm 5.26
Punción Folicular	10	10/10 (100)	0	3.20 \pm 0.42	10.8 \pm 4.32



Cuadro 3. Estatus ovárico después del tratamiento de inducción de dominancia folicular con CIDR y PGF2 α en vacas.

Diámetro del folículo dominante ¹	Nº de vacas con folículo dominante (%)	Número de folículos dominantes		Número de folículos asociados	
		Promedio \pm DS	Rango	Promedio \pm DS	Rango
n.e. ²	5/64 (7.8)			1.4	0-2
10 - 14 mm	14/64 (21.9)	1.36 \pm 0.64	1-3	0.21 \pm 0.43	0-1
15 - 18 mm	31/64 (48.4)	1.05 \pm 0.21	1-2	0.64 \pm 0.79	0-4
> 18 mm	14/64 (21.9)	1.13 \pm 0.34	1-2	0.66 \pm 1.07	0-2

¹ evaluación 7 días después de aplicado el CIDR

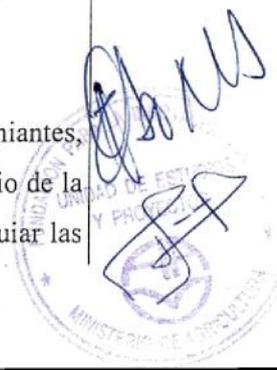
² n.e. = ausencia de folículos > 9 mm.

Analizando colectivamente la información, es evidente que en los últimos años los estudios destinados a comprender las bases de la variación individual a tratamientos de estimulación hormonal del desarrollo folicular han permitido darle una proyección productiva. En ese sentido, la estrategia destinada a identificar donadores eficientes de oocitos combinada con tratamientos que aumenten el número de folículos reclutables y con el inicio del tratamiento en momentos adecuados de la dinámica folicular, parece ser lo razonable para optimizar las respuestas individuales desde un punto de vista técnico y económico.

5.2 La aspiración transvaginal de oocitos guiada por ultrasonido, como medio de utilización de los folículos inducidos a crecer.

El uso del ultrasonido a tiempo real se estima que es el avance tecnológico mas relevante en el campo de la investigación y la clínica en reproducción animal (Ginther, 1995). Diversos autores han coincidido que el aparato adecuado para la exploración ovárica es el de tipo lineal modo B a tiempo real (Pierson y Ginther, 1984;1988; Adams et al, 1988;1994; Purwantara et al, 1993; Bungartz y Niemann, 1994; Evans et al, 1994; Sunderland et al, 1994). Aunque existen diferencias en la frecuencia que utilizan los diferentes grupos que han trabajado en el estudio de la dinámica folicular, lo mas usado es el transductor de 7.5 MHz (Adams et al, 1994; Bungartz y Niemann, 1994; Evans et al, 1994; Sunderland et al, 1994) debido a que se logra mayor resolución por lo que se disminuyen los errores de interpretación.

Para observar la dinámica folicular y aspirar oocitos transvaginalmente en rumiantes, se utilizan equipos equipados con transductores lineales de uso transrectal en el caso del estudio de la dinámica folicular, mientras que son utilizados transductores transvaginales sectoriales para guiar las





agujas usadas para puncionar los folículos ováricos (Ginther, 1995). La diferencia en el tipo de transductor es porque según la vía de abordaje transrectal o transvaginal será necesario disponer de un campo visual diferente por razones de comodidad en la realización de las técnicas. Debido a la estrecha aposición que se produce, por la manipulación del genital, entre las estructuras ecografiadas, fundamentalmente ovarios, y el transductor, la frecuencia, ideal de este, en ambos casos es de 7.5 MHz, ya que con esta frecuencia se pueden visualizar con alta resolución folículos desde 2-3 mm de diámetro (Ginther, 1995).

La aspiración de oocitos desde animales vivos se ha desarrollado recientemente proyectado como una alternativa a los tratamientos de superovulación, básicamente porque permite una utilización mas intensiva de las hembras valiosas y por lo mismo, un potencial mayor de embriones (Kruip et al., 1991; Bousquet et al (1999). Inicialmente descrito en humanos (Wikland et al., 1987), la aspiración transvaginal consiste en la punción de folículos antrales > de 3 mm, presentados a los transductores localizados en la vagina, mediante la fijación manual del ovario. El contenido folicular es aspirado generando una presión negativa controlada y los oocitos, rodeados por las células del cúmulus, son manipulados posteriormente in vitro (Kruip et al., 1990; Van der Schans et al., 1991; Pieterse et al., 1991a,b; Simon et al., 1993; Walton et al., 1993; Vos Plam et al., 1994, etc.). Desde luego este método no produce adherencias en los ovarios ni en el resto del aparato genital y no produce disturbios en la ciclicidad o en la sanidad genital de las hembras (Pieterse et al., 1991a; Bergfelt et al., 1994). Puede ser usada en animales de diferentes estados fisiológicos, incluidas las hembras prepuberales, en anestro post parto o con gestación temprana (Bungartz et al., 1995). Las intervenciones pueden ser repetidas durante varios meses sin alteraciones clínicas aparentes (Pieterse et al., 1991a; Broadbent et al., 1997) e incluso dos veces por semana, con un aumento considerable de los oocitos colectados (Gibbons et al., 1994).

En general, la eficiencia de colección fluctúa entre el 50 y 60% de los folículos puncionados, unos 12-15 oocitos por colección, y los mismos poseen un potencial de desarrollo equivalentes a los oocitos colectados de ovarios de animales sacrificados en mataderos (Herrler et al., 1992; Pavlok et al., 1992; Brackett y Zuelke, 1993). Por lo mismo, se estima que este método puede ser utilizado satisfactoriamente para la producción in vitro de embriones desde animales valiosos (Bungartz et al., 1995; Galli et al., 2001; Cox et al., 2001).

Aún cuando se ha trabajado principalmente con hembras no estimuladas, el efecto de un aumento en la población de folículos para ser aspirados por medio de FSH ha dado resultados inconsistentes (Bungartz et al., 1995; Stubbings y Walton, 1995; Looney et al., 1994), probablemente

reflejando la necesidad de subordinar los esquemas estimulatorios a la dinámica folicular (Thatcher et al., 1996). Asimismo, resta por evaluar el efecto de la administración de GH como mecanismos de aumento de la población de folículos a aspirar. Finalmente, la utilización de sistemas de aspiración tienen la ventaja sobre los procedimientos basados en la colección de ovarios de mataderos, en que el control de la alimentación es superior y el stress ejercido sobre el animal es menor, ambos factores han mostrado ejercer un efecto inhibitorio sobre el potencial de desarrollo de los oocitos (Gordon y Lu, 1990; Gordon, 1994).

La maduración oocitaria in vitro

La maduración oocitaria busca simular los eventos nucleares y citoplasmáticos propios del período preovulatorio, es decir, de las 24 a 36 horas subsiguientes a la descarga de gonodotrofinas que antecede a la ovulación (Dieleman et al., 1983). Se ha visto en rumiantes que sólo los oocitos expuestos a espermatozoides en un momento adecuado después de la descarga de gonodotrofinas se desarrollan hasta blastocistos (Moor y Warnes, 1978). La fecundación de oocitos inmaduros se asocia a alteraciones en el proceso de fecundación, fundamentalmente a poliespermia y a trastornos en la decondensación espermática y en el desarrollo del pronúcleo masculino (Yanagimachi, 1994; Cran y Moor, 1990; Perrault, 1990) y a una reducida tasa de desarrollo embrionario (Leibfried-Rutledge et al., 1989a).

Para simular una maduración natural, los oocitos son colectados por aspiración de folículos ováricos antrales de al menos 3 mm de diámetro, pues se estima que con este tamaño folicular, los oocitos adquieren competencia para completar la meiosis (Crozet, 1989). Para facilitar la fase inductiva y promover la fecundación y el desarrollo embrionario, los oocitos son cultivados rodeados de las células del cúmulus (complejo oocito-cúmulus; COC) y se incorporan además, entre 1 y 5 x 10⁶ células granulósicas por ml de medio de cultivo (Staigmiller y Moor, 1984; Leibfried-Rutledge et al., 1989; Fukui, 1990; Cox et al., 1993). Corrientemente se seleccionan los COC por apariencia (color y compactación) porque se ha observado que este aspecto puede tener una influencia en la capacidad potencial del oocito de experimentar desarrollo, probablemente por trastornos en los patrones sintéticos de los COC por alteraciones en los perfiles de esteroides gonadales (Moor y Crosby, 1987; Gandolfi, 1999).

Los COC son cultivados en medio 199 con sales Earle ó Ménezo B2, puesto que estos medios han mostrado los resultados mas consistentes (Staigmiller, 1988; Trounson et al., 1994). Los aditivos usados en forma estándar son las hormonas gonadotróficas y macromoléculas. En relación a





las primeras, se ha demostrado en cultivos carentes de sueros que la FSH, LH y estradiol son esenciales en la regulación de la maduración oocitaria (Saeki et al.,1990; Gandolfi, 1999). Como macromoléculas se ha usado suero, BSA y PVA, sin embargo el primero ha mostrado ser superior y actualmente se usa el suero de vaca en estro o el suero fetal con gonadotrofinas como estándares (Staigmiller,1988; Gordon, 1994). La investigación destinada a reemplazar el suero del medio con el fin de definirlo químicamente persiste muy activa, pero los resultados son aún limitados (Bavister et al.,1992; Trounson et al., 1994; Barnett y Bavister, 1996).

Las condiciones físico-químicas del cultivo han sido también definidas. Temperaturas entre 35° y 39°C han demostrado producir resultados similares en términos de maduración nuclear (Lenz et al.,1983), pero como la temperatura corporal de la vaca, cabra y oveja es de 38,5-39°C, lo recomendable es mantener la misma en el cultivo. El pH óptimo fluctúa entre los 7,2 y 7,4 (Wright y Bondioli,1981), con una razonable eficiencia entre los 6,8 y 7,6 (Shea,1981), mientras que la osmolaridad de los medios debiera fluctuar entre los 280 y 290 mOsm (Staigmiller,1988; Jiang et al., 1992). La composición de la fase gaseosa y la humedad ha sido estandarizada a 5% de CO₂ en aire con un 95% de humedad relativa (Staigmiller,1988; Leibfried-Rutledge et al,1989a; Gordon y Lu,1990), pero curiosamente sin hacer una evaluación demasiado crítica para el bovino ni para otros mamíferos (Boone y Shapiro,1990). Existen reportes que sugieren que un 20% de O₂ puede ser dañino para oocitos y embriones (Nakao y Nakatsuji,1990) y que una mezcla mas apropiada podría ser 5% de CO₂, 5% de O₂ y 90% de N₂ (el N₂ es visto como un gas neutral), equivalente a la existente en el oviducto (Barnett y Bavister, 1996).

Se estima que los procedimientos asociados a la maduración oocitaria permitirán que de los oocitos provenientes de ovarios de matadero, incubados para la obtención de embriones, finalmente no mas de un 40% logrará finalmente desarrollarse a blastocisto (Gordon,1994). La razón es que un porcentaje importante de oocitos son simplemente incompetentes para completar un proceso de capacitación oocitaria adecuado alternativamente porque los folículos de origen son muy pequeños, no adquirieron suficiente soporte de moléculas regulatorias durante el período inmediatamente anterior al cual fueron colectados o el folículo experimentaba un proceso de atresia suficientemente avanzado (Gandolfi, 1999).

Los espermatozoides como limitante de las tasas de fecundación

La información disponible muestra con precisión que los machos tienen una fertilidad in vivo e in vitro variada (Den Daas, 1997; Larson y Rodríguez-Martínez., 1999; Saacke et al., 2000).





Esto tiene gran relevancia en la producción de embriones debido a que este factor forma parte de la contribución paterna al potencial productivo de la descendencia. Así, machos de alto valor genético puede tener un escaso potencial de producción de embriones y por lo mismo, podría ser inconveniente su utilización desde la perspectiva de la producción económica de embriones.

Los estudios han mostrado que existen tres grupos de componentes de eyaculados normales en términos de morfología y motilidad que afectan su fertilidad: (a) aquellos componentes que afectan el transporte espermático y por ende, la capacidad de los espermios de colonizar los reservorios espermáticos en el tracto genital de la hembra, básicamente el tercio distal del istmo y la unión útero tubárica, y sobrevivir hasta la ovulación (Hunter, 1988; Suarez et al., 1990; Lefebvre et al., 1995); (b) aquéllos que intervienen en la capacidad fecundante; y (c) aquéllos relacionados con el control del desarrollo embrionario temprano (Shi et al., 1991; Hasler, 1992; Gordon, 1994).

El primer grupo de componentes está relacionado con la capacidad que tienen los espermatozoides de interactuar con las secreciones epiteliales y los mecanismos genitales para hacer frente a la contaminación asociada a la monta, propio de la fase folicular del ciclo (Hunter, 1988). En esta interacción, la actividad hidrodinámica dependiente de la actividad flagelar del espermio parece ser importante debido a que en un trabajo recientemente finalizado, espermatozoides de caprinos de diferentes machos y con capacidad de migración en mucus diferentes, presentaron distintas velocidades de desplazamiento (Cox et al., 1998). Sin embargo, espermatozoides con distintas capacidades de migración y velocidad presentaron similar potencial de fecundación in vitro (Martínez et al., 1997), por lo que podría ser un factor poco relevante en la producción in vitro de embriones.

El segundo grupo de componentes tiene que ver con factores relacionados con la fecundación. Esto implica la capacidad de experimentar capacitación espermática en el momento y sitio correcto y de penetrar las cubiertas oocitarias. La capacitación espermática habilita a los gametos para fecundar los oocitos puesto que las modificaciones de membrana asociadas permiten a los espermatozoides penetrar el cúmulus, adherirse a la zona pelúcida a través de ligandos específicos expuestos como consecuencia de este fenómeno, y activar el sistema que desencadena la reacción de acrosoma (Yanagimachi, 1994; Florman et al., 1990; Parrish y First, 1993). Paralelamente se produce la hiperactivación del flagelo, aumentando la capacidad de desplazamiento espermático en varias veces (Katz y Drobnis, 1990; Suarez et al., 1990), lo que es esencial en la penetración de las cubiertas oocitarias, especialmente de la zona pelúcida (ver: Yanagimachi, 1994; Suarez et al., 1990; Katz y Drobnis, 1990; Lefevre et al., 1995).





Los mecanismos involucrados en la capacitación espermática no están claros, pero existe consenso en que eventos que tienen lugar a nivel del plasmalema son determinantes en este fenómeno (Yanagimachi, 1994; Bedford y Hoskins, 1990). Una hipótesis general que tiene aceptación es que moléculas estabilizantes del plasmalema (glicoproteínas, esteroides, etc.) adsorbidas durante el tránsito espermático a través del epidídimo y en la resuspensión de éstos en el plasma seminal al momento de la eyaculación, son removidas (o modificadas) del plasmalema durante la migración espermática en el tracto genital de la hembra. Esta remoción de moléculas del plasmalema aparentemente produce una reestructuración en la organización molecular de esta membrana y como resultado, el plasmalema se torna más permeable a moléculas reguladoras como el calcio, las cuales inician una cascada de eventos bioquímicos que culminan con un cambio en el patrón de movimiento flagelar, conocido como hiperactivación del flagelo, y con un aumento en la sensibilidad del espermatozoide a agonistas de la reacción de acrosoma localizados a nivel de la zona pelúcida (Langlais y Roberts, 1985; Parks y Ehrenwald, 1990; Yanagimachi, 1994).

La evidencia disponible indica que existen variaciones entre machos en la capacidad de experimentar la capacitación *in vivo* e *in vitro* (Holt, 2000). De hecho, se considera un componente de fertilidad potencial *in vivo* de los machos su capacidad de experimentar capacitación espermática *in vitro* con la base de que espermatozoides menos estables por lo general deberían experimentar con mayor facilidad capacitación *in vitro* y por lo mismo, deberían tener buenas tasas de fecundación *in vitro* que espermios más estables. Por su subordinación al punto siguiente, también este componente se considerará secundario.

El tercer componente ha emergido sólo recientemente, gracias a la observación de que machos con similares tasas de fecundación *in vitro* pueden diferir en su capacidad de generar embriones transferibles en cultivos *in vitro* (Shi, 1991; Parrish et al., 1992; Gordon, 1996). No se conoce la base de esta diferencia, pero un número de procesos sintéticos se desencadenan en el ovum al momento de la fusión entre el oolema y el plasmalema, fenómeno conocido como activación (ver: Parrish et al., 1992; Ward y Kopf, 1993). No se sabe si las diferencias en el potencial de desarrollo es consecuencia de eventos aún muy sutiles derivados de la activación, o si tiene que ver con eventos regulatorios asociados al inicio de la transcripción dependiente de la activación del genoma embrionario (Gandolfi, 1999). La evaluación de machos en función de las tasas de desarrollo embrionario, contribuiría probablemente a mejorar las tasas de producción de embriones en programas *in vitro*.





En resumen, la producción económica de embriones demanda la selección de los machos a utilizar con base a su potencial genético de producción y a su potencial de inducción de desarrollo embrionario in vitro. La selección de machos exclusivamente por potencial de transmisión de producción a la descendencia, demanda una valoración específica del embrión producido.

Manipulación espermática para capacitación y fecundación in vitro.

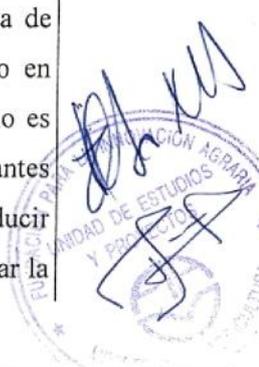
La manipulación espermática para fecundación in vitro (FIV) se ha estandarizado en el último tiempo y se inicia con la exposición de los espermios a condiciones de capacitación, para luego continuar con la resuspensión de ellos en un medio de fecundación, bajo condiciones que permitan no sólo una interacción de gametos apropiada, sino además que se lleven a cabo los eventos subsiguientes a la fecundación sin comprometer el potencial de desarrollo del ovum, hasta que este último sea transferido a condiciones de cultivo específicas.

Capacitación espermática in vitro.

La manipulación espermática para la capacitación in vitro está enfocada a remover supuestos factores decapacitantes (fuerza iónica elevada, pH elevado, liposomas, heparina) o simplemente sobrepasar mecanismos reguladores e inducir un influjo de calcio iónico (ionóforos de calcio). Actualmente se ha impuesto la utilización de heparina, aunque es aún frecuente la utilización del ionóforo de calcio como mecanismo de capacitación (Toyoda y Naito,1990).

La heparina es un glicosaminoglicano, copolímero de ácido urónico y un aminoazúcar (Cosu,1989). Ha sido demostrado que se une a espermatozoides, particularmente a nivel de cabeza y pieza media, que la capacidad de unión aumenta al momento de la resuspensión con plasma seminal en la eyaculación debido a la adsorción a nivel del plasmalema de proteínas ligadoras de heparina, y que la heparina mejora la eficiencia de la capacitación, un hecho que depende de los residuos sulfatos de la molécula (First y Parrish,1987; Miller y Ax,1989).

Aunque no es esencial (los espermios aún pueden fecundar oocitos en ausencia de heparina), la heparina aumenta significativamente la tasa de fecundación en sistemas in vitro en bovinos (Parrish et al.,1988), caprinos y ovinos (Cox et al., 1994). Su mecanismo de acción no es conocido y el tiempo mínimo para completar el período de capacitación es el mismo establecido antes para la fecundación in vivo en bovinos (Hunter,1988) y las concentraciones óptimas para inducir capacitación varían para cada toro. First y Parrish (1987) sugirieron que la heparina podría facilitar la





capacitación espermática actuando a varios niveles, entre ellos, por la remoción de factores decapacitantes desde la membrana (Ofosu et al.,1989) y por la estimulación de la incorporación de calcio (Handrow et al.,1986).

Fecundación in vitro.

La fecundación in vitro se lleva a cabo en gotas de 50-100 ml bajo aceite mineral liviano. Los medios mas utilizados han sido una modificación del medio Tyrode (pH 7,5-7,8), en la que además del balance de sales propia del medio, se le adiciona una fuente de energía (lactato y piruvato) y albúmina (Bavister y Yanagimachi,1977), y el medio DM (Medio Definido; Brackett y Oliphant,1975).

Los oocitos envueltos en las células del cúmulus son resuspendidos en medio de fecundación, eliminando las células granulósicas en exceso (Gordon y Lu, 1990). Las células del cúmulus son preservadas debido a que favorecen la capacitación espermática y la fecundación en rumiantes (Fukui,1990; Cox et al.,1993). Generalmente se adicionan unos 5-10 COC por gota de suspensión espermática, aunque se ha observado que el número de oocitos no constituye una limitación para obtener altas tasas de fecundación (Gordon y Lu, 1990). La concentración espermática utilizada ha fluctuado entre 1 y 10 x 10⁶ espermios/ml dependiendo del procedimiento utilizado para capacitar a los espermatozoides (Toyoda y Naito,1990; Trounson et al., 1994). La temperatura y la fase gaseosa se mantienen constantes. Tal cual fue expuesto por First y Parrish (1987), un número de eventos, incluida la reacción de acrosoma, son temperatura dependientes, por lo que es importante preservar la temperatura corporal.

Cultivo embrionario.

El cultivo de embriones tiene por objetivo suministrar las condiciones ambientales propias del oviducto y útero para permitir la expresión del programa de desarrollo embrionario. Esta ha sido una de las áreas mas activas de la investigación en los últimos años y por cierto, se han obtenido algunos progresos (Trounson et al., 1994; Barnett y Bavister, 1996).

Hay algunos eventos importantes de considerar en el cultivo embrionario. Un primer evento, es que el control de los ciclos celulares inicialmente depende de mensajes bioquímicos que se acumulan en el citoplasma del oocito durante el crecimiento y maduración oocitaria para luego pasar a depender de la actividad del genoma del embrión mismo. El bloqueo de la transcripción con a-





amanitina, ha permitido demostrar que la transición del control fundamentalmente materno al del embrión es variable entre especies pero constante para una especie y se caracteriza por una marcada vulnerabilidad del embrión al ambiente físico-químico al cual está expuesto (Telford et al., 1990; Parrish y First, 1993). De hecho, el bloqueo del desarrollo que se ha observado en casi todas las especies estudiadas, ha mostrado coincidir temporalmente con la activación del genoma embrionario, definido éste como el momento en que el desarrollo se torna completamente dependiente de la actividad de transcripción del embrión (Telford et al., 1990; Barnes y Eyestone, 1990).

Un segundo evento importante, es la modificación gradual que se produce en el metabolismo del embrión en respuesta a su estado de diferenciación (por revisión: Kane et al., 1992; Rieger, 1992). Un ejemplo de lo anterior lo constituye el metabolismo de la energía. La principal fuente de energía en el embrión de 2 a 16 células parecen constituirlo el piruvato y lactato (Takahashi y First, 1992), los que pueden ser reemplazados por amino ácidos en bovinos (Trounson et al., 1994), mientras que la utilización de glucosa aumenta considerablemente a partir del estado de mórula (Javed y Wright, 1991; Rieger, 1992). Aún más, concentraciones elevadas de glucosa parecen inhibir etapas tempranas de desarrollo no sólo en el bovino sino en ovinos, hamsters (Schini y Bavister, 1988) y ratones (Chatot et al., 1989).

Los oocitos son retirados de la incubación con los espermatozoides 12 a 40 hrs después, rodeados aún de las células del cúmulus, porque se estima que éstas favorecen el desarrollo embrionario (Fukui, 1990). Posteriormente son depositados en placas de cultivo revestidas por una monocapa de células de la granulosa, oviductales o células de otro tipo (por revisión: Rexroad, 1989; Gordon, 1994) y se mantienen en esas condiciones a 38,5-39 °C, 5% de CO₂ en aire y una humedad de 90%. Los medios de cultivo que consistentemente han permitido los mejores resultados son el TCM 199, el Mènezo B2 y más recientemente el SOF (Fluido Oviductal Sintético) suplementado con aminoácidos y bajo una atmósfera de 5% de O₂, 5% de CO₂ y 90% de N₂ (Takahishi y First, 1992; Walker et al, 1996). A todos los medios se les incorpora un 10 v/v de suero sanguíneo inactivado térmicamente, corrientemente suero fetal bovino (FCS) por que se estima es el que suministra más promotores de crecimiento. El agua y el aceite mineral utilizado en los cultivos, son otros de los factores inespecíficos que pueden tener una influencia determinante en los resultados. La calidad del agua es mas importante en el cultivo de embriones que en la maduración o fecundación, debido a que los embriones son extremadamente sensibles (Gordon, 1994). Los cultivos basados en aguas ultrapuras (Mili Q) triplican la producción de blastocistos comparados con otros tipos de aguas, mientras que el uso de agua fresca (menos de una semana), permite duplicar las tasas de desarrollo comparadas con aguas de 2 y 3 semanas (Nagao et al., 1995).





El uso de células somáticas en co-cultivos con embriones en etapas tempranas de desarrollo ha significado un avance importante en el cultivo in vitro de embriones. Gandolfi y Moor (1987) mostraron que embriones ovinos 2-células eran capaces de desarrollarse in vitro y continuar su desarrollo posterior in vivo con mas eficiencia si eran cultivados en presencia de monocapas de células somáticas, siendo las células oviductales más efectivas que los fibroblastos en este sentido. Desde entonces, un gran número de tipos celulares ha sido evaluado en su capacidad de sostener el desarrollo in vitro de embriones tempranos, con los resultados más diversos (por revisiones: Rexroad, 1989; Gordon y Lu, 1990; Kane et al., 1992; Gordon, 1994; Barnett y Bavister, 1996). En general, ha sido posible establecer que ningún tipo celular produce resultados mas consistentes que los posibles de obtener con monocapas de células oviductales, tanto en términos de tasas de desarrollo a blastocisto, como en el número de células, un indicador de normalidad de desarrollo corrientemente usado (Trounson et al., 1994). Adicionalmente, se ha establecido que la funcionalidad de las células oviductales sólo puede ser mantenida si la polaridad celular también lo es (Cox y Leese, 1997; Reischl et al., 1999). En ese sentido, el uso de sustrato sintético para facilitar el establecimiento y propagación de los cultivos celulares constituye un avance an el uso de co-cultivos celulares en la producción de embriones (Cox y Leese, 1997). El acondicionamiento de los medios de cultivo por un cultivo previo de 48 h en monocapas de células oviductales, pareció ser una alternativa a los co-cultivos en la creencia que permitiría enriquecer los medios con las moléculas regulatorias específicas sintetizadas por el oviducto (Eyestone et al., 1990; Thompson, 2000). Sin embargo, durante ese período también se producen residuos drivados del metabolismo celular, tales como el amonio que afecta el desarrollo de los embriones (Gardner et al., 1994).

Las innovaciones recientes más importantes en el cultivo in vitro de embriones tienen que ver con el uso de medios de cultivo simples, como el SOF, enriquecido con un pool de aminoácidos, que ha permitido reemplazar el uso de suero sanguíneo (Rosenkrans y First, 1994; Gardner et al., 1994). No se conoce la potencialidad en desarrollo embrionario que podría tener el co-cultivo con células oviductales sustentadas en medio SOF, considerando que el medio 199 presenta constituyentes que reconocidamente afectan el metabolismo embrionario temprano, como altos niveles de glucosa por ejemplo (Thompson, 2000).

Resumen

Los factores que pueden influir de manera inhibitoria en el desarrollo embrionario son variados, muchas veces desconocidos y además pueden actuar de manera aditiva. Por lo mismo, la





optimización de los procedimientos involucrados en cada una de las etapas que componen la producción *in vitro* de embriones es un requisito esencial para la obtención de resultados consistentes. Aún cuando se ha avanzado en aspectos conceptuales de la maduración oocitaria, fecundación y desarrollo embrionario, los efectos en el aumento de eficiencia de los sistemas *in vitro* han sido algo más lento.

CONGELACION DE EMBRIONES

La congelación de embriones por períodos indefinidos es un requerimiento básico para la difusión de la transferencia de embriones. La congelación demanda bajar la temperatura del embrión desde la corporal (38-39°C) hasta menos de -130°C en que no existe energía disponible para reacciones celulares y la única fuente de daño para las células es la radiación (unos mil años para generar un 50% de mortalidad), y posteriormente devolver la célula a la temperatura en la cual expresa su potencial fisiológico.

En general, son básicamente dos los tipos de daño a los cuales los embriones están expuestos específicamente en esta etapa: (a) los asociados a la exposición de los medios en los cuales los embriones se resuspenderán (principalmente variaciones en la osmolaridad y toxicidad de los medios; y (b) los asociados a las curvas de congelación y descongelación, principalmente el efecto de solución y la formación de cristales intracelulares (ver: Wilmut, 1986; Leibo, 1989; Niemann, 1991; Leibo y Loskutoff, 1993). La incorporación de crioprotectores, la utilización de crioprotectores de baja toxicidad (propenediol, etilenglicol) y el apropiado manejo de las curvas de congelación y descongelación ha simplificado el manejo de los embriones para congelación tanto en bovinos como en caprinos.

Los procedimientos estándares usados en la práctica de la transferencia de embriones (Niemann, 1991) se han simplificado con la incorporación del etilenglicol en reemplazo del glicerol. Por su gran coeficiente de difusión (Szell et al., 1989) se adiciona en una etapa (Voelkel y Hu, 1992; McIntosh y Hazelger, 1994), para luego congelar el embrión en la forma estándar. Inicialmente se lleva el embrión a la temperatura a la cual se inducirá el inicio controlado de la cristalización del líquido extracelular ("seeding"), luego con una tasa de enfriamiento lenta se asegura una adecuada deshidratación del embrión antes continuar con una tasa de enfriamiento rápida, se transfiere al nitrógeno líquido, para evitar un efecto de solución (Wilmut, 1986). La descongelación se lleva a cabo sumergiendo las pajuelas de 0,25 ml en un baño maría a 35-37°C. Las tasas de sobrevivencia superan el 90% en blastocistos bovinos.





La incorporación del etilenglicol ha permitido además un aumento en las tasas de preñez después de la transferencia directa del embrión a las hembras receptoras a niveles comparables a los obtenidos convencionalmente, sin la necesidad de tener que remover previamente el crioprotector (Voelkel y Hu, 1992; Susuki et al., 1993; Lange, 1995). De hecho, se ha reportado que varias compañías que brindan servicios en el área de la transferencia de embriones han reemplazado al glicerol de sus protocolos de congelación (McIntosh y Hazelger, 1994). Finalmente, el uso de etilenglicol ha permitido aumentar la sobrevivencia pos descongelación de embriones producidos in vitro, a niveles comparables con los embriones producidos in vivo, hasta recientemente, uno de los factores que mas limitaban el uso de la tecnología in vitro en el aumento del potencial productivo en bovinos (Gordon, 1994).

SEXAJE DE EMBRIONES

El sexaje de embriones es conveniente en la aplicación práctica de la transferencia de embriones no sólo porque mejora los resultados económicos derivados de la mayor productividad del embrión transferido, sino porque además ahorra los costos de mantención de las receptoras de embriones no útiles (Thibier y Nibart, 1995).

A pesar de los numerosos procedimientos descritos para sexar embriones (ver: Hare, 1986), en la actualidad se acepta que existen dos procedimientos con proyección productiva: (a) la separación espermática basada en citometría de flujo de alta resolución (Johnson et al., 1994), y (b) el uso de hibridación de DNA utilizando segmentos de DNA ("DNA probes") específicos para el cromosoma Y (Scröder et al., 1990; Herr y Reed, 1991; Agrawala et al., 1992; Thibier y Nibart, 1995). Desde luego la primera alternativa es deseable debido a que permite inducir el sexo deseado para el embrión, basado en el enriquecimiento de las poblaciones espermáticas con espermios X o Y (Johnson et al., 1989), sin embargo, la tecnología de separación aún está en desarrollo y se estima que permitirá sexar embriones sólo utilizando técnicas in vitro (Johnson, 2000). Sin embargo, la imposibilidad de sexar espermatozoides congelados, dificulta el uso de toros probados genéticamente, lo cual limita su utilización en bovinos de lechería. Desde luego el desarrollo de tecnologías alternativas (ej. clonación de toros probados) y el establecimiento de programas propios de pruebas de toros, podrían superar a futuro estas limitaciones.

El diagnóstico del sexo del embrión basado en hibridación de secuencias de DNA amplificadas por PCR se lleva a cabo a partir de biopsias de hasta 5 células de blastocistos. En





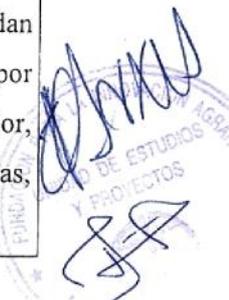
resumen, las células son obtenidas por aspiración para evitar daños de la zona pelúcida que puedan afectar la viabilidad del blastocisto durante la congelación y son lisadas incubándolas con soluciones enzimáticas apropiadas (Bredbacka et al., 1995), posteriormente las enzimas son inactivadas térmicamente. La mezcla es posteriormente ciclada utilizando la tecnología PCR, incorporando los primers necesarios y bromuro de etidio para generar fluorescencia. Finalmente la lectura puede hacerse por electroforesis en geles de agarosa, identificando las bandas específicas bajo luz UV, o como se ha sugerido en un procedimiento recientemente descrito (Bradbacka et al., 1995), directamente evaluando la fluorescencia rosada que emite la correcta amplificación de las secuencias de DNA del cromosoma Y (es decir, la presencia de fluorescencia indicaría que el embrión es macho).

En general, el procedimiento toma unas 4-6 h para partidas de embriones, es relativamente sencillo para personas experimentadas en el manejo de embriones, y de una confiabilidad que supera el 80%, lo cual satisface ampliamente las expectativas de los ganaderos, de acuerdo a las más de 3 mil transferencias de embriones sexados llevadas a cabo en Francia hasta Agosto de 1994 (Thibier y Nibart, 1995). Alternativamente, los embriones sexados pueden congelarse a la espera del diagnóstico de sexo sin afectarse sustancialmente su potencial de desarrollo.

RIESGOS EPIDEMIOLÓGICOS EN EL USO DE LA TECNOLOGÍA DE EMBRIONES

Es evidente que el suministro de genética en la forma de semen o embriones implica un riesgo sanitario que es necesario considerar. La posibilidad de transmitir enfermedades por una producción o manejo descuidado de semen y embriones es real y con la experiencia adquirida en la industria de la inseminación artificial, este problema puede ser minimizado. El riesgo cero en biología no existe, pero con la adopción de la tecnología del control de puntos críticos en procesos, el riesgo puede ser llevado a un nivel manejable (Thibier y Guérin, 2000).

Aún cuando no existen en Chile enfermedades de la lista A de la Oficina Internacional de Epizootias (OIE), la región se caracteriza por una prevalencia relativamente alta de enfermedades de la lista B, que incluye Brucelosis, Leucosis Enzoótica Bovina, Tuberculosis, IBR, Diarrea Viral y Leptospirosis. Todas ellas han sido demostradas en el semen (Philphot, 1993) y es probable que puedan ser transmitidas a través del contacto genital. Adicionalmente, los embriones pueden ser afectados por una contaminación inadvertida durante el procesamiento o manipulación pos proceso. Por lo anterior, la producción de embriones para transferencia comercial debe ser sometida a estrictas reglas sanitarias, equivalentes a la usada por la industria de la inseminación artificial (Thibier y Guérin, 2000).





Usando estrategias de control de puntos críticos como la descrita por Dumont (1994) para los centros de inseminación franceses y holandeses, el énfasis sanitario debe ser puesto en el uso de animales libres de las enfermedades mencionadas en todo el proceso productivo, prevención de la transmisión de enfermedades a esos animales, control periódico del estatus sanitario del rebaño usado en procesos de producción de embriones y manipulación inocua de los gametos y embriones por personal capacitado en áreas de acceso restringido.

El potencial de producción de embriones a partir de ovarios de matadero presenta un desafío especial debido a que muchas veces el estatus sanitario de los animales donantes es desconocido. Aún cuando se ha demostrado que la zona pelúcida de los embriones no es atravesada por los virus y bacterias estudiadas (Thibier y Guerin, 2000; Stringfellow y Givens, 2000; Guerin et al., 2000), y de hecho no son transmitidos por embriones producidos in vivo si son sometidos a los baños convencionales de 10 lavados en un volumen 100 veces el volumen del embrión (IETS, 1998), la porosidad de la zona pelúcida de embriones producidos in vitro constituye un riesgo a dimensionar (Stringfellow y Givens, 2000; Guerin et al., 2000). La incorporación de tripsina, una enzima proteolítica que permite eliminar partículas adheridas a la zona (virus y bacterias) o radicalmente el diagnóstico de contaminación de partidas de embriones por tests realizados a cultivos celulares, para eventualmente eliminar la partida de embriones expuesta, que en el intertanto se mantiene en cuarentena, constituyen las vías razonables de abordaje del problema (Nibart et al., 1998; Stringfellow et al., 2000).

La tecnología de embriones in vitro constituye una biotecnología de reciente aparición, por lo que se beneficiará sustancialmente de la experiencia sanitaria adquirida por la industria de la inseminación artificial, que constituyó la primera generación de tecnologías reproductivas. Aún cuando es más segura sanitariamente que el semen, la estrategia de procesamiento debe utilizar los mismos principios antes mencionados usado en la inseminación artificial para minimizar los riesgos de transmisión de enfermedades. Sólo de esta manera la tecnología de embriones constituirá el aporte a la ganadería mundial que a nivel internacional se le pronostica (Thibier y Guerin, 2000).

ALTERNATIVAS DE PRODUCCIÓN DE MELLIZOS EN BOVINOS

El porcentaje natural de nacimientos de mellizos en bovinos es un 2-3% (Scanlon, 1969). La producción artificial de mellizos no se ha investigado en ganado de leche, tanto porque la lechería se ha centrado en el negocio de leche como porque los partos de mellizos han estado asociados

[Handwritten signature]
FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA
CENTRO DE ESTUDIOS Y PROYECTOS



a mayores problemas de distocia, mortalidad de terneros y problemas reproductivos pos parto (Eddy, 1991; O'Farrell et al., 1991). Aún cuando existe evidencia de que los problemas se pueden minimizar con una mejor nutrición y preparación de los animales para el parto (Mayne y McEvoy 1993 a y b), es evidente que los terneros de razas de leche son significativamente más grandes que los de razas de carne británicas (Angus y Hereford). Por lo mismo, el proyecto plantea no sólo controlar las tasas de gestación de las vacas con gestaciones dobles, sino utilizar exclusivamente razas de tamaño pequeño e individuos, dentro de estas razas, que generen terneros más pequeños que la media racial, usando semen congelado probado para este carácter.

Mirando la producción de mellizos desde una perspectiva de producción de carne, se ha estimado que aún considerando razas de carne, que tienen un valor comercial superior a los terneros machos de razas de leche, el mellizaje es capaz de aumentar la eficiencia económica de la producción en un 25-30% (Gordon, 1996). En producción de leche, los terneros de carne deberían ser alimentados artificialmente, sin embargo el valor de la producción de leche y la mejor utilización de infraestructura y personal para crianza podría justificar la económicamente el modelo, sin considerar además la mejor utilización que se puede dar a leche de descarte, previamente pasteurizada.

Se han intentado varias alternativas experimentales de inducción de mellizos en bovinos, las que incluyen la superovulación moderada, el uso de técnicas inmunológicas y la selección. Sin embargo, la falta de control del lugar de ovulación en esta especie que carece de migración transuterina, y la baja heredabilidad del carácter ha hecho descartar estas posibilidades (revisado por Gordon, 1996). Por lo anterior, la única alternativa viable es el uso de la transferencia de embriones.

La transferencia de un embrión en el cuerno uterino contralateral al cuerpo lúteo de una vaca previamente inseminada constituyó la primera alternativa de inducción de mellizos (Rowson et al., 1971). Un conjunto de estudios en pequeña escala mostró la factibilidad técnica de este enfoque, los que pueden resumirse en los resultados obtenidos por el primer estudio de campo realizado en Irlanda, un 64% de preñez con un 45% de inducción de mellizos (Broadbent y Dolman, 1989). Sin embargo, en el enfoque sugerido en este estudio, el hibridaje con Holstein Friesian no sería bien visto en un modelo de producción de carne para cortes finos y además, se busca tamaños pequeños al nacimiento. Por lo que la alternativa razonable es la transferencia de 2 embriones de carne. Esta opción ha sido estudiada particularmente en Europa con el advenimiento de la tecnología in vitro de embriones. De acuerdo a estudios llevados a cabo por Ovamass (Bourke, 1992; Gordon, 1996), es posible obtener una tasa de preñez de 77% y 65% y una tasa de mellizos de 65% y 49% con la transferencia de dos embriones frescos producidos in vitro, mientras que el porcentaje decae a 53 y



54% respectivamente cuando ambos embriones son congelados. Con el advenimiento del brote de la patología espongiforme bovina (BSE) estos estudios fueron dejados de lado. Sin embargo han permitido demostrar que la producción de mellizos usando la tecnología de transferencia de embriones, siempre y cuando estos sean económicos, es una alternativa viable.

ANTECEDENTES SOBRE PROYECTOS RELACIONADOS

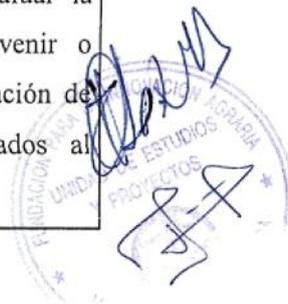
Corfo, a través del proyecto Fondef D97 I2037, financió el equipamiento del Laboratorio de Reproducción Animal de la Universidad de Concepción para identificar el procedimiento más económico para producir embriones en bovinos y evaluar el impacto económico que tiene la aplicación de la tecnología de embriones en sistemas de leche y carne convencionales.

El proyecto estableció que la forma más económica de producir embriones es la tecnología in vitro, reduce en al menos 2 veces el valor unitario de embriones de animales élite y hasta 10 veces el de animales comerciales en comparación con procedimientos convencionales. El impacto económico en sistemas de leche y carne está en evaluación pero se estima, con base en los trabajos de campo preliminares, que la tecnología de embriones constituye un aporte al desarrollo de la ganadería.

El proyecto presente es un escalamiento del proyecto anterior, en el sentido de que se proyecta a problemas concretos de la ganadería regional. Finalmente, no existe en el País proyectos asociados a tecnología de embriones in vitro en escala aplicable a sistemas productivos, financiados por el sistema de desarrollo tecnológico nacional.

PRODUCTOS Y RESULTADOS ESPERADOS

PRODUCTO Y/O RESULTADO	DESCRIPCION
1. Embriones simples y sexados de bovinos	Se establecerán los procedimientos para la producción y congelación de embriones obtenidos in vitro.
2. Control de calidad de embriones y cultivos celulares	Se establecerán procedimientos para evaluar la funcionalidad de los embriones y prevenir o identificar en forma precoz la contaminación de cultivos celulares y embriones destinados al mercado





3. Servicio y capacitación en transferencia de embriones	La necesidad de diseminar los recursos genéticos demandará la preparación y certificación de técnicos y de suministrar el servicio de transferencia de embriones.
4. Desarrollo de bases tecnológicas para superar limitaciones productivas.	Se evaluarán las posibilidades técnicas de usar la tecnología para la producción de mellizos.

APROPIABILIDAD DE LOS RESULTADOS

El nivel de especialización que la tecnología de embriones tiene y el manejo restringido que existe de la información en nivel internacional, pueden estimarse que constituyen con propiedad barreras de entrada para el uso de la tecnología para el progreso ganadero. La apropiabilidad de los resultados se puede asegurar con normas estándares de manejo y control de la información sensible, registro de marcas y control de la rentabilidad del negocio sumado a un suministro suficiente de productos, de manera de incentivar la producción animal mas que los servicios asociados. De este modo se puede proteger el trabajo de investigación y desarrollo que resulte como fruto del proyecto para mantener sus beneficios potenciales circunscritos al ámbito productivo ganadero nacional, transformándose en una real ventaja comparativa para la actividad. En este sentido, cabe recalcar y reforzar la idea de que el costo esperado de la utilización en la práctica, dentro del ámbito productivo, de las tecnologías a desarrollar por el proyecto, será muy bajo en comparación con el aumento de la eficiencia que se obtiene, por lo cual el beneficio es de muy fácil replicabilidad en muchas unidades productivas, que podrán ser abastecidas y asesoradas por una sola unidad de reproducción in vitro o centro genético a cargo del equipo profesional y técnico que presenta la presente propuesta.

NEGOCIOS DERIVADOS DEL PROYECTO

El potencial de generar beneficios económicos a través de la implementación práctica y productiva de la tecnología a desarrollar por el proyecto es muy amplio y versátil, adaptándose a una gran gama de condiciones y necesidades de la ganadería bovina en particular, y de otras ganaderías de especies rumiantes a las cuales esta tecnología pueda adaptarse en ulteriores esfuerzos de investigación, basados en lo aprendido por medio de la presente iniciativa. Es por ello que se ha planteado como parte de la metodología del proyecto el diseño de un modelo productivo basado en las tecnologías de embriones in vitro, el cual será probado a escala piloto productiva para evaluarlo técnica y económicamente. Sin embargo, dada la versatilidad de la tecnología, toda vez que es aplicable al



mejoramiento de varios aspectos de manejo reproductivo de un plantel bovino lechero y/o ganadero, es difícil cuantificar con exactitud el impacto económico. Sin embargo, procederemos a enunciar las principales aplicaciones de la tecnología y a estimar el impacto económico de cada una de ellas.

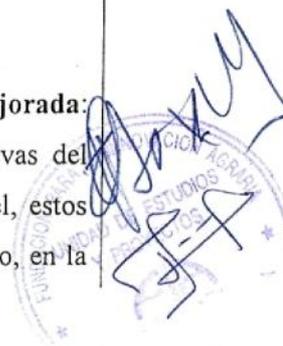
a) Negocios asociados al desarrollo y administración de la tecnología propiamente tal:

El centro genético y de producción de embriones in vitro podrá comercializar el servicio de venta y asesoría técnica para la utilización de embriones sexados y no sexados para facilitar las posibilidades de negocios que más abajo se mencionan. Asimismo, facilitará la capacitación en aspectos relacionados con la gestión predial y en servicios profesionales especializados.

Se definen claramente algunas líneas de servicio que se derivan del tipo de embriones que pueden obtenerse, a saber:

- **Producción de embriones sexados de genética elite:** Al disponerse de una tecnología de embriones sexados, es posible plantear un desarrollo de mejoramiento genético de planteles, e incluso un reemplazo de la genética de planteles en producción, basado en la adquisición de núcleos de genética de razas puras, es decir, animales vivos, los cuales tienen un elevado costo de adquisición, a partir de los cuales se genera un elevado número de embriones de costo comparativamente muy inferior al animal vivo, que se implantan en los vientres ya disponibles en los planteles productivos. De esta manera se obtiene en un corto plazo un plantel productivo de genética superior que reemplaza las existencias de ganado actuales. El impacto económico se puede dimensionar al ver que un animal vivo de raza pura y altos niveles productivos (para leche ó carne) tiene un costo CIF ex cuarentena que normalmente supera los US\$ 5.000. Un animal en edad productiva obtenido a partir de embriones de genética elite puede tener un costo no superior a los US\$ 650 (el embrión cuesta US\$ 130, pero se debe agregar el costo de alimentación y cuidado), pudiendo ser significativamente menor, permitiendo de esta manera renovar los planteles con genética de elite a un costo y en un plazo muy inferior a la alternativa actual de comprar todos los animales ó comprar reproductores y emplearlos en programas de mejoramiento por cruza y selección de progenie.

- **Producción de embriones sexados económicos de genética mejorada:** Cuando la genética disponible es suficientemente adecuada para las necesidades productivas del plantel, pero el número de animales de óptimo nivel es una pequeña proporción del plantel, estos animales pueden ser multiplicados rápida y económicamente por medio de tecnologías in vitro, en la





proporción de sexos adecuada al nivel productivo de leche o carne deseado. En este caso, el costo de los animales del sexo deseado obtenidos a partir de embriones puede ser tan bajo como US \$ 400 por unidad.

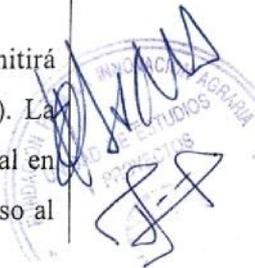
- **Producción de embriones económicos de razas de carne para partos múltiples:** El suministro de animales para feed lot que tengan apropiadas características genéticas para la producción de carne de calidad adecuada a los requerimientos de los mercados de alto precio es una de las limitantes que existen para enfrentar este negocio. En este sentido, el servicio de implante de varios embriones de razas de carne en vacas lecheras, con el fin de obtener partos dobles, combinado con el servicio de implante de embriones sexados para asegurar el animal de reposición, se transforma en una herramienta estratégica para maximizar la productividad de animales para engorda en sistemas mixtos de producción de leche y carne, que pueden ser abordados en forma asociativa entre productores de cada rubro, o permitir ampliar la actividad de un plantel lechero. El costo de un ternero obtenido de esta manera no sería superior a los US\$ 30.

b) Beneficios asociados al empleo práctico de la tecnología en planteles bovinos lecheros o de carne:

Los servicios que el centro de producción de embriones puede proveer a los productores son una herramienta que cada productor puede emplear en forma individual, pero también es claro que al utilizarse en forma asociativa, el beneficio se multiplica y refuerza notablemente, por lo cual la puesta en práctica del proyecto tiene un impacto sectorial.

Los productores lecheros se podrán beneficiar de la disponibilidad de embriones sexados y no sexados, porque se permitirá producir carne de alta calidad, incluso mellizos, como negocio extra del sistema, una vez asegurado el número de hembras de reemplazo con embriones sexados, y de genética superior. Es importante hacer notar que se puede optar a mejoras genéticas aún sin tener que adquirir animales vivos de alta calidad para obtener embriones, ya que se puede usar semen importado de alta calidad para producir los embriones sexados a partir de óvulos obtenidos en Chile.

Para los productores de carne, la producción de terneros de carne en lecherías permitirá disponer de una fuente de animales criados para los procesos de engorda intensiva (feed lots). La industria procesadora de carnes se beneficiará por un suministro de animales de calidad industrial en escala significativa, lo que facilitará su competitividad en el mercado interno y facilitará el acceso al





externo. Precisamente es este factor el que ha motivado la participación de Carnes Ñuble S.A. en el proyecto, ya que esta empresa cuenta con un activo y dinámico Programa de Desarrollo de Proveedores, bajo el cual el empleo de las tecnologías a desarrollar por el proyecto podría llegar a expresar todo su potencial al permitir un aumento global de la eficiencia de la ganadería bovina en el área geográfica de Impacto del Proyecto (Regiones VI a XI).

Referencias Citadas.

- Adams, G.P. 1994. *Theriogenology*, 41:19.
- Adams, G.P., A.C.O. Evans y N.C. Rawlings. 1994. *J. Reprod. Fert.* 100:27.
- Agrawala, P.L., V.A. Wagner y H. Geldermann. 1992. *Theriogenology*, 38:969.
- Alberio, R. 1992. En: J.F.Cox (ed.). Taller Internacional en producción in vitro de embriones en bovinos. Univ. de Concepción □ Fundación Andes. Chillán.
- Armstrong, D.T. 1993. *Theriogenology*, 39:7.
- Báez, C.A. 1996. Comparación del comportamiento productivo de vacas Holstein Friesian en la Provincia de Ñuble en la 1ª, 2ª, 3ª, y 4ª lactancia. Memoria de título. Fac. Med. Veterinaria, Universidad de Concepción.
- Barnes, F.L. y W.H. Eyestone. 1990. *Theriogenology* 33:141.
- Barnett, D. y B. Bavister. 1996. *Molec. Reprod. Develop.* 43:105.
- Bavister, B.D., T.A. Rose_Hellekant y T. Pinyopummintr. 1992. *Theriogenology*, 37:127.
- Bavister, B.D. y R. Yanagimachi. 1977. *Biol. Reprod.* 16:228.
- Bedford J.M. y D.D. Hoskins. 1990. En: G.E. Lamming (ed) *Marshall's Physiology of Reproduction*. Vol.2. Churchill Livingstone, Edinburgo, pp 379.
- Bergfelt D.R., K.C. Lightfoot y G.P. Adams. 1994. *Theriogenology*, 41:161.
- Betteridge, K.J. y C. Smith. 1988. *Proc.XI Congr. Intern. de Reprod. Anim. e I.A.* Dublin, Vol. 5, pp:255.
- Betteridge, K.J. 1993. En: G.J. King (ed.). *Reproduction in domesticated animals*. Elsevier, Amsterdam, pp 387.
- Bo, G.A, G.P. Adams, M. Caccia, M. Martínez, R.A. Pierson y R.J. Mapletoft. 1995. *Anim. Reprod. Sci.* 39:193.
- Boland, M.P., D. Goulding y J.F. Roche. 1991. *Theriogenology*, 35:5.
- Bondioli, K.R., S.B. Ellis, J.H. Pryor, M.W. Williams y M.M. Harpold. 1985. *Theriogenology*, 31:95.





- Boni, R., M.W.M. Roelofsen, M.C. Pieterse, J. Kogut y Th. Kruip. 1997. *Theriogenology*, 48:277.
- Boone, W.R. y S.S. Shapiro. 1990. *Theriogenology* 33:23.
- Bórquez, F., M. Figueria, M. Tima y R. Dorner. 1996. *Agro Ciencia*, 12:57.
- Bousquet, D, H Twagiramungu, N Morin, C Brisson, G Carbonneau, J Duncher. 1999. *Theriogenology*, 51:59.
- Brackett, B.G. y K.A. Zuelke. 1993. *Theriogenology*, 39:43.
- Brackett, B.G. y G. Oliphant. 1975. *Biol. Reprod.* 12:260.
- Bredbacka, P., A. Kankaanpaa y J. Peippo. 1995. *Theriogenology*, 44:167.
- Broadbent, P.J., D.F. Dolman, R.G. Watt, A.K. Smith y M.F. Franklin. 1997. *Theriogenology*, 47:1027.
- Broadbent, P.J., M. Stewart y D.F. Dolmal. 1991. *Theriogenology*, 35:125.
- Broadbent, P.J., F.E. Gebbie, D.F. Dolman, R.G. Watt, M.E. King y L.C. Higgins. 1995. *Theriogenology*, 43:176
- Bungartz, L. y H. Niemann. 1994. *J. Reprod. Fertil.* 101:583.
- Bungartz, L., A. Lucas Hahn, D. Rath y H. Niemann. 1995. *Theriogenology*, 43:667.
- Cahill, L.P. 1981. *J. Reprod. Fert. (Supl. 30)*:135.
- Carolan, C., P. Monaghan, M. Gallagher e I. Gordon. 1994. *Theriogenology*, 41:1061.
- Cosu, B. 1989. *Ann. N.Y. Acad. Sciences.* 556:1.
- Cox, JF, F Saravia, A Zavala, V. Alfaro, C. Rivas, A. Cortés, N Butendieck. 2000. Fecundación y desarrollo in vitro de oocitos de vacas obtenidos por punción folicular asistida por ecografía (OPU). XI Congr. Medicina Veterinaria, Santiago
- Cox, JF. 2000. Informe técnico proyecto Fondef D97I2037.
- Cox, J.F., J. Hormazábal y A. Santa María. 1993. *Theriogenology* 40:1259.
- Cox, J.F., J. Avila, F. Saravia y A. Santa María. 1994. *Theriogenology*, 41:1621.
- Cox, J.F., F. Saravia, X. Sandoval, A. Santa María, M. Briones. 1998. XXIII Sochipa, 21-23 de octubre, Chillán.
- Cox, J.F., F. Saravia, O. Torrealba, A. Zavala, A. Lobos. 1999. En: Diskin, J. Sreenan (eds). *Fertility and Infertility in the High Producing Dairy Cow*, BSAS occasional series N° 26.
- Cox, J.F., F. Saravia, A. Zavala, V. Alfaro, C. Rivas y N. Butendieck. 2001. XXVI Congreso Anual de la Sociedad Chilena de Producción Animal. Santiago, 25-27 de Julio.
- Cox, CI, HJ Leese. 1997. *Anim. Reprod. Sci.* 46:169.
- Cran, D.G. y R.M. Moor. 1990. En: Bavister, Cummins, Roldán (eds). *Fertilization in Mammals. Sero Symposium*, Norwell, Mass., pp 35.
- Crozet, N. 1989. *J. Reprod. Fert. Suppl.* 38:9.





- Chatot, C.L., C.A. Ziomek, B.D. Bavister, J.L. Lewis y I.Torres. 1989. *J. Reprod. Fertil.* 86:679.
- Chemineau, Ph., D. Chupin, Y. Cognié y J. Thimonier. 1993. En: C.Thibault, M-C. Levasseur y R.H.F. Hunter (eds). *Reproduction in mammals and man*. Ed. Ellipses, pp 673.
- Christensen, L.G. 1991. *Theriogenology*, 35:141.
- Den Daas N. Prediction of bovine male fertility. PhD Thesis, Wageningen Agricultural University, Wageningen, The Netherlands, 1997.
- Dieleman, S.J., Th. A.M. Kruip, P. Fontijne, W.H.R. de Jóng y G.C. van der Weyden. 1983. *J. Endocr.* 97:31.
- Driancourt, M.A., F. Castonguay, B.M. Bindon, L.R. Piper, J.F. Quirke y J.P. Hanrahan. 1990. *J. Anim. Sci.* 68:2034.
- Driancourt, M.A., L.P. Cahill y B.M. Bindon. 1985. *J. Reprod. Fert.* 73:93.
- Dumont, P, B Guerin, M Thibier. 1994. *Guidue qualitepour la production de semence de taureaux*. UNCEIA, Francia..
- Esnaola, V , R Amunátegui. 2000. *Leche y Productos lácteos*. Temporada Agrícola N° 16. Oficina de Estudios y Políticas Agrarias. Odepa.
- Evans, N.P., J.R. McNeilly y R. Webb. 1994. *Biol. Reprod.* 51:913.
- Eyestone, W.H., J.M. Jones y N.L. First. 1990. *Theriogenology*, 33:226.
- First, N.L. y J.J. Parrish. 1987. *J. Reprod. Fertil.* 34 (Suppl.):151.
- Florman H.M., D.F. Babcock, P.M. Bourissa, N.L. First, D.M. Kerlin y R.M. Tombes. 1990. En: B.D. Bavister, J. Cummins y E.R.S. Roldan (eds). *Fertilization in mammals*. Sero Symposia, Norwell, Mass. pp 77.
- Fortune, J.E. 1994. *Biol. Reprod.* 50:225.
- Fortune, J.E., J. Sirois, A.M. Turzillo y M. Lavoit. 1991. *J. Reprod. Fert.* (Supl. 43):187.
- Fukui, Y. 1990. *Molec. Reprod. Develop.* 26: 40.
- Gandolfi, F. y R.M. Moor. 1987. *J. Reprod. Fertil.* 86:501.
- Gandolfi, F. 1999. En: A Lauria, F gandolfi, G Enne, L Gianaroli (eds). *Gametes: Development and Function*. Sero Symposia, pp:337.
- Gardner, DK, M Lane, A Spitzer, P Batt. 1994. *Biol Reprod.* 50:390.
- Ginther, OJ. 1999. *Anim. Reprod. Sci.* 60-61:61.
- Ginther, O.J. 1995. *Ultrasoning imaging and Animal Reproduction: Fundamentals*. Equiservice Publishing, Wisconsin, pp 147.
- Ginther, O.J., J.P. Kastelic y L. Knopf. 1989. *Anim. Reprod. Sci.* 20:187.
- Gong, J.G., T. Bramley y R. Webb. 1991. *Biol. Reprod.* 49:941.





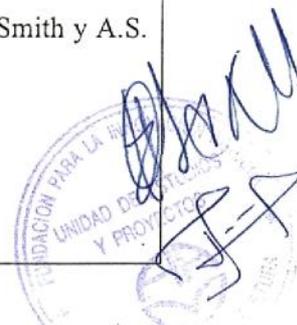
- Gordon, I. 1994. Laboratory production of cattle embryos. CAB Internatiónal.
- Gordon, I. y K.J. Lu. 1990. *Theriogenology* 33:77.
- Gray, B.W., D. Stringfellow, M. Ridell, G. Daenport y J. Wright. 1993. *Theriogenology*, 39:227.
- Gibbons, WE Beal, RL Krisher, et al. 1994. *Theriogenology*, 42:405.
- Guerin, B, B Le Guienne, M Thibier. 2000. *Livestock Prod. Sci.* 62:271.
- Guibault, L.A., F. Grasso, J.G. Lussier, P. Rouillier y P. Mattón. 1991. *J. Reprod. Fert.* 91:81.
- Hahn, J. 1992. *Theriogenology*, 38:269.
- Handrow, R.R., R.W. Lenz, R.L. Ax 1984. *J. Androl.* 5:51.
- Hare, W.C.D. 1986. En: R.B.L. Gwatkin (ed.). *Manipulation of mammalian development.* Plenum Press, pp 195.
- Hasler, JF. 1992. *J. Dairy Sci.* 75:2857.
- Hasler, JF, WB Henderson, PJ Hurtgen, ZQ Jin et al. 1995. *Theriogenology*, 43:141.
- Herr, C.M. y K.C. Reed. 1991. *Theriogenology*, 35:45.
- Herrler, A., A. Lucas Hahn y H. Niemann. 1992. *Theriogenology*, 37:1213.
- Holt, WV. 2000. *Anim. Reprod. Sci.* 62:3.
- Hunter, R.H.F. 1988. *The Fallopian Tube.* Springer Verlag, Berlín.
- Javed, M.H. y R.W. Wright, 1991. *Theriogenology*, 35:1029.
- Jiang et al. (1992). *Theriogenology*, 37: 230.
- Johnson, L.A. , J.P. Flook y H.W. Hawk. 1989. *Biol. Reprod.* 41:199.
- Johnson, L.A.. 2000. *Anim. Reprod. Sci.* 60-61:93.
- Kane, M.T., E.W. Carney y J.E. Ellington. 1992. *Theriogenology* 38:298.
- Katz D.F. y E.Z. Drobnis. 1990. En: B.D. Bavister, J. Cummins y E.R.S.Roldan (eds). *Fertilization in mammals.* Serono Symposia, Norwell, Mass. pp 125.
- King, G. 1996. En: S. Recabarren (ed). *II Simposio Internacional de Reproducción Animal.* Chillán, pp 33.
- Kruij, Th.A.M., M.C. Pieterse, Th.H.P.L. van Beneden et al. 1991. *Vet. Rec.* 128:208.
- Kruij, Th.A.M., M.C. Pieterse, Th.H.P.L. van Beneden et al. 1990. *Theriogenology*, 33:269.
- Kuehner, L.F., D. Rieger, J.S. Waltón, X. Zhao y W.H. Johnson. 1993. *Theriogenology*, 40:1003.
- Lange, R. 1995. *Theriogenology*, 43:258.
- Langlais, J. y K.D. Roberts. 1985. *Gamete Res.* 12:183.
- Larson, B, H Rodríguez-Martínez. 1999. *Anim. Reprod. Sci.* 60-61:327.



- Lefevre, R., P.J. Chenoweth, M. Drost, C.T. LeClear, M. MacCubbin, J.T. Dutton y S. Suarez. 1995. *Biol. Reprod.* 53:1066.
- Leibfried Rutledge, M.L., E.S. Critser, J.J. Parrish y N.L. First. 1989. *Theriogenology*, 31: 61.
- Leibo, S.P. 1989. *Theriogenology*, 31:85.
- Leibo, S.P. y N.M. Loskutoff. 1993. *Theriogenology*, 39:81.
- Lenz, R.W., G.D. Ball, M.L. Leibfried, R.L. Ax y N.L. First. 1983. *Biol. Reprod.* 29:173.
- Lindner, G.M. y R.W. Wright. 1983. *Theriogenology*, 20:407.
- Looney, C.R., B.R. Lindsay, C.L. Gonseth y D.L. Johnson. 1994. *Theriogenology*, 41:67.
- Lucy, M.C., J.D. Savio, L. Badinga y T.T. Thatcher. 1992. 70:3615.
- Lussier, J.G., P. Mattón y J.J. Dufour. 1987. *J. Reprod. Fert.* 81:301.
- Maino, M. y R. Prado. 1995. VIII Jornadas Latinoamericanas de Buiatría. Pp 45.
- Mapletoft, R.J. y G. Bo. 1995. En: C.H. Del Campo, M. Patiño y M.R. del Campo (eds.). *Relaciones embrio-maternas y biotecnologías reproductivas*. Valdivia, pp 59.
- Mapletoft, R.J. y R.A. Pierson. 1995. En: C.H. Del Campo, M. Patiño y M.R. del Campo (eds.). *Relaciones embrio-maternas y biotecnologías reproductivas*. Valdivia, pp 36.
- Mapletoft, R.J., G. Bo y R.A. Pierson. 1995b. En: C.H. Del Campo, M. Patiño y M.R. del Campo (eds.). *Relaciones embrio-maternas y biotecnologías reproductivas*. Valdivia, pp 1.
- Martínez, C., P. Zamora, A. Santa María y J.F. Cox. 1997. *Theriogenology*, 47:260.
- McNeilly, A.S., W. Crow, J. Brooks y G. Evans. 1992. *J. Reprod. Fert. (Supl.45)*:5.
- McNeilly, A.S., H.M. Picton, B.K. Campbell y D.T. Baird. 1991. *J. Reprod. Fert. (Supl. 43)*:177.
- McClintock, A.E. y F.W. Nicholas. 1991. Project report N° US016. Dept. Animal Science, University of Sidney, N. South Wales, Australia.
- McGuirk, B. 1990. Proc. IV Congr. Genética Aplicada a la Producción Animal. Vol. 14, pp 259.
- McIntosh, A. y N.L. Hazelger. 1994. *Theriogenology*, 41:253.
- Miller, D.J. y R.L. Ax. 1989. *Gamete Res.* 23:451.
- Monniaux, D., D. Chupin y J. Saumande. 1983. *Theriogenology*, 19:55.
- Moor, R.M. y Crosby, 1987 *J. Reprod. Fert.* 79:469.
- Moor, R.M. y G.M. Warnes. 1978. En: Crighton, Foxcroft, Haynes y Lamming (Eds.) *Control of Ovulation*. Butterworths, Lóndón, pp 159.
- Moor, R.M., Th. Kruip y D. Green. 1984. *Theriogenology*, 21:103.



- Moya, JE, R Amunátegui. 2000. Mercado de la carne bovina. Mercados Agropecuarios, N° 100. Oficina de Estudios y Políticas Agrarias. Odepa.
- Moya, JE. 2000. Mercado de la carne bovina. Mercados Agropecuarios, N° 90. Oficina de Estudios y Políticas Agrarias. Odepa.
- Nagao, Y., K. Saeki, M. Hoshi, Y. Takahashi y H. Kanagawa. 1995. *Theriogenology*, 44:433.
- Nakao, H. y N. Nakatsuji. 1990. *Theriogenology*. 33:591.
- Nibart, M, B Marquant-Le Guienne, P Humblot. 1998. Manual of the International Embryo Transfer Society. 3ª Ed. pp 67-77.
- Nicholas, F.W. y C. Smith. 1983. *Anim. Prod.* 36:341.
- Niemann, H. 1991. *Theriogenology*, 35:109.
- Odepa. 2000. El Pulso de la Agricultura. Mes de febrero. Oficina de Estudios y Políticas Agrarias.
- Ofosu, F.A., M.R. Buchanan, N. Anvari, L.M. Smith y M.A. Blajchman. 1989. *Ann. N.Y. Acad. Sciences.* 556: 123.
- Parks, J.E. y E. Ehrenwald. 1990. En: Bavister, Cummins, Roldán (eds). *Fertilization in Mammals. Serono Symposia, Norwell, Mass.*, pp 155.
- Parrish, J.J. y N.L. First. 1993. En: G.J. King (ed.) *Reproduction in domesticated animals.* Elsevier, Amsterdam, pp 195.
- Parrish, J.J., C.I. Kim e I.H. Bae. 1992. *Theriogenology*, 38:277.
- Parrish, J.J., J.L. Susko Parrish, W.A. Winer y N.L. First. 1988. *Biol. Reprod.* 38:1171.
- Pavlok, A., A. Lucas-Hahn y H. Niemann. 1992. *Molec. Reprod. Develop.* 31:63.
- Perrault, S.D. 1990. En: Bavister, Cummins, Roldán (eds). *Fertilization in Mammals. Serono Symposia, Norwell, Mass.*, pp 285.
- Philphot, M. 1993. *Br. Vet. J.* 149:339.
- Pieterse, M.C., P.L.A.M. Vos, Th.A.M. Kruip et al. 1991a. *Theriogenology*, 35:19.
- Pieterse, M.C., P.L.A.M. Vos, Th.A.M. Kruip et al. 1991b. *Theriogenology*, 35:401.
- Prado, R. 1995. En: M. Briones (eds.). 1ª Jornadas de Prod. Animal para la Agricultura Campesina. Chillán. Pp 121.
- Prado, R., S.M. Rhind, I.A. Wright, A.J.F. Russel, S.R. McMillen, A.J. Smith y A.S. McNeilly. 1990. *Anim. Prod.* 51:103.
- Rajamahendran, R. y M.D. Calder. 1993. *Theriogenology*, 40:99.
- Rajamahendran, R. y P.C. Sianangama. 1992. *J. Reprod. Fert.* 95:577.
- Reischl, J, K Prella, H Schöl, et al. 1999. *Cell Tissue Res.* 296:371.





- Rexroad, C.E. 1989. *Theriogenology* 31:105.
- Rieger, D. 1992. *Theriogenology* 37:75-93.
- Rieger, D., J.S. Walton, M.L. Goodwin y W.H. Johnson. 1991. *Theriogenology*, 35:863.
- Roche, J.F. y M. Boland. 1991. *Theriogenology*, 35:81.
- Rosenkrans, CE, NL First. 1994. *J. Anim. Sci.* 72:434.
- Saacke, RG, JC Dalton, S Nadir, RL Nebel, JH Bame. 2000. *Anim. Reprod. Sci.* 60-61:663.
- Saeki, K., M. Hoshi, M.L. Leibfried Rutledge y N.L. First. 1990. *Theriogenology* 34:1035.
- Savio, J.D., M.P. Boland, N. Hynes y J.F. Roche. 1990. *J. Reprod. Fert.* 88:569.
- Savio, J.D., W.W. Thatcher, L. Badinga, R.L. de La Sota y D. Wolfenson. 1993. *J. Reprod. Fert.* 97:197.
- Scanlon, PF. 1969. PhD thesis. National University of Ireland. Dublin, 120pp.
- Schini, S.A. y B.D. Bavister. 1988. *Biol. Reprod.* 39:1183.
- Shea, B.F. 1981. *Theriogenology*, 15:31.
- Shi, D.S., K.H. Lu, I. Gordon y C. Polge. 1991. *Theriogenology*, 35:271.
- Simon, L., L. Bungartz, D. Rath y H. Niemann. 1993. *Theriogenology*, 39:312.
- Singh, E.L. 1987. *Theriogenology*, 27:9.
- Staigmiller, R.B. 1988. *J. Anim. Sci.* 66, Suppl. 2 : 54.
- Staigmiller, R.B. y R.M. Moor. 1984. *Gamete Res.* 9:221.
- Stringfellow, DA, KP Riddell, PK Galik et al. 2000. *Theriogenology*, 53:827.
- Stringfellow, D.A., K.P. Riddel y O. Zurovac. 1991. *N.Z. Vet. J.* 39:8.
- Stringfellow DA, MD Givens. 2000. *Anim. Reprod. Sci.* 60-61:629.
- Stubbings, R.B. y J.S. Walton. 1995. *Theriogenology*, 43:705.
- Suarez S.S., M. Drost, K. Redfern y W. Gottlieb. 1990. En: B.D. Bavister, J. Cummins y E.R.S. Roldán (eds). *Fertilization in mammals. Serono Symposia*, Norwell, Mass. pp 111.
- Sunderland, S.J., M.A. Crowe, M.P. Boland, J.F. Roche y J.J. Ireland. 1994. *J. Reprod. Fert.* 101:547.
- Susuki, T., M. Takagi, M. Yamamoto, S. Saha, A. Boediono y M. oe. 1993. *Theriogenology*, 39:324.
- Szell, A., J.N. Shelton y K. Szell. 1989. *Cryobiology*, 26:297.
- Takahashi, Y. y N.L. First. 1992. *Theriogenology*, 37:963.
- Telford, N.A., A.J. Watson y G.A. Schultz. 1990. *Molec. Reprod. Devel.* 26:90.





- Thatcher, W.W., E.J.P. Schmitt, R.L. de la Sotta et al. 1996. En: G.A. Bo y M. Caccia (eds) II Simposio Internacional de Reproducción Animal. Córdoba, Argentina, pp 23.
- Thibier, M, B Guérin. 2000. *Livestock Prod. Sci.* 62:253.
- Thibier, M. y M. Nibart. 1995. *Theriogenology*, 43:71.
- Thibier, M. 2000. *IETS Newsletter*, Diciembre.
- Thompson, JG. 2000. *Anim. Reprod. Sci.* 60-61:263.
- Tornbull, K.E., A.W.H. Braden y P.A Mattner. 1977. *Aust. J. Biol. Sci.* 30:229.
- Toyoda, Y. y K. Naito. 1990. En: Bavister, Cummins, Roldán (eds). *Fertilization in Mammals. Serono Symposia*, Norwell, Mass., pp 335.
- Trounson, A., D. Pushett, L.J. Maclellan, I. Lewis y D.K. Gardner. 1994. *Theriogenology* 41: 57.
- Van der Schans, A., L.A.J. Van der Westerlaken, A.A.C. De Witt et al.,1991. *Theriogenology*, 35:288.
- Viñuela, J.L. 1996. Informe técnico Interno. Forestal Recimex. 12 pp.
- Voelkel, S.A. y Y.X. Hu. 1992. *Theriogenology*, 37:23.
- Vos, P.L.A.M., F.A.M. De Loos, M.C. Pieterse et al. 1994. *Theriogenology*, 41:829.
- Walker, SK, JL Hill, DO Kleemann, CD Nancarrow. 1996. *Biol. Reprod.* 55:703.
- Walton, S.J., K.H. Christie y R.B. Stubbings. 1993. *Theriogenology*, 39:336.
- Ward, C.R. y G.S. Kopf. 1993. *Develop. Biol.* 158:9.
- Webb, R., J.G. Gong y T.A. Bramley. 1994. *Theriogenology*, 41:25.
- Webb, R., BK Campbell, HA Garverick, JG Gong, CG Gutiérrez y DG Armstrong. 1999. *J. Reprod. Fertil. Suppl* 54: 33.
- Wickland, M., E. Lennart, K. Hammarberg y L. Nilsson. 1987. *J. of Clinical Ultrasound*, 5:245.
- Wilmot, I. 1986. En: R.B.L. Gwatkin (ed.). *Manipulation of mammalian development*. Plenum Press, pp 217.
- Woolliams, J.A. y I. Wilmot. 1989. *Anim. Prod.* 48:3.
- Wrathall, AE, P Suttmöller, 1998. *Manual of the International Embryo Transfer Society*. Champaign, Ill. 3ª edición. pp 17.
- Wright, R.W. y K.R. Bondioli. 1981. *J. Anim. Sci.* 53:702.
- Yanagimachi, R. 1994. In: Knobil A, Neill JD (eds). *The Physiology of Reproduction*. New York, Raven Press; 189.
- Ying, S Y. 1988. *Endocrine Rev.* 9:267.





6. MARCO GENERAL DEL PROYECTO

El presente proyecto, pese a que se presenta para ser ejecutado en la VII región, se inserta en el marco de la zona centro sur de nuestro país, zona en la cual la ganadería bovina ha tenido una presencia tradicional asociada a la producción de forrajes y a la existencia de secanos con praderas naturales, que han sustentado la actividad lechera y de engorda. Sin embargo, dada la apertura económica y la política de intercambio comercial definida por el gobierno, se ha evidenciado una falta de competitividad de la producción de leche y carne bovina con respecto a los demás países participantes en este mercado, lo que ha tenido un impacto negativo a nivel nacional, que ha sido particularmente duro para los productores que no cuentan con una gran gama de alternativas productivas rentables o ya han perdido su capacidad de inversión debido a varios años de resultados económicos negativos. Esta falta de competitividad se asocia a factores concretos que implican una desventaja neta frente a los países competidores, tales como son la baja disponibilidad de tierras para praderas naturales, clima con una distribución pobre de las precipitaciones, temperaturas frías durante el invierno, etc.; además se suman las desventajas administrativas tales como la existencia de subsidios a la producción lechera en países que participan en el mercado internacional. El resultado ha sido un sector lechero con serias dificultades para mantenerse en el negocio y que está prácticamente funcionando al costo, y un sector de producción de carne con escasa competitividad y que se asocia a la producción extensiva debida a sus bajos costos.

El cuadro descrito, sin embargo, presenta una oportunidad y un desafío para revertir esta situación, para lo cual la ciencia y la tecnología, y en especial la biotecnología de producción de embriones in vitro, proveen de herramientas que permiten aumentar la eficiencia del sector ganadero bovino hasta un nivel que permitiría enfrentar sin problemas la competencia externa al reducir los costos de producción, aumentar la productividad por unidad de tiempo, y aumentar la calidad de los productos obtenidos, permitiendo a su vez la penetración en nuevos mercados como el de la carne bovina de alta calidad, no abordados hasta el momento por falta de capacidad productiva. En este sentido, existe una capacidad de proceso industrial para la producción de carnes que no está plenamente utilizada, y que tiene toda la estructura y canales de comercialización para iniciar procesos exportadores, pero que sin embargo no ha logrado hasta el momento cumplir con los estándares de calidad exigidos por los mercados internacionales en los volúmenes de productos que se demandan.

Con el nivel tecnológico que se emplea actualmente en nuestro país, las lecherías bovinas que manejan intensivamente la reproducción de sus planteles están obligadas a utilizar semen





de toros lecheros para fertilizar las hembras hasta asegurar la hembra de reemplazo, factor que no está bajo control y se tiene un 50% de probabilidades de obtener un ternero en cada parto, y solo entonces pueden utilizar semen de razas de carne para obtener terneros con utilidad para la producción de carne. Se generan de esta manera una gran cantidad de terneros de razas lecheras que no sirven para la producción de carne de calidad, presentan bajas tasas de crecimiento y muy pobre conformación de las canales, y que se convierten en un problema porque no se pueden eliminar. A esto se añade la limitación natural de la raza bovina que presenta generalmente partos simples, con lo cual la obtención de terneros es muy lenta.

Al poner en práctica los resultados que se esperan de la presente propuesta, la situación será radicalmente distinta, ya que el productor lechero podrá obtener desde el primer parto una hembra de reposición de la mejor calidad genética disponible, con lo cual el nivel productivo lechero del plantel se elevará fuertemente en un corto plazo, y en los partos sucesivos podrá utilizar embriones de muy bajo costo y de razas de carne para obtener partos dobles, con lo cual el abastecimiento de terneros de alta calidad para la engorda estará asegurado.

Las posibilidades que ofrece la tecnología son muy amplias si se considera el amplio repertorio de razas y calidad genética que existe hoy a nivel mundial, y que puede ser rápida y económicamente incorporado a nuestro patrimonio productivo, con lo cual la competitividad sectorial podrá beneficiarse rápidamente y a un costo muy bajo en comparación al benéfico estratégico que se obtendrá.





7. UBICACIÓN GEOGRÁFICA DEL PROYECTO

El proyecto tendrá su base en las dependencias de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad de Concepción (Sede Chillán), particularmente en el Laboratorio de Reproducción Animal y sus oficinas, así como las dependencias asignadas al coordinador del proyecto, y las correspondientes instalaciones de la empresa Faenadora de Carnes Ñuble S.A. Adicionalmente, las etapas experimentales y piloto se harán en conjunto con productores del Programa de Desarrollo de Proveedores que mantiene la empresa Carnes Ñuble S.A., todos ubicados dentro de la VIII región.





8. OBJETIVOS DEL PROYECTO

8.1. GENERAL:

El presente proyecto se ha planteado con el fin de satisfacer el siguiente objetivo general:

Establecer una tecnología de producción *in vitro* de embriones de bovinos a partir de ovarios de matadero que sea sanitariamente segura, y que a su vez permita establecer un modelo productivo que conduzca a un aumento de rentabilidad de la ganadería bovina de leche.

8.2. ESPECÍFICOS:

Para conseguir el objetivo que se ha planteado para el proyecto, se debe enfrentar el problema dividiéndolo en una secuencia de objetivos específicos que al ser logrados en conjunto permiten cumplir el objetivo general. Para el presente caso, cada objetivo específico da a su vez origen a una serie de actividades que se han organizado en líneas de trabajo que serán descritas en la sección 9. Los objetivos específicos que se ha considerado deben cumplirse para que la presente propuesta cumpla su objetivo general, son los siguientes:

1. Estandarizar un procedimiento de producción de embriones compatible con la producción de mellizos a partir de ovarios de matadero obtenidos de hembras de razas aptas para la producción de carne.
2. Estandarizar un procedimiento de obtención de embriones sexados de bajo costo, a partir de donantes vivas de alta calidad genética.
3. Estandarizar un procedimiento de prevención y control precoz de contaminación bacteriana y viral de cultivos de tejidos, aplicable a la producción de embriones *in vitro*.





4. Establecer y evaluar técnica y económicamente a nivel piloto un modelo de crianza rentable de terneros de carne en planteles lecheros, basado en la aplicación de las tecnologías estandarizadas, como una alternativa para la producción de terneros de carne en planteles de lechería.

5. Estructurar un mecanismo de transferencia de los resultados obtenidos hacia el sector productivo beneficiario, para posibilitar la generación del impacto esperado.





9. METODOLOGÍA Y PROCEDIMIENTOS

Métodos generales:

El proyecto contempla la realización de prácticas y métodos generales que se aplicarán a todas las actividades del proyecto y que constituyen la base para alcanzar los objetivos conformes a los antecedentes disponibles al momento de elaborar la presente propuesta.

Selección y Manejo de los Animales a emplear:

Como donantes de embriones se utilizarán hembras sexualmente maduras, prolíficas desde una perspectiva de producción de embriones, libre de enfermedades claudicógenas y de Leucosis, Brucelosis, Tuberculosis, Diarrea Viral, IBR y de enfermedades venéreas. Las hembras donantes formarán parte del 1% superior en función de su valor genético, de acuerdo a los registros productivos de cada plantel de vacas Holstein Friesian. Las hembras receptoras deberán estar ginecológicamente aptas, con un intervalo desde el parto de al menos 60 días y ser compatible en tamaño con la raza del embrión transferido. Las hembras deberán haber mostrado al menos un ciclo estral regular antes de ser consideradas como posibles receptoras. Las hembras serán identificadas con autocrotales numerados y tendrán registros grupales de su historia en el programa reproductivo.

Programa sanitario y de alimentación:

Las hembras donantes estarán incorporadas a un programa de medicina preventiva que incluye desparasitaciones estratégicas para parásitos hepáticos, gastrointestinales, pulmonares y ectoparásitos, además de vacunaciones contra enfermedades corrientes. La alimentación del rebaño donante será basada en heno de alfalfa y de avena-vicia junto a concentrado para vaca lechera y sales minerales, ajustado de acuerdo a los requerimientos para animales no lactantes (según tablas NRC). El rebaño receptor estará también bajo un programa de alimentación controlada en sus predios de origen.





Programa de detección de estros:

La detección de calor se llevará a cabo por observación directa de los signos de estros cada 12 h (AM y PM), por períodos de 60 min en cada rebaño y con apoyo de listas de estros potenciales preparadas semanalmente (Cox, 1996; King, 1996). Se considerará en estro a la hembra que permanece inmóvil mientras es montada por otra hembra. Se considerará como inicio del estro a la primera vez que el animal demuestra aceptación de la monta. Se registrará el número y la hora en que se detecta el estro.

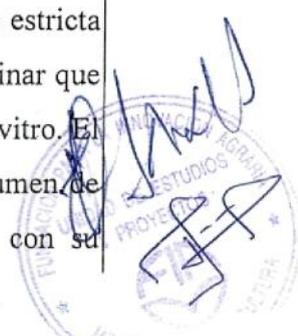
Procedimiento de ecografía y aspiración de oocitos por punción transvaginal de folículos:

La evaluación ecográfica de los ovarios se llevará a cabo usando un equipo Aloka SSD-500 de modo B a tiempo real equipado con un transductor lineal rígido de 7.5 MHz. Los esquemas de trabajo y los criterios de evaluación de la dinámica folicular serán similares a los descritos por Ginther (1995).

Para aspirar oocitos transvaginalmente, se utilizarán transductores transvaginales sectoriales de 5 Mhz para guiar las agujas usadas para puncionar los folículos ováricos > de 4 mm. Los folículos serán expuestos a la punción transvaginal, mediante la fijación manual del ovario. El contenido folicular será aspirado generando una presión negativa controlada y los oocitos, rodeados por las células del cúmulus, serán colectados en tubos estériles de 14 ml (Cox et al., 2000).

Procedimiento base de producción in vitro de embriones:

Todas las actividades de laboratorio se realizarán bajo condiciones de estricta esterilidad ambiental, para lo cual es indispensable el trabajo en cámaras de flujo laminar que permiten disponer de un ambiente de trabajo libre de polvo al operador del material in vitro. El laboratorio de reproducción cuenta con este tipo de equipamiento, pero dado el volumen de trabajo que generará el proyecto, se requiere adicionar nuevas cámaras de flujo con su





respectivo instrumental, que permitan realizar la producción de embriones sin limitaciones de capacidad.

Las hembras serán estimuladas con un régimen de FSH administrada en dosis decreciente, dos veces al día por 3 días y 12 h después de la última inyección, los oocitos serán aspirados por punción transvaginal de folículos mayores de 4 mm. Los ovarios provenientes de mataderos serán lavados y desinfectados y los folículos > de 2 mm de diámetro serán aspirados con agujas de 21G fijas a jeringas de 10 ml.

Los oocitos asociados a más de 1 capa de células de la granulosa (COC) serán seleccionados en función de la compactación del cúmulus y de la morfología y luego serán incubados en medio 199 suplementado con FSH, LH, estradiol, insulina y 10% de suero fetal bovino y células granulósicas extras (Hasler, 1995), a 39°C y 5% de CO₂ en aire humedecido por un periodo de 24 h.

La capacitación espermática y la fecundación in vitro serán llevadas a cabo en bovinos de acuerdo al protocolo de Dublin (Gordon, 1994). Semen congelado comercial será separado de los diluyentes por medio de una gradiente discontinua de Percoll y el pellet espermático será lavado 2 veces en medio Talp sin calcio (Talp sp; Parrish et al., 1988). Luego del lavado la concentración espermática será ajustada de acuerdo a la tasa de fecundación óptima para el macho a utilizar resuspendiendo los espermatozoides en medio Talp de fecundación (Talp FIV con 10ug/ml de heparina y epinefrina, hipotaurina y penicilamina como mezcla estimulante; Gordon, 1996). La fecundación será llevada a cabo co-incubando los gametos a 39 °C y 5% de CO₂, 5% de O₂ y 90% de N₂ en una atmósfera de 90% de HR. ecundaciónnte 48 h ecunda, los ova segmentados serán transferidos a medio SOF (Synthetic Oviductal Fluid; Tervit et al., 1973) suplementado con un 10% de suero fetal (Hasler, 1995), manteniendo la fase gaseosa. Todos los químicos utilizados serán evaluados en cultivos de tejidos, mientras que los medios serán preparados con agua ultrapura y libre de pirógenos, en forma quincenal.





La maduración oocitaria y la fecundación serán evaluada fijando los oocitos desnudos de células del cúmulus con aceto-alcohol por al menos 24 h (Gordon, 1994) y tiñiendo con aceto-lacmoid para observar directamente en el microscopio de contraste de fase las placas metafásicas y/o la presencia de pronúcleos y cola espermática respectivamente. El desarrollo embrionario será evaluado de acuerdo a parámetros morfológicos (Grados 1-4; Lindner y Wright, 1983) relacionándolos con la edad cronológica. Los blastocistos serán evaluados además funcionalmente de acuerdo a la capacidad de eclosionar in vitro luego de 10 días en cultivo (Gordon, 1994). Evaluaciones finales serán llevadas a cabo en base a gestaciones y partos.

Las tasas de fecundación se evaluarán en función del desarrollo pronuclear y la presencia de cola espermática, luego de 16 h de incubación, en al menos 4 repeticiones con al menos 10 oocitos en cada replicado, siguiendo el procedimiento descrito en detalle por Gordon (1994). El desarrollo embrionario será evaluado en función de las tasas de desarrollo a blastocistos luego de 8 días en cultivo, a partir de la maduración de oocitos y utilizando los mismos números que para la fecundación (Shi et al., 1991).

Procedimientos de congelación, descongelación y transferencia de embriones:

La congelación de blastocistos será efectuada en pajuelas de 0,25 ml de acuerdo al protocolo descrito en detalle por Gordon (1994). Se utilizara etilenglicol como crioprotector (1,8 M), depositando la pajuela directamente a -6°C , temperatura a la que se efectuará el seeding. Posteriormente, las pajuelas serán enfriadas a una tasa de $0,5^{\circ}\text{C} / \text{min}$ hasta los -35°C , para luego depositar las pajuelas directamente en nitrógeno líquido.

Para la descongelación, la pajuela será sacada del canastillo y será sostenida en el aire por 6 seg. y luego será depositada en un baño maría a 35°C por 30 seg. Los embriones resuspendidos en el medio de congelación de la pajuela serán transferidos directamente al útero de la receptora (Gordon, 1994).





La transferencia de embriones será efectuada por métodos no quirúrgicos utilizando el procedimiento descrito por Alberio (1992), considerando los principios expuestos por Broadbent et al (1991). Se utilizará el pasaje transcervical de pipetas de transferencia en receptoras sedadas y contenidas en un brete apropiado. Los embriones serán depositados en la mitad del cuerno uterino ipsilateral al cuerpo lúteo del ciclo.

Procedimiento de sexaje de embriones:

El sexaje de embriones se hará a partir de una biopsia de blastocisto usando el procedimiento de micromanipulación de embriones descrito en detalle por Bondioli et al. (1989) y por el manejo de las biopsias de acuerdo a Thibier y Nibart (1995). El sexaje se hará por hibridación de DNA específico para el cromosoma Y amplificado desde la biopsia por tecnología PCR (Polimerase Chain Reaction).

Diagnóstico de gestación:

Se llevará a cabo por ecografía entre los 30 y 35 días después de iniciado el estro de las hembras transferidas. Se usará un ecógrafo Aloka 500D asociado a un transductor de tipo lineal y tiempo real de 7,5 MHz. La gestación será confirmada por tacto transrectal 60 días después.

Líneas de trabajo del Proyecto:

Mencionadas ya las prácticas que se utilizarán como base para la ejecución del proyecto a través de sus actividades, a continuación se han descrito las líneas de trabajo que se originan para satisfacer los objetivos específicos.





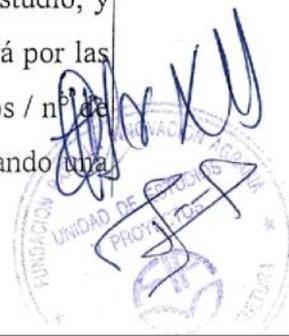
Línea de trabajo N° 1: Estandarización de un procedimiento de producción in vitro de embriones desde ovarios de mataderos, compatible con la inducción de mellizos en ganado lechero.

Establecidos los procedimientos básicos de producción de embriones in vitro en bovinos, se perfeccionarán aspectos relacionados con la producción de embriones utilizables en forma masiva en la práctica pecuaria. Además de embriones económicos, se necesita que los procedimientos de transferencia de los embriones sean simples y aseguren una tasa de desarrollo subsiguiente que sea adecuada y mantengan el estatus sanitario de la población receptora. En ese sentido, es importante que los embriones sean producidos con una eficiencia consistente y predecible, que sean de calidad congelable y que sobrevivan bien luego de una transferencia directa en condiciones de terreno convencionales. De acuerdo a la experiencia adquirida, entre los factores que se deben controlar para la obtención de tasas óptimas de producción de embriones están:

- a) La definición de la concentración espermática y de heparina óptima para los toros a evaluar.
- b) La selección de toros por la eficiencia en las tasas de desarrollo embrionario.
- c) La optimización del potencial de desarrollo de los oocitos fecundados.

Actividad 1.1. Ajuste de condiciones óptimas de fecundación in vitro para los toros seleccionados por su potencial de producción de mellizos.

Para esta actividad se usará semen de toros de razas Aberdeen Angus y Murray Grey, ambas conocidas razas dedicadas a la producción de carne, seleccionados por peso al nacimiento y tasas de crecimiento de su descendencia, con al menos un 80% de confiabilidad. Se ajustará la concentración de heparina óptima para cada toro a través de curvas dosis respuesta, utilizando al menos 10 oocitos por cada concentración de heparina bajo estudio, y en al menos 4 repeticiones. La evaluación de la eficiencia de fecundación se efectuará por las tasas de penetración espermática en oocitos madurados in vitro (n° oocitos fecundados / n° de oocitos incubados x 100) luego de 18 hrs en co-incubación con espermatozoides, usando una





concentración espermática fija. La concentración de heparina óptima para la capacitación in vitro de los espermatozoides de cada toro será registrada y utilizada a continuación.

En una segunda etapa, se ajustará la concentración espermática para cada toro en términos de tasas de fecundación derivada de una curva dosis respuesta. La concentración a usar será la que permita alcanzar más de un 90% del potencial de fecundación de cada toro, con menos de un 15% de poliespermia en promedio.

Actividad 1.2. Comparación de los toros seleccionados por potencial de inducción de desarrollo embrionario in vitro.

Los toros se compararán usando la eficiencia de fecundación y desarrollo embrionario para definir los que se utilizarán en el programa de producción de embriones. La comparación se efectuará en términos de tasas de fecundación y de desarrollo a blastocistos (n° de blastocistos / n° de ova segmentados x 100) luego de 8 días de cultivo desde el inicio de la maduración oocitaria.

Sólo se utilizarán toros que tengan una tasa de fecundación superior al 85% y una tasa de desarrollo in vitro de al menos 35% en promedio, luego de 4 repeticiones y al menos 30 oocitos incubados para fecundación por repetición.

Actividad 1.3. Optimización del uso de semen congelado comercial envasado en pajuelas.

El semen seleccionado por potencial de desarrollo, se fraccionará en 2 o 4 segmentos y se comparará por eficiencia de fecundación usando las concentraciones espermáticas definidas como óptimas. La fracción no utilizada de la pajuela se mantendrá en nitrógeno líquido, usando un termo exclusivo para semen congelado comercial.

Actividad 1.4. Evaluación del costo de producción de embriones a partir de oocitos obtenidos de ovarios de mataderos.





Se producirá embriones in vitro utilizando los machos seleccionados y a lo menos 3 partidas de medios de cultivo y 4 repeticiones por cada partida de medios de cultivo. El valor promedio de los embriones producidos se calcularán en base a los insumos utilizados.

Actividad 1.5. Evaluación funcional de los embriones producidos in vitro a partir de ovarios de matadero.

La evaluación funcional será efectuada de acuerdo a lo expuesto en los métodos generales, usando criterios de eclosión luego de 10 días en cultivo (obtención de tasas mayores de un 85% de blastocistos). Una vez obtenidos consistentemente los estándares funcionales mínimos in vitro, se evaluará la capacidad de desarrollo in vivo de los embriones producidos, evaluando la tasa de preñez luego de la transferencia de embriones frescos (estándar mínimo será un 50% con un 30% de desarrollo de mellizos).

Para lo anterior, se utilizará la transferencia de 60 set de embriones frescos 7 días después de detectado el estro en receptoras adecuadas sincronizadas con un régimen de GnRH y PGF2a (Cox et al., 2001). Como control de la fertilidad del rebaño, se llevará a cabo un número similar de inseminaciones con semen comercial de calidad probada. El diagnóstico de gestación y de sobrevivencia de embriones se realizará alrededor de 45 días después de transferido los embriones.

Actividad 1.6. Evaluación del uso de la transferencia de embriones dobles para la producción de mellizos de carne en rebaños lecheros.

Los sistemas de producción de leche característicamente han operado con márgenes fluctuantes de rentabilidad. Una posibilidad de mejorar la eficiencia en la generación de negocios es eliminar la producción de terneros que carecen de un valor comercial atractivo y reemplazarlo por la reproducción del rebaño en base de embriones sexados de hembras para asegurar el reemplazo y de un set de mellizos de razas con aptitud cárnica para generar un ingreso adicional a la leche. Este enfoque tiene el atractivo adicional de constituirse en un suministro de terneros destetados para los sistemas de feed lots y facilita el establecimiento de una masa exportable.



La base del desarrollo de esta alternativa productiva es la supervivencia de embriones económicos pos transferencia. Por ello es que el objetivo de esta serie experimental es precisamente la evaluación de las tasas de supervivencia de los embriones producidos desde ovarios de mataderos.

Se trabajará con 4 lecherías Holstein Friesian adscritas al sistema de Desarrollo de Proveedores de Faenadora de Carnes Ñuble S.A., en las que se transferirán embriones sexados para asegurar el reemplazo de la eliminación anual de vacas que han llegado al final de su vida útil, y hasta 150 set de 2 embriones descongelados. Los embriones serán producidos de acuerdo a los procedimientos establecidos según las actividades anteriores, que incluye controles de calidad microbiológico, usando oocitos colectados de ovarios de vaquillas de carne para minimizar riesgos de vehiculización de enfermedades. Se descongelarán en baño maría a 35°C por 30 seg y serán rápidamente transferidos no quirúrgicamente, usando la técnica transcervical convencional.

Las receptoras serán sincronizadas con esquemas de GnRH y PGF2 α o GnRH, Progesterona y PGF2 α y se distribuirán en animales que recibirán embriones o que serán inseminados con semen comercial evaluado técnicamente, que actuarán como controles de la fertilidad del rebaño. Los resultados se evaluarán en términos de tasas de supervivencia y características del nacimiento y de la producción y reproducción subsiguiente de las vacas transferidas, y de los títulos serológicos de las receptoras antes y 6 meses después de las transferencias.

Se considerará como estándar mínimo de operación un 55% de preñez a los 45 días de gestación y un 30% de mellizos viables. Se aceptará una tasa de partos normal, considerándose como tal, al equivalente existente para el rebaño con partos de terneros Holstein Friesian y la fertilidad y producción del rebaño transferido no deberá ser diferente a los controles inseminados.

Línea de trabajo N° 2. Estandarización de procedimientos de producción segura de embriones sexados de donantes de alto mérito genético.





Se trabajará semanalmente con un grupo de 10 donantes de oocitos por un lapso de 6 meses, para la obtención de los estándares mínimos para una operación comercial que posibilite el uso de la transferencia de embriones de carne en escala práctica. En los 2 últimos meses, los estándares mínimos de producción de embriones a partir de donantes deberán consistentemente ser los siguientes:

Producción de embriones de calidad congelables:

- a) Promedio por sesión de OPU/individuo/semana: 5

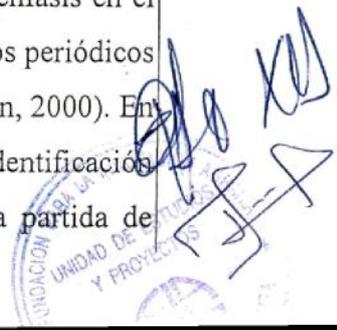
Tasa de Preñez pos descongelación:

- a) Promedio pos transferencia de embrión simple: 50%

En la segunda parte de la actividad, se capacitará a 2 profesionales en transferencia de embriones para amplificar el impacto productivo del proyecto. Los profesionales deberán haber tenido experiencia en programas de inseminación artificial basados en sincronización de estros en ganado de leche y/o carne. Los resultados obtenidos de transferencias controladas deberán ser equivalentes a los descritos mas arriba.

Línea de trabajo N° 3. Estandarización de procedimientos de control de calidad microbiológica de los cultivos celulares.

La estandarización de procedimientos de control de calidad microbiológica se basará en las recomendaciones de la Sociedad Internacional de Transferencia de Embriones (Manual 1998) que la Oficina Internacional de Epizootias (OIE) hizo propias. En este sentido, para la colección de oocitos mediante aspiración folicular de donantes vivas, el énfasis en el control de contaminación se pondrá en los animales, mediante controles serológicos periódicos y aislamiento cuarentenario del rebaño limpio (Nibart et al., 1998; Thibier y Guérin, 2000). En oocitos obtenidos de ovarios de mataderos, se implementarán sistemas de identificación virales (IBR, Diarrea Viral, Leucosis) en los pools de líquido folicular de la partida de





oocitos obtenidos, usando la técnica de inmunofluorescencia indirecta, con anticuerpo monoclonales para las partículas víricas, y anti-mouse-FITC para la exposición del binding (IBR, Guérin et al., 1989; DV, Bezek et al., 1988) mientras que para las enfermedades bacterianas se usará la evaluación sanitaria de canales y de la superficie ovárica (Brucelosis y Tuberculosis) combinado con el uso de lavados enzimáticos preventivos y de antibióticos). En caso de que haya resultados de aislamiento de enfermedades virales o bacterianas, el criterio a utilizar será la eliminación de toda la partida de oocitos obtenidos.

Línea de Trabajo N° 4: Evaluación técnica y económica a nivel piloto de un modelo de crianza rentable de terneros de carne en planteles lecheros, basado en la aplicación de las tecnologías estandarizadas, como una alternativa para la producción de terneros de carne en planteles de lechería.

Establecimiento del modelo productivo basado en el desarrollo tecnológico:

Los resultados obtenidos en las líneas de trabajo anteriores permitirán establecer un modelo operativo y adaptable a diversas situaciones base posibles de encontrar en el ámbito productivo real nacional, y que permita obtener beneficios concretos de la aplicación de las tecnologías desarrolladas. El modelo de crianza que se diseñará considerará los siguientes aspectos imprescindibles:

- Diagnóstico sanitario y programación del manejo para llevar el plantel a un estado sanitario óptimo y compatible con el empleo de la tecnología de transferencia de embriones.
- Diagnóstico nutricional y diseño de estrategia de alimentación compatible con el empleo de transferencia de embriones.
- Planificación del manejo reproductivo a través del año.





- Determinación del objetivo de la transferencia de embriones durante el año (producción de hembras de reemplazo versus producción de mellizos para carne; incremento de calidad genética del plantel por incorporación de genética externas versus multiplicación de individuos sobresalientes del mismo plantel).

- Origen de los embriones a transferir (animales elite versus animales masa, obtención en el predio versus extracción en recinto especializado, óvulos de matadero versus óvulos obtenidos de animales vivos)

Evaluación técnica y económica del modelo a escala piloto productiva:

Determinado el modelo productivo, el cual deberá ser lo suficientemente versátil para adaptarse a diferentes situaciones posibles de encontrar en la realidad, se procederá a evaluarlo a escala piloto. Para ello se cuenta con diversos planteles lecheros que integran el programa de desarrollo de proveedores de Faenadora de Carnes Ñuble S.A., y que abastecen actualmente con terneros obtenidos por medio de inseminación artificial a los feed lots que proveen gran parte de los animales que Carnes Ñuble S.A. procesa.

Se seleccionarán 3 planteles lecheros de nivel productivo promedio que cuente con registros de producción actualizados y sean representativos de las condiciones de producción regionales. Los profesionales de la empresa que efectúan normalmente el control reproductivo serán entrenados para efectuar la transferencia de los embriones con el protocolo desarrollado en las etapas previas. Dentro de estos planteles, se seleccionará un máximo de 60 vacas en cada rebaño y serán sometidos a un chequeo de su estatus sanitario (mediante pruebas serológicas para las enfermedades de mayor relevancia) reemplazándose aquellas que presenten algún inconveniente. Un total de 20 de estos animales recibirán embriones sexados y las restantes recibirán un set de mellizos cada uno. Las vacas inseminadas en el periodo actuarán como controles de la fertilidad del rebaño.

El diagnóstico de gestación se realizará a los 45 días por ecografía y se controlará la presencia de mellizos. La atención del parto considerará la existencia de un





servicio de emergencia veterinaria. Los terneros se criarán de manera convencional, considerando una fase láctea de 60 días a base de sustitutos, y el crecimiento subsiguiente en un pool con atención especializada por otros 60 días.

Se registrarán las siguientes variables reproductivas y de importancia económica para generar información que permita caracterizar la utilidad y conveniencia de emplear la tecnología desarrollada a nivel productivo comercial:

- Costo del embrión transferido (incluye costo de producir el embrión y transferirlo en terreno).
- Tasa de fertilidad de las hembras receptoras de embriones (Hembras transferidas o fertilizadas / Hembras paridas) e inseminadas.
- Tasa global de supervivencia de embriones transferidos (embriones transferidos / terneros nacidos).
- Eficiencia de obtención de partos dobles (Hembras a las cuales se transfieren múltiples embriones / Hembras que presentan parto doble).
- Eficiencia de sexaje de embriones (embriones hembra / embriones sexados transferidos).
- Mortalidad previa al destete (terneros destetados / terneros nacidos).
- Tasas de crecimiento terneros 0-60 días, eficiencia de conversión y prevalencia de enfermedades.
- Valor comercial del ternero destetado a los 60 días.

La información recopilada permitirá hacer una evaluación técnica y económica de la utilidad práctica de la adopción de la tecnología a escala comercial. Esta evaluación





considerará los requerimientos mínimos de un plantel para optar al uso de la nueva tecnología y entregará un índice del beneficio económico incremental que se obtendrá por el empleo de la tecnología. Asimismo, durante todo el periodo se documentarán gráficamente y por escrito las prácticas y métodos empleados para formar la base de un documento de extensión que se empleará en la transferencia de la tecnología al sector productivo.

Línea de Trabajo N° 5: Estructurar un mecanismo de transferencia de los resultados obtenidos hacia el sector productivo beneficiario, para posibilitar la generación del impacto esperado del proyecto.

El proyecto, dado su impacto sectorial, requiere para que se obtenga dicho impacto de una rápida y amplia masificación y adopción de la tecnología en desarrollo. Para ello es que se ha considerado dentro de la estructura funcional de la propuesta la participación de una empresa con una estrecha relación con el sector productivo bovino, como es Faenadora de Carnes Ñuble S.A., que permite acceder en forma directa a todos los productores de su Programa de Desarrollo de Proveedores, en su mayoría ubicados entre las regiones VII y X, los cuales además ya se encuentran en un nivel tecnológico de manejo reproductivo de sus planteles que permite una fácil adopción de tecnologías similares de reproducción intervenida. La misma estructura del programa de desarrollo de proveedores provee un mecanismo de transferencia, ya que Faenadora de Carnes Ñuble mantiene un constante monitoreo y asesoría técnica con profesionales idóneos a cada uno de sus productores asociados, lo cual facilita enormemente la tarea de hacer llegar las nuevas tecnologías a sus usuarios potenciales.

Junto con lo anterior, que constituye una primera instancia de transferencia al sector productivo, que se obtendrá en el corto plazo post proyecto, se debe expandir el área de influencia de los resultados del proyecto. Esta transferencia debe hacerse en dos modalidades, una hacia el sector productivo, que es el destinatario y usuario final de la tecnología, y otra hacia el sector profesional y académico, que será el encargado de integrar la tecnología a su acervo profesional y educacional. Para ejecutar la transferencia, se realizarán las siguientes actividades y o procedimientos según sea el caso:

Transferencia al sector productivo:





- Preparación de manual de operación para la producción de terneros de carne en rebaños lecheros. La información generada será condensada en un manual descriptivo de los procedimientos de producción junto con los requerimientos profesionales y de infraestructura, así como una estimación de costos reales de la adopción.

- Se realizarán días de campo anuales. Mediante actividades de difusión en terreno se pretende mostrar los avances del proyecto a los productores de leche y carne, junto con normas generales de manejo destinados a optimizar la gestión de producción de cada sistema. En estos seminarios se expondrá el tema en forma audiovisual (presentaciones multimedia) para graficar los beneficios y costos de la tecnología en predios asociados a Carnes Ñuble S.A. en los cuales ya se estará empleando el sistema desarrollado en el proyecto.

- Dada la gran presencia de producción ganadera bovina entre los pequeños agricultores de la Zona Centro Sur de Chile, y que en su conjunto representan un potencial productivo de gran interés, el equipo profesional que plantea el presente proyecto considera necesario efectuar un esfuerzo concertado con el INDAP, que permita el acceso a la tecnología a empresas asociativas de pequeños productores.

Transferencia al sector profesional y académico:

- Al final del proyecto, se efectuará un seminario internacional en biotecnología de la reproducción para mostrar los resultados obtenidos junto con otros avances que se hayan obtenido en el área en un plano internacional.

ORGANIZACIÓN DEL PROYECTO

Personal a Cargo y Sus Funciones





EL proyecto contará con la participación de los siguientes profesionales y técnicos:

José Francisco Cox Ureta. Coordinador General del Proyecto. Médico Veterinario M. Sc. (Doctorado en proceso). En su calidad de Investigador principal y Director del Laboratorio de Reproducción Animal se responsabilizará de capacitar el personal profesional y técnico, supervisar la puesta en marcha del proyecto, de verificar la ejecución de los procedimientos y sus controles de calidad, de la ejecución del programa de actividades y del análisis, evaluación y proyección de los resultados y de la emisión de informes al directorio y a FIA.

Eduardo Valdés Salinas. Coordinador Alterno del Proyecto. Como Gerente de Administración y Finanzas de Carnes Ñuble S.A. se encargará de efectuar la coordinación entre la Unidad Científica y Tecnológica de la Universidad de Concepción y las Unidades Experimentales y Piloto del PDP de Carnes Ñuble S.A. Se encargará de organizar a los profesionales de Carnes Ñuble que participarán en el proyecto, de recopilar la información para entregarla al Coordinador General, apoyará la toma de decisiones de la forma y tiempo para las actividades. Paralelamente será un soporte fundamental en el proceso de transferencia al sector productivo.

Fernando Saravia. Especialista en Sanidad animal. Participará como apoyo al manejo sanitario de los planteles experimentales y piloto para alcanzar el status deseado. Se responsabilizará del programa de alimentación y medicina preventiva y control clínico del rebaño donante, de la crianza de las donantes futuras y de receptoras intermedias, de la supervisión de la preparación del material requerido para la punción folicular, participará en el equipo de punción folicular, se responsabilizará de la preparación del rebaño receptor de embriones especiales y participará de los equipos de inseminación artificial y transferencia de embriones asociados al proyecto. Participará en las reuniones de planificación de actividades, análisis de resultados y redacción de publicaciones y en el programa de capacitación en inseminación artificial y transferencia de embriones.



René Ortega. Especialista en Virología. Asesor para el manejo de cultivos in vitro libres de virus.

Bárbara Butendieck. Se responsabilizará del sexaje molecular y de la capacitación y supervisión de la micromanipulación de los embriones para sexaje.

Oscar Torrealba: Asesor permanente de Faenadora de Carnes Nuble S.A. en manejo de inseminación artificial y manutención del nivel productivo. Participará en las actividades experimentales, piloto y transferencia.

Médico Veterinario: Se responsabilizará de la manipulación de embriones para el sexaje, de la transferencia y recuperación de embriones a receptores intermedios y supervisará la preparación del material requerido para ambas operaciones. Se responsabilizará de los programas de alimentación y medicina preventiva de los rebaños de ovejas receptoras intermedias y de la seguridad sanitaria de los rebaños donantes de ovejas para el programa de embriones. Participará de los equipos de inseminación artificial y transferencia de embriones asociados al proyecto. Participará en las reuniones de planificación de actividades, análisis de resultados y redacción de publicaciones y en el programa de capacitación en inseminación artificial y transferencia de embriones.

Técnico especializado: Se responsabilizará de la operación de producción de embriones in vitro, de la preparación de medios de cultivo, de la mantención de los cultivos celulares y de la toma de muestras para el diagnóstico de agentes infecciosos en las partidas de embriones y del lavado del material requerido para la operación de embriones in vitro. Se responsabilizará de la preparación del material requerido para el sexaje de embriones, de la preparación y lavado del material quirúrgico y del inventario de material fungible y de embriones. Participará eventualmente de la producción de embriones in vitro, de la preparación de medios de cultivo y del lavado de material para producción de embriones in vitro.





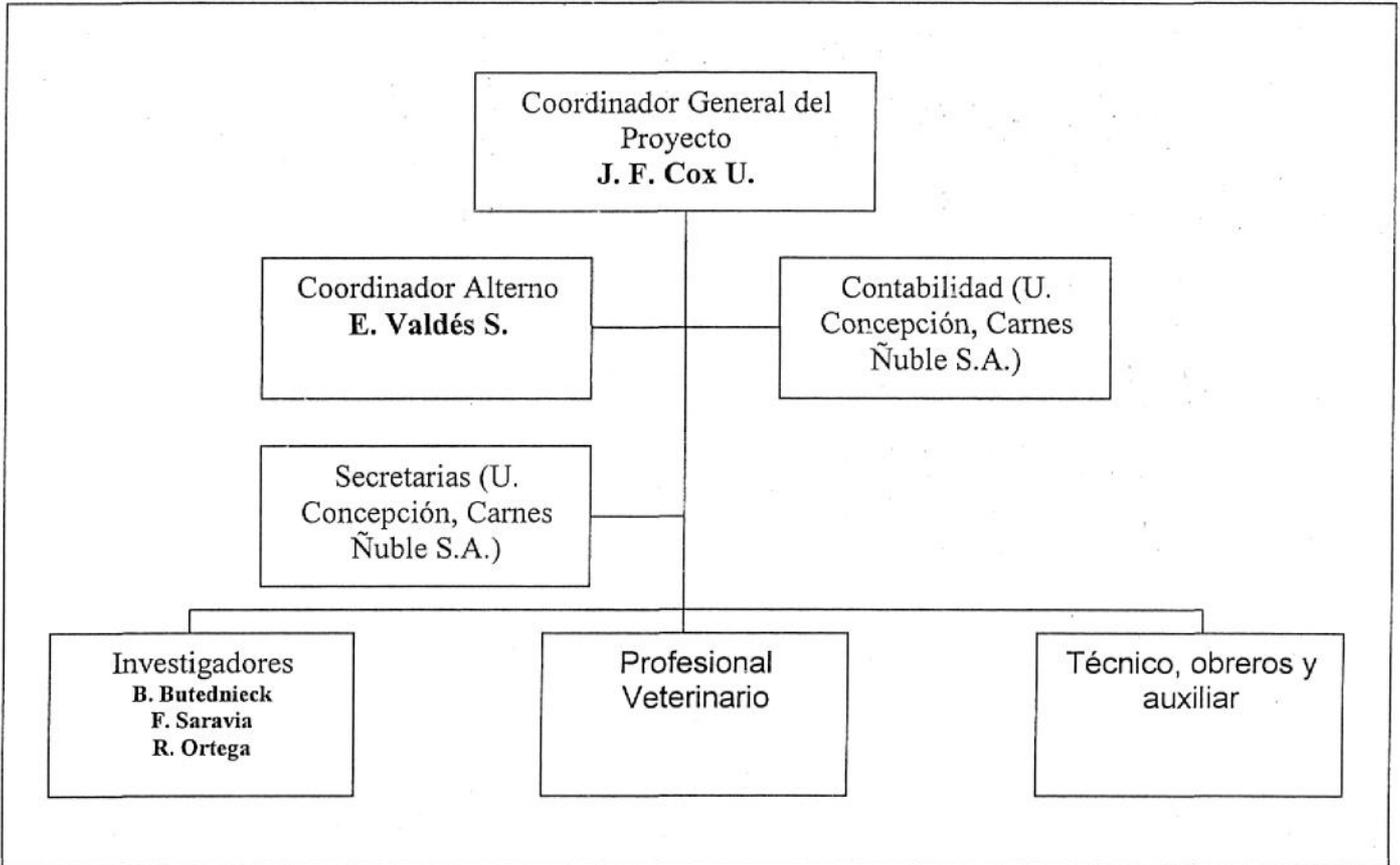
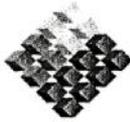
Obreros especializados 1 y 2. En conjunto, se responsabilizarán de la atención y movimiento de animales y de la atención pos quirúrgica de donantes y receptoras. Asistirán a los equipos de punción folicular y transferencia de embriones a receptoras intermedias.

Secretaria: Se responsabilizará de la correspondencia, la agenda de actividades del equipo profesional, de emitir las versiones finales de informes y publicaciones, de preparar las actas de reuniones de directorio y de preparar material audiovisual para actividades de difusión. Ejecutará las actividades de soporte del programa de capacitación.

Contabilidad U. Concepción y Carnes Ñuble S.A.: Organizará la información financiera y contable de los recursos aportados por cada entidad y del financiamiento del FIA para la correcta presentación de los informes semestrales de avance financieros.

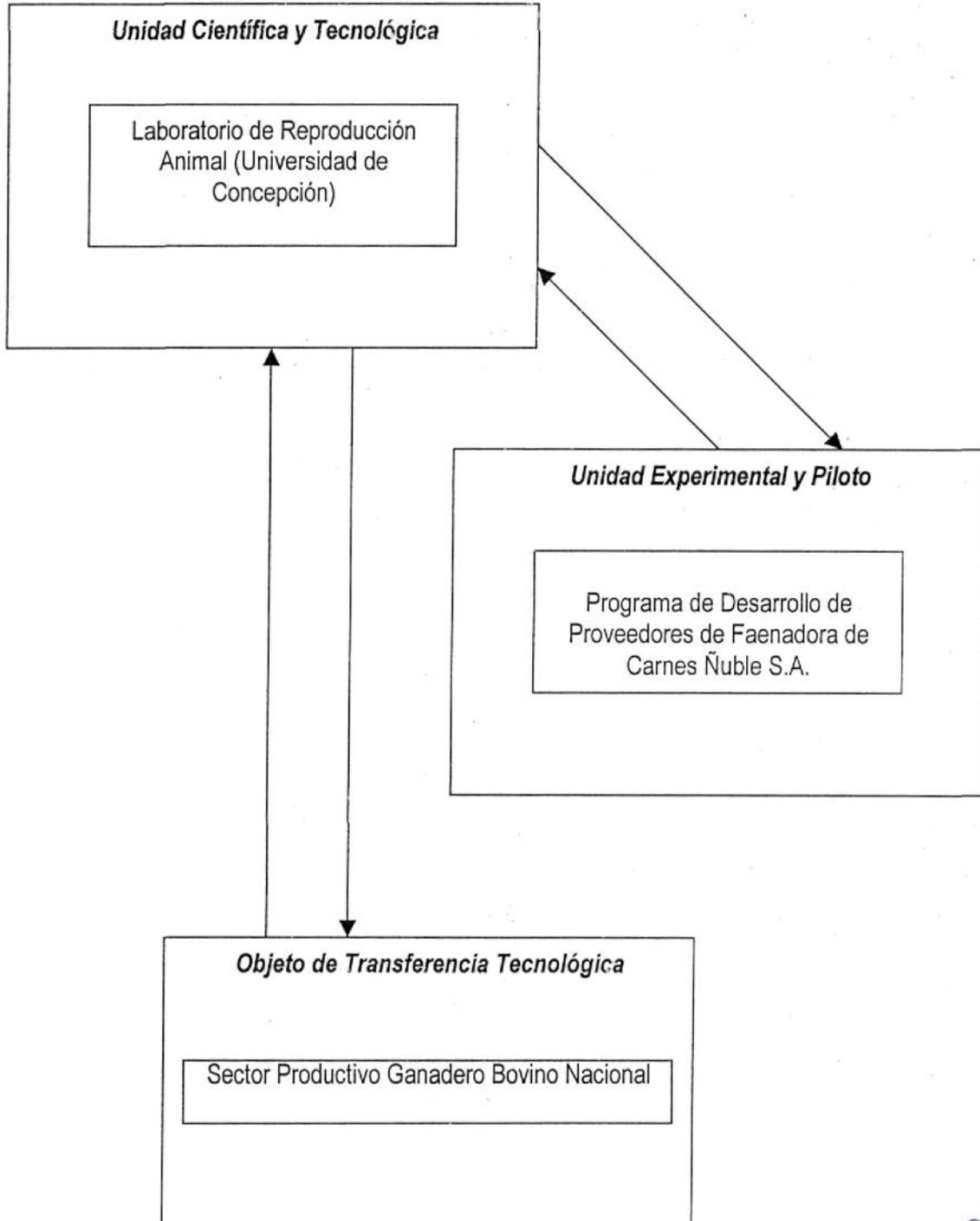
Auxiliar. Se responsabilizará del aseo del edificio y del lavado de ropas quirúrgicas y de la sanitización de las áreas limpias y de los equipos que han estado en contacto con actividades de terreno. Mantendrá el ordenamiento de la biblioteca.







Esquema de Relaciones Institucionales del Proyecto:





10. ACTIVIDADES DEL PROYECTO (adjuntar Carta Gantt mensual para la totalidad del proyecto)
AÑOS 2002-2005

Objetivo Especif. N°	Actividad N°	Descripción	Fecha Inicio	Fecha Término
Todos	1	Organización del equipo de administración y seguimiento del proyecto.	1-3-02	8-4-02
Todos	2	Adquisición de equipos insumos y materiales.	1-3-02	8-4-02
Todos	3	Organización y adecuación de laboratorios e instalaciones de terreno.	7-3-02	30-3-02
Todos	4	Instalación y puesta en marcha de equipos.	1-4-02	30-6-02
Todos	5	Capacitación de personal profesional y técnico en empleo de equipos y procedimientos específicos de laboratorio.	1-3-02	14-6-02
1		Estandarización de procedimientos de producción de embriones in vitro para mellizos. 01/3/2002- 28/02/2003.	1-3-02	28-02-03
	6	Ajuste de condiciones de fecundación para toros seleccionados por potencial de producción de mellizos.	1-3-02	30-4-02
	7	Comparación de toros seleccionados por potencial de producción de blastocistos.	2-5-02	28-6-02
	8	Optimización del uso del semen seleccionado.	1-7-02	26-7-02
	9	Evaluación funcional de los embriones producidos in vitro a partir de donantes y de ovarios de matadero.	1-8-02	30-01-03
	10	Evaluación del costo de producción de los embriones.	01-02-03	30-03-03
3		Estandarización de procedimientos de control de calidad microbiológica de embriones y cultivos. 01/ - 20/12/2002	1-4-02	20-12-02
	11	Implementación de sistemas de diagnóstico de enfermedades virales y bacterianas en líquido folicular, cultivos celulares y embriones. 01/4 - 20/11	1-4-02	20-12-02
	12	Implementación de un sistema de diagnóstico por Elisa de enfermedades virales y bacterianas en el suero de animales destinados a faenamiento. 01/4 - 20/11/2002	1-4-02	20-12-02
2		Estandarización de procedimiento de producción de embriones segura a partir de vacas y ovarios de matadero. 01/6 2002 - 21/7 2003.	1-6-02	21-7-03
	13	Selección de donantes por estatus microbiológico. 01/6 - 30/6/2002	1-6-02	30-6-02
	14	Establecimiento de medidas cuarentenarias de prevención de enfermedades. 01/6 - 30/6/2002	1-6-02	30-6-02
	15	Producción segura de embriones de leche para implementación del sexaje de embriones. 01/7 - 20/12/2002	1-7-02	20-12-02
	16	Producción segura de embriones de carne para ser usados en la estandarización de los procedimientos de transferencia de embriones de mellizos en ganado Holstein. 01/7 - 20/12/2002	1-7-02	20-12-02
	17	Optimización de procedimientos asociados a la transferencia de embriones producidos in vitro sexados y mellizos. 30/9/2002 - 30/01/2003	30-9-02	30-1-03
	18	Producción segura y congelación de embriones de carne desde ovarios de matadero para la producción de mellizos en ganado Holstein. 01/2 - 30/5 2003	1-2-03	30-5-03
	19	Control del manejo de la reproducción de los rebaños experimentales. 30/9/2002 - 05/5 2003	30-9-02	5-6-03
	20	Sincronización de estros para transferencia de embriones en rebaños experimentales. 01/2 - 30/5/2003	1-2-03	30-5-03
	21	Evaluación técnica y clínica de la transferencia de embriones sexados y de mellizos en rebaños experimentales. 01/4 -	1-4-03	5-7-03

[Handwritten signature and official stamp of the Fundación para la Innovación Agraria]



**10. ACTIVIDADES DEL PROYECTO (adjuntar Carta Gantt mensual para la totalidad del proyecto)
AÑOS 2002-2005**

Objetivo Especif. N°	Actividad N°	Descripción	Fecha Inicio	Fecha Término
		05/7/2003		
	22	Análisis de resultados y preparación de documento técnico. 06/7 – 21/7/2003.	6-7-03	21-7-03
4		Evaluación técnica y económica de un modelo de un modelo rentable de producción de terneros de carne basado en la tecnología de embriones estandarizada	3-6-03	15-1-05
	23	Establecimiento del modelo productivo a seguir. 03/06 – 17/06/2003	3-6-03	17-6-03
	24	Capacitación del personal técnico de los planteles. 03/06 – 28/06/2003	3-6-03	28-6-03
	25	Control de los programas de nutrición, reproducción y de crianza de terneros. 03/6 – 28/6/2003	3-6-03	28-6-03
	26	Sincronización y control de estros en rebaños pilotos. 08/7 – 09/12/2003	8-7-03	9-12-03
	27	Transferencia de embriones sexados y de mellizos de acuerdo al protocolo establecido. 15/7/2003 – 15/12/2003.	15-7-03	15-12-03
	28	Diagnóstico temprano de gestación y de tasas de mellizaje. 29/08/2003 – 10/3/2004.	29-8-03	10-3-04
	29	Monitoreo y registro de variables productivas y reproductivas del rebaño. 17/7/2003 – 30/12/2004	17-7-03	30-12-04
	30	Análisis y elaboración de informe técnico-económico. 2/1 – 15/1/2005.	2-1-05	15-1-05
5		Transferencia de resultados al sector productivo	20-12-02	1-1-05
	31	Día de Campo 1. 20/12/2002	20-12-02	20-12-02
	32	Día de Campo 2. 20/12/2003	20-12-03	20-12-03
	33	Día de Campo 3. 20/12/2004	20-12-04	20-12-04
	34	Establecimiento de mecanismos de transferencia de tecnología UdeC e Indap para la pequeña agricultura. 01/3 – 30/5/2004	1-3-04	30-5-04
	35	Seminario de difusión en biotecnología de aplicación pecuaria. 20/10 – 22/10 2004	20-10-04	22-10-04
	36	Preparación de manual de operación para la producción de terneros de carne en rebaños lecheros. 1/08/2004 – 31/01/2005	1-8-04	1-1-05
Todos	37	Preparación de Informe final	15-1-05	28-2-05

Se adjunta Carta Gantt a continuación:





11. RESULTADOS ESPERADOS E INDICADORES

11.1. Resultados esperados por objetivo

Obj. Esp. N°	Resultado	Indicador	Meta Final	Parcial	
				Meta	Plazo
1	Procedimiento de producción de embriones in vitro a partir de ovarios obtenidos en animales de carne sacrificados en matadero	Segmentación > 4 céls (de oocitos incubados):	> 65%	> 45%	28/5/2002
				> 65%	26/9/2002
	Desarrollo a blastocisto (de ova segmentados):	> 35%	> 25%	28/5/2002	
			> 35%	26/10/2002	
	Procedimiento de transferencia de embriones producidos in vitro en condiciones de campo	Procedimiento	1	1	28/06/2003
	Supervivencia de embriones producidos in vitro (preñez confirmada por ecografía) transferidos en condiciones de campo	Tasa de preñez	50%	30%	28/5/2002
				50%	30/01/2003
% de partos (= que en inseminación)		>=85% N= >= 51		15/04/2004	
%	partos dobles esperables	30% N= >=15	20%	28/6/2003	
			30%	30/01/2003	
Costo de set de mellizos producidos de ovarios colectados de matadero de vacas de carne	US\$ dólares/unidad	30	55	28/05/2002	
			30	30/03/2003	
2	Procedimiento de producción de embriones in vitro a partir de hembras de alta calidad genética para características productivas	Segmentación > 4 céls (de oocitos incubados):	> 70%	> 45%	28/05/2002
				> 70%	20/12/2002
	Desarrollo a blastocisto (de ova segmentados):	> 45%	> 30%	28/5/2002	
			> 45%	30/5/2003	
Proporción de supervivencia de embriones y preñez confirmada por palpación (= a Inseminación Artificial)	Tasa de preñez	50	30%	28/5/2002	
			50%	05/07/2003	
Costo de embriones sexados producidos de vacas de alta calidad genética	US\$ dólares/unidad	100	200	28/5/2002	
			100	21/07/2003	
3	Procedimiento de diagnóstico de enfermedades virales (IBR,DV) en cultivos celulares	Procedimiento	Disponible		20/12/2002
	Procedimiento de diagnóstico de enfermedades virales (IBR,DV) en embriones	Procedimiento	Disponible		20/12/2002
	Procedimiento de diagnóstico de enfermedades bacterianas (Brucelosis) en cultivos celulares	Procedimiento	Disponible		20/12/2002
	Procedimiento de diagnóstico de enfermedades bacterianas (Brucelosis) en embriones	Procedimiento	Disponible		20/12/2002

[Handwritten signature and stamp]



11. RESULTADOS ESPERADOS E INDICADORES

11.1. Resultados esperados por objetivo

			Meta	Parcial	
4	Modelo de Producción bovina basado en tecnología de producción de embriones in vitro para obtención de mellizos y/o animales de elite genética	Modelo	Disponible	1	17/06/2003
	Parámetros de operación a escala piloto comercial determinados	Varios (Ver metodología)	Disponibles	Todos	30/01/2005
5	Generación de información base para transferencia de modelo a sector productivo	Resultado de evaluación técnico económica	Disponible	Toda	28/2/2005
	Días de Campo	Número	3	1	20/12/2002
				2	20/12/2003
				3	20/12/2004
	Manual de producción de mellizos en vacas Holstein Friesian	Número	1	1	01/01/2005
Seminario de difusión	Número	1	1	22/10/2004	





11.2. Resultados esperados por actividad

Obj. Esp. N°	Activid. N°	Resultado	Indicador	Meta Final	Parcial	
					Meta	Plazo
Todos	1	Organización del equipo de administración y seguimiento del proyecto.	Equipo constituido		1/03/02	8/04/02
Todos	2	Adquisición de equipos, insumos y materiales	Adquisiciones efectuadas	Todas	Todas	30/3/02
Todos	3	Organización y adecuación de laboratorios e instalaciones en terreno	Laboratorio adecuado y organizado	1	1	30/03/02
Todos	4	Instalación de equipos	Equipos Instalados	Todos	Todos	30/06/02
Todos	5	Capacitación personal profesional y técnico en empleo de equipos y técnicas de laboratorios específicas	Personal capacitado	Todo	Todo	15/06/02
1	Estandarización de procedimiento para la obtención de embriones a partir de ovarios de matadero para producción de mellizos.					
	6	Ajuste de condiciones óptimas de fecundación in vitro para semen de toros seleccionados.	Concentración de heparina óptima Concentración Espermática óptima	> 65% de segmentación > 4 células a 72 h		30/04/2002
	7	Comparación de toros seleccionados respecto a su potencial de inducción de desarrollo de embriones in vitro.	Potencial de desarrollo de embriones in Vitro	> 35% de desarrollo a 8 d		28/06/2002
	8	Optimización del uso del semen congelado comercial envasado en pajuelas para la producción de embriones.	Fraccionamiento óptimo dosis	>=2		26/07/2002
	9	Evaluación del costo de producción de embriones a partir de ovarios obtenidos en matadero y semen comercial seleccionado	Costo determinado	<=US\$30		30/03/2003
	10	Evaluación funcional de los embriones producidos in vitro a partir de ovarios obtenidos en matadero	Tasa de preñez Tasa de eclosión in vitro:	>=50% >= 85%	>= 65% tasa de eclosión in vitro	30/01/2003 28/12/2002
2	Estandarización de procedimientos de producción segura de embriones sexados a partir de embriones de alta calidad genética					
	13	Selección de hembras por estatus reproductivo y sanitario para producción de embriones de leche y carne	Hembras donantes selectas	6 de leche y 4 de carne		30/06/2002
	14	Establecimiento de cuarentena del grupo de animales donantes	Hembras en cuarentena	10 hembras		30/6/2002
	15	Producción segura de embriones de leche para implementación del sexaje de embriones.	Embriones/vaca/ OPU/semana Tasa de preñez	5 >50%		20/12/02
	16	Producción segura de embriones de carne	Embriones/vaca/ OPU/semana Tasa de preñez	5 >50%		20/12/02



11.2. Resultados esperados por actividad

Obj. Esp. N°	Activid. N°	Resultado	Indicador	Meta Final	Parcial	
					Meta	Plazo
	17	Optimización de procedimientos asociados a la transferencia de embriones	Tasa Preñez igual a IA Partos Mellizos	$\geq 50\%$ $\geq 30\%$		30/01/2003
	18	Producción segura y congelación de embriones de carne desde ovarios de matadero	Potencial de desarrollo de embriones in Vitro Tasa de preñez Mellizos	35% de desarrollo o a 8 d $\Rightarrow 50\%$ $\Rightarrow 30\%$		30/05/2003
	19	Control del manejo de la reproducción de los rebaños experimentales.	Detección estros Preñez a IA	$\Rightarrow 70\%$ $\Rightarrow 50\%$		30/01/2003
	20	Sincronización de estros vacas receptoras y a inseminar.	Vacas sanas y en celo para experimento	240 hembras		30/05/2003
	21	Transferencia de embriones dobles e inseminación artificial	Embriones Transferidos	120 sets de 2 emb. y 120 IA		07/6/2003
	22	Análisis de la información	Informe técnico	1 Informe emitido		21/7/2003
3	Estandarización de procedimientos de control de calidad microbiológica de cultivos y embriones.					
	11	Estudio e implementación de sistemas de control de enfermedades virales a nivel de líquido folicular y cultivos en ovarios obtenidos en matadero	Sistema de control virológico	Líquido folicular y cultivos controlado		20/12/2002
	12	Estudio e implementación de sistema de control de enfermedades bacterianas a nivel de líquido folicular y cultivos en ovarios obtenidos en matadero	Sistema de control bacteriológico	Líquido folicular y cultivos controlado		20/12/2002 3
4	Evaluación técnica y económica a nivel piloto de un modelo de crianza rentable basado en la tecnología estandarizada					
	23	Selección de planteles lecheros base de evaluación técnico-económica	Planteles seleccionados	3		30/5/2003
	24	Establecimiento de modelo productivo basado en tecnología estandarizada y optimizada de transferencia de embriones en bovinos	Modelo productivo rentable	Modelo piloto		17/6/2003
	25	Diseño de sistema de diagnóstico sanitario y programa de manejo reproductivo y nutricional para planteles	Programas definidos	Id		28/6/2003
	26	Capacitación del personal de acuerdo a necesidades	Capacitación terminada	Id		28/6/2003
	27	Selección y evaluación sanitaria y nutricional de animales para grupo piloto	Animales seleccionados y controlados	600 vacas seleccionadas		28/6/2003
	28	Sincronización de estros para programas de transferencias e inseminación	Animales sincronizados	600 vacas controladas		09/12/2003
	29	Periodo de transferencia de embriones a los grupos piloto y de inseminación al grupo control de comparación	Transferencia de embriones	120 leche, 240 carne 240 IA		15/12/2003
	30	Periodo de detección de preñez	Tasa de preñez	$\geq 50\%$ de TE e IA		10/03/2004
	31	Monitoreo y registro de variables productivas	Registros individuales	600 registros evaluados		30/12/2004

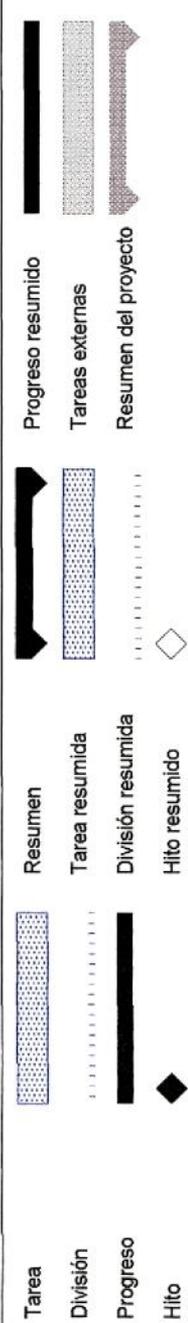


11.2. Resultados esperados por actividad

Obj. Esp. N°	Activid. N°	Resultado	Indicador	Meta Final	Parcial	
					Meta	Plazo
	32	Seguimiento y evaluación técnica y económica del modelo productivo a escala piloto	Evaluación	Información relevante completada		30/12/2004
	33	Elaboración de informe técnico económico	Informe técnico económico	Informe emitido		15/1/2005
5	Transferencia de la información al sector productivo					
	34	Día de Campo 1	Evento	Evento realizado		20/12/2002
	35	Día de Campo 2	Evento	Evento realizado		20/12/2003
	36	Establecimiento de mecanismos de transferencia de tecnología UdeC e Indap para la pequeña agricultura.	Acuerdo de cooperación	Acuerdo firmado		30/05/2004
	37	Seminario de difusión	Seminario internacional	Evento realizado		22/10/2004
	38	Día de Campo 3	Evento	Evento realizado		20/12/2004
	39	Elaboración de manual técnico para capacitación del sector	Manual técnico	Manual impreso		28/01/2005
	40	Elaboración de informe final y cierre del proyecto	Informe técnico	Informe emitido		28/01/2005

FUNDACIÓN PARA LA
INNOVACIÓN AGRARIA
UNIDAD DE ESTUDIOS
Y EVALUACIÓN

Id	Nombre de tarea	Duración	Comienzo	Fin	Predecesor	02												03												04											
						M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	E	F
1	Proyecto Embriones Bovinos In Vitro	1096 días	vi 1/03/02	lu 28/02/05		[Gantt chart bar for task 1]																																			
2	Puesta en Marcha de administración del proyecto	122 días	vi 1/03/02	do 30/06/02		[Gantt chart bar for task 2]																																			
3	Organización del equipo de administración y seguimiento del proyecto. 028/1-8/3	37 días	vi 1/03/02	sá 6/04/02		[Gantt chart bar for task 3]																																			
4	Adquisición de equipos insumos y materiales. 25/2-8/3	39 días	vi 1/03/02	lu 8/04/02		[Gantt chart bar for task 4]																																			
5	Organización y adecuación de laboratorios e instalaciones de terreno. 25/2 - 30/3	24 días	ju 7/03/02	sá 30/03/02		[Gantt chart bar for task 5]																																			
6	Instalación y puesta en marcha de equipos. 01/4 - 30/6	91 días	lu 1/04/02	do 30/06/02	5FC+1 día	[Gantt chart bar for task 6]																																			
7	Capacitación de personal profesional y técnico en empleo de equipos y procedimientos específicos de laboratorio. 21/2 - 11/5	106 días	vi 1/03/02	vi 14/06/02		[Gantt chart bar for task 7]																																			
8	Estandarización de procedimientos de producción de embriones in vitro para mellizos. 01/3/2002- 28/02/2003.	395 días	vi 1/03/02	do 30/03/03		[Gantt chart bar for task 8]																																			
9	Ajuste de condiciones de fecundación para toros seleccionados por potencial de producción de mellizos. 01/03 - 30/4	61 días	vi 1/03/02	ma 30/04/02		[Gantt chart bar for task 9]																																			
10	Comparación de toros seleccionados por potencial de producción de blastocistos. 02/5 - 28/6	58 días	ju 2/05/02	vi 28/06/02	9FC+1 día	[Gantt chart bar for task 10]																																			



Proyecto: carta gantt Mellizos 36 meses
 Fecha: mi 20/03/02





12. IMPACTO DEL PROYECTO

12.1. Económico

Desde el punto de vista económico, el impacto del proyecto que se podría asociar a una implementación de los resultados en una amplia zona de influencia, se observa tanto a nivel individual de cada explotación lechera como se aprecia en la sección 16 (Evaluación Económica), como a nivel sectorial al aumentar el nivel de actividad asociada a la producción de carne, así como al poder aprovecharse mejor la infraestructura de mataderos y canalizar productos hacia el mercado internacional de carnes de alta calidad. El proyecto busca aumentar la eficiencia de producción permitiendo obtener mayores beneficios sin un aumento apreciable de los costos de operación en las explotaciones lecheras, pudiendo elegirse a priori el nivel productivo futuro del plantel lechero al implantar embriones de alta calidad genética y sexados para obtener las hembras de reposición, independientemente del nivel productivo actual. Además, la productividad incrementada de terneros mellizos para engorda, y su independencia de la genética del vientre en que se gestaron, permiten asegurar el flujo de terneros necesarios para abastecer a los feedlots, los cuales pueden concentrar mejor sus esfuerzos en reducir sus costos de alimentación y mejorar la eficiencia de conversión empleando semen de razas de carne y ovarios de animales de carne para producir los embriones destinados a producir mellizos. De este modo la rentabilidad individual y global del sector pecuario bovino se ve mejorada, y aumenta la capacidad competitiva frente a las importaciones y se abre un espacio a las exportaciones.

12.2. Social

El impacto social, siempre estrechamente ligado al impacto económico, obedece al mejoramiento de la rentabilidad y competitividad de sector pecuario bovino, que al empezar a sustituir en mayor medida a las importaciones al reducirse los costos de producción, y al enfrentar un mercado de exportación en mejores condiciones de eficiencia y logística de producción, permite una mayor generación de empleos, una mayor especialización de los mismos, y un aumento de los sueldos y salarios del sector, con lo cual la calidad de vida de las personas que viven de esta actividad se vería sustancialmente aumentada. Esto tiene una mayor relevancia si se observa que en general el rubro pecuario bovino en Chile ha



experimentado un constante retroceso en su rentabilidad en los últimos 5 años, pese a que los niveles productivos siguen aumentando, lo que refleja que el nivel tecnológico no ha sido útil para detener la caída, y se requiere de algún modo frenar esta tendencia, para lo cual el proyecto presenta un gran potencial.

12.3. Otros (legal, gestión, administración, organizacionales, etc.)

La necesidad de que el impacto del proyecto se propague a la mayor cantidad de unidades productivas para que se materialicen sus beneficios sectoriales, y tomando en consideración la gran superficie dedicada a la producción bovina que está en manos de pequeños agricultores, se impone el desafío para incorporar la tecnología desarrollada a este sector. Esto requiere que se provea de canales de difusión y prestación de servicios a nivel concertado entre las entidades tecnológicas y el INDAP para promover la adopción de los resultados del proyecto.





13. EFECTOS AMBIENTALES

13.1. Descripción (tipo de efecto y grado)

El Proyecto no tiene efectos ambientales que se generen directamente de los resultados esperados. En este sentido, este proyecto está orientado a mejorar el proceso de producción de carne y leche bovinas sin alterar el impacto ambiental que este rubro ya tiene por si mismo, y que en la actualidad está normado y regulado independientemente.

13.2. Acciones propuestas

Dado lo anterior, no se requiere de acciones para neutralizar efectos ambientales, ya que estos no se producen.

13.3. Sistemas de seguimiento (efecto e indicadores)





15.2. Aportes de contraparte: criterios y métodos de valoración

Detallar los criterios utilizados y la justificación para el presupuesto por ítem y por año, indicando los valores unitarios utilizados y el número de unidades por concepto.

El cálculo de los costos de personal se ha basado en una jornada laboral bruta de 200 horas mensuales (Costo por hora = sueldo / 200)

Aportes de Contraparte Universidad de Concepción:

Coordinador General (J.F. Cox): Aporte de la Universidad consiste en permitir un 30% de dedicación del tiempo contratado del profesional al proyecto durante todo el tiempo que dura el proyecto. $1.228.000 / 200 = 6.140$; $6.140 * 200 * 0,3 = \$368.400$ mensuales

Especialista en virología (René Ortega): Aporte de la Universidad consiste en permitir un 20% de dedicación del tiempo contratado del profesional al proyecto durante todo el tiempo que dura el proyecto. $900.000 / 200 = 4.500$; $4.500 * 200 * 0,2 = \$180.000$ mensuales

Secretaria: Dedicación de 8 horas mensuales=> $270.000 / 200 * 8 = 10.800$ /mes

Personal Administrativo y Contable=> Dedicación de 8 horas mensuales=> $450.000 / 200 * 8 = 18.000$ /mes

Auxiliar limpieza laboratorio=> Dedicación de 28 horas mensuales => $150.000 / 200 * 28 = 21.000$

Obrero especializado (José Garcés): Dedicación del 40% del tiempo contratado mensual. $80 \text{ horas} * 750 = 75.000$ mensuales (etapa experimental y piloto)

Uso de computadores y accesorios: Se ha valorizado el uso de los computadores y sus accesorios considerando el costo de depreciación causado por su uso. Se deprecia a 0 el valor del computador en 3 años=> $1.100.000 / 36 \text{ meses} / 200 \text{ horas} = \152 . De este valor, se ha estimado que el personal profesional utiliza los equipos un 20% de su tiempo en el proyecto, y el personal de oficina un 100%.

[Handwritten signature]
FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA
UNIDAD DE ESTUDIOS Y PROYECTOS



Uso scanner ecógrafo: Consiste en el costo alternativo de adquirir el aparato dividido por la vida útil. $US\$15.000 * 640 / 60 \text{ meses} = \166.000

Uso equipamiento laboratorio prod. Embriones: Consiste en el costo alternativo de arrendar el equipamiento del laboratorio de prod. de embriones in vitro, el cual ha sido fijado por la Universidad en \$250.000 mensuales.

Oficina coordinador general (JC): Es el costo alternativo de arrendar una oficina para ser ocupada por el coordinador general del proyecto, considerando que no se puede subdividir su uso. Corresponde a \$40.000 mensuales.

Oficina secretaria y personal administr. y contable Es el costo alternativo de arrendar una oficina para ser ocupada por el personal administrativo y secretaria, considerando que no se puede subdividir su uso. Corresponde a \$40.000 mensuales.

Laboratorio de reproducción animal: Corresponde al costo alternativo de arriendo del recinto en que se alberga el laboratorio y al quirófano (para extracción de embriones de donantes vivas) considerando que el equipamiento está en su interior, instalado y funcionando, y no puede retirarse en los momentos que el laboratorio no se ocupa. Es de \$100.000 mensuales.

Corrales para hembras donantes de elite: Corresponde a los corrales que posee la Facultad de Med. Vet., en la cual se aloja el material genético top para extraer embriones. Dado su alto grado de especialización e infraestructura se arrienda en \$25.000 por mes de uso en el periodo que dura la actividad de producción de embriones sexados (18 meses).

Auditorium para seminarios: Es el costo alternativo para la Universidad de arrendar el auditorium para otras actividades mientras está ocupándose en el proyecto. Considera el uso de aparato para presentaciones, pantalla, aseo, etc. y es de \$30.000 diarios.

Salas de clase para curso: Es el costo de arriendo para la facultad de las salas de clase con su correspondiente servicio de aseo e higiene, retroproyector, etc. Es de \$16.000 diarios.

Luz, agua, gas, comunicaciones varias: La Universidad estima que el costo de luz, agua, gas y telecomunicaciones generados por el proyecto es un promedio de \$25.000 mensuales.

[Handwritten signatures and stamps]
FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA
UNIDAD DE ESTUDIOS Y PROYECTOS



Envío de documentos hacia FIA: Se estima un gasto de \$3.300 pesos cada dos meses en envíos de documentos a FIA (Servicio Overnight de Chilexpress).

Ley de timbres y estampillas por póliza de garantía: Corresponde al desembolso por la póliza de garantía (base 20.000.000 anuales, 1%).

Aportes de Contraparte Faenadora de Carnes Ñuble S.A.

Coordinador Alterno (Eduardo Valdés): Se dedicará un 15% de su jornada laboral contratada al proyecto, lo que implica un aporte de \$180.000 mensuales => $1.200.000 / 200 * 0,15 = 180.000$ mensuales.

Veterinario asesor sanitario planteles (Oscar Torrealba): Consultor permanente del PDP de Carnes Ñuble, dedicará 20% de su tiempo al proyecto. $750.000/200*(200*0.2)=150.000$ Mensuales

Obrero 1: Funcionario de la empresa que será destinado parcialmente al proyecto con entre el 40 y el 60% de su tiempo ocupado por el proyecto. Sueldo \$190.000. Costo mensual variable entre \$80.000 y \$120.000.

Secretaria: Dedicación de 8 horas mensuales=> $270.000 / 200*8 = 10.800$ /mes

Personal Administrativo y Contable=> Dedicación de 8 horas mensuales=> $450.000 / 200*8 = 18.000$ /mes

Computadores Coordinador, Personal Adm. Y contable: Idem criterio que para la Universidad de Concepción.

Oficina Coordinador Alterno: Idem criterio que para la Universidad de Concepción.

Oficina Secretaria y Pers. Adm.: Idem criterio que para la Universidad de Concepción.

Corrales animales: Evaluación del costo alternativo de arrendar los corrales de los productores asociados al PDP Carnes Ñuble para las evaluaciones experimentales \$25.000 mensuales).





Suplementación vacas: Costo asumido por los productores de Carnes Ñuble de mejorar la ración de las vacas en tratamiento de implante de embriones para aumentar la sobrevivencia de embriones y el desarrollo de la gestación, corresponde a \$250 por animal y por día durante el periodo experimental.

Ovarios de matadero: Costo de extracción, limpieza, conservación y transporte de los ovarios obtenidos en matadero. Considera tratamiento sanitario preventivo y conservación en frío hasta Un. De Concepción. \$1.000 por set de ovarios.

Dosis de semen controles exp.piloto: Costo de dosis de semen para utilizar como tratamiento control en experiencias piloto. $US\$ 18 * 640 = 11.520$ + Costo de mano de obra por inseminación $\$10.000 = 21.520$ por dosis.

Vacas experimentales: Equivale al costo de disponer de un animal para el experimento, se calcula como el costo de adquisición depreciado mensualmente en 7 años de vida útil, sin valor residual. $\$350.000 / 60 \text{ meses} = \4.166 .

Vacas prueba piloto: Idem anterior.

Vacas Donantes embriones p. sexaje: Idem anterior, pero vacas valen \$800.000 por ser de elite genética.

Uso servicios básicos: La empresa estima que el costo de luz, agua, gas y telecomunicaciones generados por el proyecto es un promedio de \$15.000 mensuales.





15.4. Financiamiento solicitado a FIA: criterios y métodos de valoración

Detallar los criterios utilizados y la justificación para el presupuesto por ítem y por año, indicando los valores unitarios utilizados y el número de unidades por concepto.

Financiamiento Solicitado al FIA:

Investigadora (BB): Honorarios de participación de la investigadora equivalentes a su dedicación de 20% de su tiempo profesional de los meses 1 a 36. \$100.000 mensuales más reajuste.

Investigador (FS): Honorarios de participación del investigador equivalentes a su dedicación de 30% de su tiempo profesional de los meses 1 a 36. \$200.000 mensuales más reajuste.

Médico Veterinario: Honorarios de Médico Veterinario de apoyo a labores de investigación, especialmente en terreno, entre los meses 1 y 36, con un 40% de su tiempo profesional. \$200.000 mensuales más reajuste.

Incentivo Coordinador General: Incentivo a la participación en el Proyecto del coordinador general, por un 15% de su tiempo. \$300.000 mensuales (sin reajuste).

Cámara de flujo Laminar: Costo de adquisición (adjunta cotización).

Lupa estereoscópica: Costo de adquisición (adjunta cotización).

Viático Salidas a terreno: Considerado como 3 salidas a terreno mensuales promedio de 2 personas por salida, \$5392 por viático.

Arrend Vehículos: Arriendo de camioneta (3 arriendos mensuales). \$40.000 por ocasión.

UNIDAD DE EJECUCIÓN
MINISTERIO DE AGRICULTURA, GANADERÍA Y PESCA



Bencina Camioneta Arrdo.: Considerando un rendto de 10 Km / litro, y viajes de 300 Km. Costo por litro = \$450.

Peajes Salidas a terreno: Considera 1 pago de peaje por viaje de \$3.630

Dosis de semen: Dosis de semen para evaluaciones de laboratorio y terreno. $US\$18 \times 640 = 11.520$.

Insumos producción de embriones: Químicos, biológicos y materiales varios de laboratorio, desechables, para la producción de embriones. Paquete estimado en \$1.500.000 por vez de acuerdo a experiencia coord. general. Se adquiere un paquete anual, salvo en el primer año que se gasta más material (2 compras).

Hormonas y medios de cultivo in vitro: Paquete de hormonas y nutrientes especializados para medios de cultivo celular in vitro, estimado en un costo de \$5.500.000 por experiencia del coord. general.

Gases para incubación (CO_2 y O_2): Paquete de cilindros de gas de alta pureza y limpieza. Costo de \$300.000 por paquete y año.

Insumos transferencia embriones: Costo de equipamiento desechable para la operación en terreno. Equivale al costo por cada operación de transferencia realizada (\$15.000 por embrión).

Anticuerpos monoclonales: Insumos de alto costo para etapa de protocolo de seguridad. Costo de \$1.100.000 del paquete requerido (por experiencia de investigadores).

Insumos sexaje de embriones: Insumos para PCR, tinción, agar de difusión, etc. de difícil detalle que tiene un costo estimado para el proyecto de \$1.792.800.

Día de Campo 1: Costo de organización, material didáctico y audiovisual, diplomas, cóctel de cierre, bus para visita a terreno. \$312.378 por seminario.





Día de Campo 2: Idem anterior.

Día de Campo 3: Idem anterior.

Seminario difusión a empresarios, profesionales y académicos. considera entrega de folleto y material escrito. \$1.974.000

Manual de Extensión: Costo de edición, diagramación, impresión del manual. Distribución gratuita. \$500.000

Gastos Generales: Fotocopias informes de avance, Anillados, Resma de papel, Tinta impresora DeskJet, Varios (disquettes, cinta scotch). Difícil detalle.

Revelado e impresión Fotografías: Compra y revelado de dos rollos cada tres meses \$5.000 cada uno.

Instalación Mantención Equipos laboratorio: Costo estimado de compra de respuestos, piezas de desgaste, etc. estimado en \$100.000 cada 3 meses

Imprevistos. 5% sobre los ítemes permitidos, previa consulta al FIA para su aprobación.





16. ANÁLISIS ECONÓMICO DEL PROYECTO

16.1. Criterios y supuestos utilizados en el análisis

Indicar criterios y supuestos utilizados en el cálculo de ingresos (entradas) y costos (salidas) del proyecto

El análisis económico que se ha efectuado para el siguiente proyecto, debido a que se trata de mejorar un proceso ya existente, se ha planteado en forma comparativa, de modo que se contrasta la proyección de la situación actual de una lechería tipo del nivel tecnológico posible hasta ahora sin ejecutar el proyecto, versus la situación que sería posible en esa misma lechería al estar disponibles los resultados esperados del proyecto.

Se ha escogido como situación base un modelo de lechería de 200 vacas masa, que mantiene un 80% de las vacas en producción, que es una unidad promedio capaz de sustentarse dada la situación actual. Se ha escogido un horizonte de evaluación de 10 años debido a que la vida útil de las vacas es de 5 años aprox. y se requieren de 2 generaciones para observar beneficios del empleo de los resultados del proyecto.

Toda la información aquí expuesta se encuentra en el disco adjunto al proyecto.

A) Supuestos para la situación sin proyecto:

En este caso, se ha contemplado la situación típica actual, en la cual se emplea inseminación artificial con semen de razas lecheras buscando obtener terneras de reposición de una calidad superior a sus madres, por medio del empleo de semen de toros mejoradores. Sin embargo, se obtienen de esta manera un 50% de terneros que no prestan utilidad para la producción de carne, por lo que en general se descartan a muy bajo costo (\$5000). Las hembras de reposición obtenidas en general permiten obtener un aumento en la producción de leche que es del orden del 5% cada 2 generaciones.

La situación sin proyecto se puede reflejar en el siguiente cuadro resumen:





A.1) Producción: Se ha estimado que un 80% de las vacas están en lactancia, y que la relación de sexos de terneros obtenida mediante la Inseminación Artificial es de 1:1, con un 5% de mortalidad de terneros. Las terneras nacidas son alimentadas y criadas hasta que entran en producción con alrededor de 24 meses de edad, momento en el cual reemplazan a una vaca en producción, produciéndose un animal de desecho. Los terneros son vendidos el mismo año que nacen. La producción de leche inicial es de 25 litros día / lactancia promedio (7625 litros / lactancia), y aumenta un 5% cada 3 años por mejoramiento genético de las nuevas vaquillas que ingresan a producción. A los 10 años se liquida todo el Stock de animales.

A.2) Precios de venta: Se ha estimado un precio de \$100 / lt. de leche vendida, un valor del ternero de \$5.000, un valor de la ternera a la liquidación de \$45.000, y un precio del Kg. vivo de vaca de desecho de \$300 (peso de la vaca es 605 kg. al desecharla).

A.3) Costos: El costo de alimentación de cada vaca es \$1200 por día durante la lactancia (\$390.000) y \$350 por día en el periodo seco (\$21.000). El costo de alimentación de cada ternera hasta el parto es de \$237.462 (incluye sustituto lácteo, concentrados, forrajes, etc.). Se ha considerado un gasto en medicamentos de \$5.000 por vaca y año, y de \$3.000 por ternera y año. El costo de la inseminación artificial es de US\$ 25 por dosis (\$16.000) y se requieren dos dosis para asegurar la preñez. Se Incluye un gasto en personal de \$7.200.000 por año (5 empleados con sueldo mínimo más 12 visitas de veterinario y mano de obra auxiliar). Se ha estimado un costo fijo de bienes raíces, manutención, cuotas de asociaciones de productores, derechos de agua, etc, de \$950.000.

A.4) Inversiones: En esta situación no se consideran inversiones porque se parte de la base que la lechería ya está en funcionamiento.

B) Supuestos para la situación con proyecto:

Para la situación post proyecto, se ha contemplado la misma situación anterior, pero en la cual se reemplaza la utilización de inseminación artificial por el uso de transferencia de embriones producidos in vitro, tanto de embriones de alta calidad genética sexados para



obtener hembras de reposición, como de pares de embriones económicos de razas de carne para abastecer un nuevo feedlot agregado a la explotación lechera, que requiere de inversión en infraestructura y equipos. De este modo, es posible manejar en forma diferente la producción de los animales, ya que se obtienen las hembras de reposición necesarias y con una calida genética dependiente directamente de los óvulos y semen empleados en la producción del embrión y no de la genética del plantel. Se ha considerado que se utilizan embriones sexados que permiten elevar la producción lechera en una sola generación en 5 litros (20%) por cada vaca obtenida a partir de embrión, lo cual es perfectamente posible al ser absolutamente independientes de la genética presente en el plantel. Todos los demás partos son de embriones de razas de carne, y se obtiene un 50 % de partos de mellizos, con lo cual el feedlot tiene un constante abastecimiento de terneros de buenas características para ser engordados, lo cual ocurre al cabo de 14 meses, momento en el cual se venden a matadero.

La situación con proyecto se puede reflejar en el siguiente cuadro resumen:





B.1) Producción: Se ha estimado que un 80% de las vacas están en lactancia. Se obtienen las hembras de reemplazo durante un periodo de 3 años seguidos, para reemplazar el 100% del plantel con las terneras de genética superior provenientes de embriones sexados. Hay un 5% de mortalidad neonatal de terneros. Las terneras nacidas son alimentadas y criadas hasta que entran en producción con alrededor de 24 meses de edad, momento en el cual reemplazan a una vaca en producción, produciéndose un animal de desecho. Los terneros son engordados en el nuevo feedlot y se venden a los 14 meses, pesando 450 kg. y riendiendo un 57,5% en canal fría. La producción de leche inicial es de 25 litros día / lactancia promedio (7625 litros / lactancia), y aumenta a 30 litros promedio por día de lactancia (9.000 litros/lactancia) como fruto de la superioridad genética de las nuevas vaquillas que ingresan a producción. A los 10 años se liquida todo el Stock de animales.

B.2) Precios de venta: Se ha estimado un precio de \$100 / lt. de leche vendida, un valor del kg. de carne en vara fría de \$900 y un precio del Kg. vivo de vaca de desecho de \$300 (peso de la vaca es 605 kg. al desecharla).

B.3) Costos: El costo de alimentación de cada vaca es \$1200 por día durante la lactancia (\$390.000) y \$350 por día en el periodo seco (\$21.000). El costo de alimentación de cada ternera hasta el parto es de \$237.462 (incluye sustituto lácteo, concentrados, forrajes, etc.). El costo de alimentación de novillos hasta su faena es de \$137.650 por animal (incluye sustituto lácteo, concentrados, pastoreo, forrajes, etc.). Se ha considerado un gasto en medicamentos de \$5.000 por vaca y año, \$3.000 por ternera y año y \$2000 por novillo y año. El costo de la transferencia de un embrión sexado es de US\$ 130 por el embrión más \$15.000 por su transferencia, y se tiene un 75% de eficacia (25% de repaso). El costo de transferencia de embriones de carnes es de \$25.000 por cada par de embriones más \$15.000 por su colocación, obteniéndose un 50% de partos dobles. Se Incluye un gasto en personal de \$7.200.000 por año (5 empleados con sueldo mínimo más 12 visitas de veterinario y mano de obra auxiliar). Se contratan 3 obreros más para el feedlot (\$3.900.000 por año). Se contrata un obrero más para el feedlot. Se ha estimado un costo fijo de bienes raíces, manutención, cuotas de asociaciones de productores, derechos de agua, etc, de \$950.000.





B.4) Inversiones: La inversión en nuevos corrales para alojar a los terneros y novillos en engorda se ha redondeado en \$11.000.000. El equipamiento adicional para preparación de alimentos y raciones en \$7.500.000.

Impactos económicos no cuantificados:

Sin perjuicio del análisis aquí presentado, cabe mencionar que, dado el impacto sectorial del proyecto, la perspectiva de una sola empresa se multiplica en forma sinérgica al aplicar el conocimiento y los resultados que se esperan sean generados por el presente proyecto. Un factor muy importante y que no se desprende fácilmente del análisis, es que el disponer de la posibilidad de incorporar genética elite a un costo muy reducido en comparación a la adquisición del animal elite (y en un plazo muy inferior al que se tiene con cruzamientos y selección de la progenie), se aumenta la eficiencia de producción, ya que los costos de alimentación se mantienen y aumenta la productividad de cada animal.

Por otro lado, la poca importancia actual de la industria exportadora de carnes bovinas de calidad debida a la escasa base productiva de animales capaces de entregar la calidad necesaria al ser alimentados en feedlot, se vería subsanada por la implementación a gran escala de la producción de embriones a partir de ovarios de matadero, que permitiría obtener un flujo constante de animales para engorda intensiva.





17. RIESGOS POTENCIALES Y FACTORES DE RIESGO DEL PROYECTO

17.1. Técnicos

El proyecto, dada su complejidad técnica y la impredecibilidad propia de los sistemas biológicos presenta riesgos desde el punto de vista técnico, los cuales se mencionan a continuación, junto con las medidas que se han considerado para anularlos y minimizar el efecto negativo de la eventual ocurrencia de los mismos.

Tasa de producción de embriones inadecuada. Está definida por una producción de oocitos inadecuada y/o por unas tasas de maduración, fecundación o desarrollo de embriones in vitro inadecuadas. Para cada etapa existen controles de calidad, con estándares a satisfacer. La demostración previa de que los estándares son alcanzados en forma consistente, sugiere que los procesos relevantes están básicamente establecidos, debiendo optimizarse y adecuarse a las necesidades de economía. La selección de donantes de oocitos, la selección de machos, el diagnóstico de errores de formulación de medios de cultivo, el ajuste de concentración espermática, el manejo de embriones y cultivos celulares son procedimientos aislables, evaluables en forma individual y corregibles sin mayor problema dentro del plazo que se ha estipulado para estas actividades.

Sobrevivencia a la descongelación inadecuada. La congelación de embriones para transferencia directa es fundamental para lograr una masificación de la tecnología de embriones. Tanto la transferencia directa con embriones frescos como con congelados demandan la sincronización de receptoras. Mientras se corrigen protocolos de congelación hasta alcanzar estándares comerciales, se trabajará con la transferencia de embriones frescos de la misma manera como el semen fresco precedió a la inseminación con semen congelado en el desarrollo de la industria de inseminación artificial. Como control funcional de la sobrevivencia pos congelación se usará la tasa de hatching que deberá ser superior al 85%.

Sobrevivencia pos transferencia inadecuada. Los controles de calidad previos, permitirán radicar el problema en una preparación inadecuada de receptoras de embriones o en un procedimiento de transferencia inadecuado. Ambos problemas se abordarán con





profesionales veterinarios experimentados en programas de inseminación artificial con rebaños sincronizados, capacitados y acreditados para la ejecución del proyecto. El uso de controles inseminados de manera convencional, la revisión de protocolos, de los programas de alimentación y la evaluación sanitaria de rebaños permitirá ajustar los resultados a los estándares esperados.

Sexaje de embriones ineficiente. El proceso de sexaje está bien establecido, por lo que los problemas asociados con esta etapa podrían deberse a defectos en la manipulación de los embriones, en la preparación de las sondas de DNA o en la lectura de la electroforesis. Cada una de las etapas pueden ser evaluadas individualmente y los defectos aislarse y corregirse sin mayor problema.

Transmisión de enfermedades a partir de embriones producidos de donantes conocidas. La seguridad sanitaria es básica en programas de transferencia de embriones. Por lo anterior, sólo vacas libres de enfermedades infecciosas serán usadas en el proyecto. Para cada una de las enfermedades (brucelosis, leucosis, tuberculosis, IBR, diarrea viral y leptospirosis) existen sistemas diagnósticos conocidos y adicionalmente las hembras serán sometidas a programas de vacunación preventiva para leptospirosis. Finalmente, se trabajará con evaluaciones anuales y se usarán medidas cuarentenarias para la mantención de animales y sets individuales estériles para minimizar la transmisión eventual de enfermedades.

Transmisión de enfermedades a partir de embriones producidos de ovarios de matadero. Se usarán métodos de diagnóstico precoz en cultivos celulares, incubadores aislados para este tipo de embriones y la cuarentena de partidas de embriones hasta conocer el estatus sanitario de los cultivos. Finalmente se usarán termos exclusivos para la cuarentena y se usará la eliminación radical de la partida de embriones amenazada.

17.2. Económicos

Desde el punto de vista económico, los riesgos del proyecto se derivan de que no se lograra el costo esperado para la producción de embriones que se ha planteado como meta. Sin embargo, la experiencia del equipo técnico y la metodología a emplear no indican que esto pudiese ocurrir. En cualquier caso, ya se han efectuado experiencias previas a nivel



académico por parte del equipo técnico del proyecto que han arrojado costos individuales de los embriones iguales a los planteados como meta, lo que indica que es factible que al hacerse a gran escala, la producción resulte aún más económica.

17.3. Gestión

Dado el nivel de experiencia del equipo técnico en proyectos de investigación y desarrollo, así como el soporte institucional de la Universidad de Concepción a este tipo de iniciativas, la ocurrencia de problemas de gestión no es esperable, al menos en lo que respecta a la Unidad científico tecnológica. Por el lado del agente asociado (Faenadora de Carnes Ñuble S.A.) esta empresa se encuentra actualmente participando en otras iniciativas de innovación tecnológica que tienen que ver con el empleo de tecnologías de producción de embriones (razas ovinas), y ya cuenta con el Programa de desarrollo de Proveedores en funcionamiento y con los canales de comunicación y administración formados, por lo que tampoco es posible predecir problemas de gestión en la Unidad experimental, toda vez que estará estrechamente supervisada por el Coordinador general.

17.4. Otros

No se detectan mayores riesgos de los ya mencionados.





17.5. Nivel de Riesgo y Acciones Correctivas

Riesgo Identificado	Nivel Esperado	Acciones Propuestas
Tasa de producción de embriones inadecuada	Bajo	Revisión paso a paso para encontrar punto deficitario, corrección del mismo
Sobrevivencia a la descongelación inadecuada	Bajo	Revisión paso a paso para encontrar punto deficitario, corrección del mismo
Sobrevivencia pos transferencia inadecuada	Bajo	Revisión paso a paso para encontrar punto deficitario, corrección del mismo
Sexaje de embriones ineficiente	Bajo	Revisión paso a paso para encontrar punto deficitario, corrección del mismo
Transmisión de enfermedades a partir de embriones producidos de donantes conocidas	Bajo	Revisión paso a paso para encontrar punto deficitario, corrección del mismo
Transmisión de enfermedades a partir de embriones producidos de ovarios de matadero	Bajo	Revisión paso a paso para encontrar punto deficitario, corrección del mismo
Costo de embriones superior a lo propuesto	Bajo	Antecedentes indican que puede ser aún más bajo
Problemas de gestión	Bajo	Personal e instituciones con experiencia en I+D





18. ESTRATEGIA DE TRANSFERENCIA DE RESULTADOS

Debido a que el proyecto es de carácter sectorial, uno de sus objetivos específicos es efectuar la transferencia de resultados al sector productivo y al sector profesional y académico. Para ellos se han considerado una serie de actividades de extensión y difusión, así como la creación de una entidad a cargo de administrar los resultados del proyecto y prestar la asesoría necesaria. El detalle de esto corresponde a la Línea de trabajo N° 5 de la Metodología (Cap. 9).






19. CAPACIDAD DE EJECUCIÓN DEL PROYECTO

19.1. Antecedentes y experiencia del agente postulante y agentes asociados

Agente Postulante:

Universidad de Concepción cuenta con una amplia trayectoria en proyectos de investigación y desarrollo, así como de innovación tecnológica. El detalle de esta experiencia es demasiado extenso y escapa al objetivo de la presente propuesta. Consultar Página web para ver detalles.

Agente asociado:

ANTECEDENTES DE LA EMPRESA FAENADORA DE CARNES ÑUBLE S.A.

Visite sitio web en <http://www.beaf.cl/>

HISTORIA DE LA EMPRESA

Desde su origen, (década del 60) este matadero, hasta mediados de 1975, éstas plantas estuvieron administradas a través de SOCOAGRO S.A. , empresa filial de CORFO, quien las construyó y operó. Éste periodo se caracterizó por la especialización del personal y la introducción y correcto uso de nuevas herramientas. Se contrató al mismo personal que trabajaba en el antiguo Matadero Estatal, implementándose el sistema de Faenamamiento en Línea, es decir, se le designó a cada operario una función específica durante la faena, lo que significó trabajar por primera vez el animal "colgado", usando plataformas, mejorando la calidad del trabajo, haciéndolo más higiénico.

Durante éste periodo, se aprovecha mejor el vacuno; y es así como comienzan a industrializarse los Subproductos, sometiéndolos a un proceso que los dejaba aptos para el consumo.

Más tarde éstas plantas comenzaron a ser entregadas a Cooperativas de Agricultores de las respectivas zonas donde se encontraban ubicadas; de ésta forma se daba cumplimiento a lo estipulado en una de las cláusulas del contrato celebrado en 1963 con el B.I.D. (Banco Interamericano del Desarrollo), durante el Gobierno de Don Eduardo Frei Montalva.





Durante mayo de 1975 la industria pasa a ser administrada por la Cooperativa Agrícola y Lechera Ñuble Ltda.

El 4 de agosto de 1975 la Cooperativa Agrícola y Lechera Ñuble se declara en quiebra, por lo cual, cesa sus actividades comerciales, y Faenadora de Carnes Chillán vuelve a manos gubernamentales.

El 11 de Enero de 1982 , la CORFO llama a una licitación pública para vender definitivamente la Empresa, la que fue adquirida por agricultores y ganaderos de la provincia de Ñuble, principalmente. En esa fecha, fue creada la sociedad anónima denominada " FAENADORA DE CARNES ÑUBLE S.A. " la que inició sus operaciones comerciales, en principio, con la prestación de servicios de faenamiento.

La primera Sesión de Directorio se realizó con fecha 21 de Marzo 1982.

Su primer Presidente fue don Arnoldo Ebesperger y el primer Gerente don Jhon Raby Barboza.

Desde abril de 1983 ocupa el puesto de Presidente de la Empresa, don Gerardo Spoerer Urrutia y la Gerencia General don Horacio Bórquez Conti, cargos que actualmente continúan desempeñando.

Desde esa época, la empresa comienza un fuerte período de expansión.

Se establece la necesidad de mejorar la compra de ganado, para ofrecer un mejor producto final. Para esto, se adquiere ganado sólo de buena calidad, de preferencia en las zonas de Chillán, Osorno y Puerto Varas, lo que permite llegar al consumidor con un producto altamente competente desde su origen, adicionándole un buen manejo sanitario, una exigente manipulación y estrictos controles de calidad.

Posteriormente, se desarrolla la idea de comercializar la carne despostada, para lo cuál se empieza a contar con especialistas en el área.

Bajo la marca BEAF comienza el envasado de carne en caja. Junto con esto, alrededor del año 1987, se implementa la tecnología de Carnes al Vacío, la que tiene la ventaja de llegar con la





carne a los hogares completamente fresca y con un largo período de duración. Para la comercialización de éstos productos, la empresa comenzó a desarrollar una amplia red de distribución, convirtiéndose ésta en una de las principales fortalezas del área comercial.

Hacia el año 1990, se introduce una nueva forma de llegar al consumidor, en ésta ocasión a través de Productos Elaborados, con una Fábrica propia, la cuál cuenta con un exigente proceso de calidad, higiene y presentación. Los principales productos que se obtienen de ésta planta son: Hamburguesas, Churrascos y Carne Molida entre otros.

Carnes Ñuble ha ido dando pasos importantes que dejan de manifiesto la preocupación constante de atender en forma eficaz las necesidades de los consumidores, quienes cada día piden un producto del más alto nivel y a un precio adecuado.

La Empresa ha sido pionera en la clasificación y tipificación de las carnes; y hoy, más que nunca, prosigue en la búsqueda de nuevas ideas para ir desarrollando nuevos y mejores negocios.

Es así como el año 1999, como resultado de la búsqueda de nuevos negocios es que la planta invierte recursos en una planta en Argentina, en sociedad con Ganadera Abaroa S.A., (Uno de los mayores importadores de Carne en Chile), y ambas empresas comienzan a incursionar en el negocio de desposte en la Republica Argentina, con mercados en Europa y América Latina.

Es así, como al iniciar un nuevo milenio es que carnes ñuble S.A., posee negocios desde la Engorda de Animales, pasando por El Faenamiento (MATANZA DEL GANADO), el Desposte (Desagregamiento del vacuno y unificando cortes en cajas), Usando la planta de productos Elaborados, que es donde se usan cortes de baja rotación o despuntes que no tienen un uso en la cadena, para producir Hamburguesas, Carne molida entre otros, y además genera resultados en la empresa Argentina.

GIRO PRODUCTIVO, PARTICIPACIÓN Y POSICIONAMIENTO ACTUAL EN
EL MERCADO

COMERCIALIZACIÓN

Nuestra empresa llega a nuestros consumidores, por medio de tres canales bien
definidos.-





- a) Comercialización por medio de supermercados, entre estos tenemos al JUMBO, SANTA ISABEL, SUPERMERCADOS KORLAET DE ANTOFAGASTA, UNIMARC, LAS BRUJAS DE CONCEPCIÓN Y LOS KEYMARKET, ENTRE OTROS.
- b) Comercialización por medio de Mayoristas o instituciones de alimentación, entre estos tenemos: DISTRIBUIDORA RABIE, GANADERA ABAROA S.A., SODEXHO,
- c) Distribución mediante los minimarket, para lo cual, nuestra empresa a desarrollado un sistema de comercialización usando los locales de barrio y locales de distribución de productos de consumo masivo, desviando recursos para fortalecer estos canales.-





19.2. Instalaciones físicas, administrativas y contables

1. Facilidades de infraestructura y equipamiento importantes para la ejecución del proyecto.

Ambas Instituciones cuentan con la infraestructura necesaria. Se proveerá mayor detalle de ser solicitado expresamente por FIA.

2. Capacidad de gestión administrativo-contable.

Ambas Instituciones cuentan con la capacidad administrativa y contable necesaria. Se proveerá mayor detalle de ser solicitado expresamente por FIA.





20. OBSERVACIÓN SOBRE POSIBLES EVALUADORES

(Identificar a el o los especialistas que estime inconveniente que evalúen la propuesta. Justificar)

Nombre	Institución	Cargo	Observaciones

Para el presente proyecto no se han considerado evaluadores que no sean adecuados





ANEXO A

ANTECEDENTES DEL EQUIPO DE COORDINACIÓN Y EQUIPO TÉCNICO DEL PROYECTO



CURRICULUM VITAE

1. ANTECEDENTES PERSONALES.

Nombre completo : José Francisco Cox Ureta
Fecha nacimiento : 10 de febrero de 1956
Nacionalidad : Chilena.
Fecha de ingreso U.de C. : 1 de mayo de 1981.
Jerarquía : Profesor Asociado
Facultad (U. de C.) : Medicina Veterinaria.

2. TITULOS, GRADOS Y PERFECCIONAMIENTO ACADEMICO Y PROFESIONAL.

Médico Veterinario, Universidad Austral. 1980.
Postgrado en Biotecnología de la Reproducción Animal. Universidad de Cambridge, Inglaterra, años 1988-1990.
PhD en Ciencias Veterinarias, Universidad Sueca de Ciencias Agrícolas
Inicio: octubre 1999; Egreso: octubre 2002.

Perfeccionamiento Académico y Profesional (áreas seleccionadas).

- Transferencia de embriones en bovinos. Universidad de Concepción, 4- 19 de marzo de 1982.
- Preservación y manipulación de gametos masculinos y femeninos. Universidad Austral, 7-18 enero 1985.
- Tecnología de embriones bovinos in vivo e in vitro. Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad de Cambridge, Inglaterra. Octubre de 1987 a Septiembre de 1990.
- Curso internacional de conservación de recursos genéticos animales. FAO- Cenargen, Brasilia, Brasil. 1 al 28 de mayo de 1991.
- Curso de Inseminación Artificial y Transferencia de Embriones en caprinos y ovinos. IMV, Francia, 10-18 de abril de 1997.
- Curso de capacitación. Actualización de procedimientos asociados a tecnología de embriones (ovum pick up, producción in vitro, congelación y transferencia de embriones). Laboratorio de Reproducción Animal. CIZ Assoc. Italiana Allevatori, Cremona, Italia. 12 de abril al 10 de mayo 1999.
- Curso de capacitación. Estandarización de procedimientos de ultrasonografía en función ovárica en bovinos. Universidad de Concepción. 22 al 31 de enero de 1999.

3. EXPERIENCIA DOCENTE EN EDUCACIÓN SUPERIOR

Facultad de. Medicina Veterinaria.

- Profesor Responsable, Reproducción Animal I y II. Estudiantes de pregrado. Desde 1982.
- Director del Módulo de Reproducción. Diplomado de Producción de leche bovina.

Dirección de Tesis de Grado.

30 Tesis de Grado asociadas a tecnología de la Reproducción Animal (hasta 1999)



Estudio de la reproducción post parto en vacas Holstein de alta producción. Srta. Claudia Allende. 1999.

Evaluación funcional de espermatozoides caprinos descongelados. Ximena Sandoval. 1999.

Transferencia de embriones en caprinos. Srta. Claudia Adones. 1999.

Relación entre la migración espermática y la capacidad fecundante de espermatozoides caprinos. Srta. Paz Gallardo. 1999.

Sincronización de estros con GnRH y Prostaglandina F_{2α} en vacas Holstein Friesian. Srta. Verónica Contreras. 2000.

Comparación de la sincronización de estros con GnRH-PGF_{2α} y PGF_{2α} en vacas Holstein Friesian en confinamiento. Ximena Hernández. 2000.

Fecundación y desarrollo in vitro de oocitos caprinos obtenidos por punción folicular asistida por ecografía. Cecilia Rivas. 2000.

Congelación de semen caprino. Efecto de la adición de crioprotectores y de las curvas de congelación. Víctor Alfaro. 2000.

Desarrollo de un test de penetración espermática múltiple en zonas pelúcidas intactas en caprinos. Beatriz González. 2001.

Caracterización morfológica de espermatozoides fecundantes en caprinos. Marianela Caballero. 2001.

Caracterización morfológica de espermatozoides fecundantes en bovinos. Lisette Maluje. 2001.

Uso de la tecnología PCR para el sexaje de embriones en bovinos. Aurelio Salazar. 2001.

Congelación de embriones bovinos producidos in vitro. Marianne Berner. 2001.

Transferencia de embriones producidos in vitro en bovinos. Patricio Vásquez. 2001.

4. EXPERIENCIA PROFESIONAL NO DOCENTE.

Publicaciones (seleccionadas).

- Cox, J.F., G. Mora, A. Santa María y S. Lagos. 1985. Primero mellizos caprinos obtenidos por transferencia de embriones en Chile. *Agro Ciencia*, 1:89-90.
- Cox, J.F., G. Mora, A. Santa María, N. Letelier. 1986. Recuperación de embriones en cabras. Comparación de dos métodos quirúrgicos. *Agro Ciencia*, 2:129-134.
- Cox, J.F., G. Mora, A. Santa María y L. Olgún. 1987. Efecto de la aplicación de HCG tarde en el estro en la respuesta ovulatoria de cabras superovuladas con PMSG Y PgF_{2α}. *Agro Ciencia*, 3:129-134.
- Cox, J.F., A. Santa María, R. Rodríguez y A. Islas. 1987. Control del estro con Tiaprost en cabras criollas. Determinación de una dosis luteolítica. *Agro Ciencia*, 3:167-168.
- Cox, J.F. 1990. Capacitación espermática para fecundación in vitro. Aspectos básicos y aplicados. En: E. Oliveira (Ed). *Embryo Manipulation. III International Symposium*, S.P. Brasil, pp 27-59.
- Cox, J.F. 1991. Effect of the cumulus on in vitro fertilization in ruminants. *Theriogenology*, 33:121.
- Cox, J.F. 1992. Fecundación heteróloga usando gametos de animales domésticos. *Arch. Med. Vet.* 24:25-32 (ISI).
- Cox, J.F. 1991. Uso de un test de penetración espermática múltiple de zonas pelúcidas en. *Reproducción Animal. Agro Ciencia*, 7:181-184.
- Cox, J.F., J. Hormazábal y A. Santa María. 1993. Effect of the cumulus on in vitro fertilization in cattle. *Theriogenology* 40 (6):1259-1267 (ISI).



- Cox, J.F., F. Saravia, M. Briones y A. Santa María. 1994. Efecto de la cafeína en la capacidad fecundante de espermatozoides de chivos. Arch. Med. Vet. 26:35-42 (ISI).
- Cox, J.F., A. Catalán, F. Saravia, J. Avila y A. Santa María. 1994. In vitro fertilization of cattle and sheep follicular oocytes by goat spermatozoa. Small Ruminant Research, 15:55-58 (ISI).
- Cox, J.F., J. Avila, F. Saravia y A. Santa María. 1994. Assessment of fertilizing ability of goat spermatozoa by in vitro fertilization of cattle and sheep intact oocytes. Theriogenology, 41:1621-1629.
- Pérez, R., J.F. Cox y R. Arrué. 1994. Probable post-synaptic alpha-2 adrenergic mediated effect of xylazine on goat uterine motility. J. Veterinary Pharmacology, 17:58-63.
- Cox, J.F., F. Saravia, A. Santa María y M. Briones. 1995. Dose-dependent effect of heparin on fertilizing ability of goat spermatozoa. Theriogenology, 44:451-460.
- Cox, J.F., P. Fernández, F. Saravia, M. Briones, A. Santa María. 1997. Efecto de la heparina en la capacidad fecundante in vitro de espermatozoides caprinos. Arch. Med. Vet. 29:261-267.
- Cox, J.F. 1997. Estado actual de la biotecnología de aplicación en el sector pecuario en Chile. En: M. Paredes, C. Muñoz (eds). Programa Nacional para el desarrollo de la Biotecnología Agropecuaria y Forestal en Chile. Serie Quilamapu N°77.
- Cox, J.F., C. Martínez, S. Lagos, F. Saravia, R. Sasmay. 1997. Sperm migration in cervical mucus in goats. II. Relationship with colonization of the oviduct and fertilization efficiency. Theriogenology, 47:254.
- Martínez, C., P. Zamora, A. Santa María, J.F. Cox. 1997. Sperm migration in cervical mucus in goats. I. Effect of procedural factors on the outcome of the assay. Theriogenology, 47:260.
- Barahona, P., F. Saravia, A. Santa María, M. Briones, J.F. Cox. 1997. Effect of oviductal secretions and cells on fertilizing ability of goat spermatozoa in vitro. Theriogenology, 47:331.
- Cox, J.F., F. Saravia, A. Zavala, P. Fernández y R. Guzmán. 1998. Introducción de caprinos Boer al país a través de la transferencia de embriones congelados. Agro Ciencia 14:173-176.
- Cox, J.F., P. Fernández, F. Saravia y A. Santa María. 1998. Utilización de lectina Pisum sativum y yoduro de propidio para la evaluación rápida de integridad de acrosoma en espermatozoides caprinos. Arch. Med. Vet. 30: 93-99.
- Cox, J.F., F. Saravia, V. Contreras, A. Lobos y Sergio Recabarren. 1999. Sincronización de estros con GnRH y PGF_{2α} en vacas Holstein en confinamiento. Arch. Med. Vet. 31:19-25.
- Cox, J.F., F. Saravia, O. Torrealba, A. Zavala, A. Lobos, S. Recabarren. 1999. Comparison of reproductive responses after PGF_{2α} and GnRH-PGF_{2α} oestrous synchronisation schemes in Holstein cows. Diskin, J. Sreenan (eds). Fertility and Infertility in the High Producing Dairy Cow, British Society of Animal Production. Occasional publication series (en prensa).
- Cox, J.F., F. Saravia, O. Torrealba, A. Zavala, A. Lobos. 1999. Field assessment of GnRH-PGF_{2α} oestrous synchronisation in confined Holstein cows. Diskin, J. Sreenan (eds). Fertility and Infertility in the High Producing Dairy Cow. British Society of Animal Production. Occasional publication series (en prensa).
- Recabarren, S.E., A Lobos, C Schneider, J Cox, J Parilo. 2000. Sensibilidad tisular a la insulina antes, durante y después de un ayuno en ovejas prepúberes. Arch. Med. Vet. 32:139-146.
- Cox, J.F., A Zavala, F Saravia, C Rivas, P Gallardo, V Alfaro. 2001. Differences in sperm migration through cervical mucus in vitro relates to sperm colonization of the oviduct and fertilizing ability in goats. Theriogenology (aceptada).



- Cox, J.F., A Zavala, F Saravia, C Rivas, V Alfaro. 2001. Fertilization efficiency of in vitro matured oocytes transferred to oviducts of inseminated goats: A useful model to assess in vivo fertilization performance of goat spermatozoa. Theriogenology (aceptada).
- Cox, J.F. 2001. Embryo transfer and associated technologies in goats. En: GR Richards (ed). Animal Health and Production Compendium. CAB International, Wallingford, UK. Solicitada y en preparación.

Ponencias en Congresos y Simposios (1997-2001)

- Cox, J.F. 1997. Avances en la evaluación funcional de la capacidad fecundante en espermatozoides de animales de producción. Reunión Anual Soc. Biología de la Reproducción y del Desarrollo, La Serena, 15-17 de agosto.
- Cox, J.F., C. Martínez, S. Lagos, F. Saravia y R. Sasmay. Migración espermática en mucus cervical en cabras en relación con la colonización del oviducto y la eficiencia de fecundación. Reunión Anual Soc. Biología de la Reproducción y del Desarrollo, La Serena, 15-17 de agosto.
- Cox, J.F., P. Barahona, F. Saravia, A. Zavala, A. Santa María. Efecto de células y secreciones oviductales en la capacidad fecundante de espermatozoides caprinos. Reunión Anual Soc. Biología de la Reproducción y del Desarrollo, La Serena, 15-17 de agosto.
- Cox, J.F. Utilización de tecnologías reproductivas en la internación y multiplicación de especies de relevancia comercial. II Jornadas de Producción Animal. Chillán, diciembre de 1997.
- Cox, J.F. 1998. Avances en manejo reproductivo en rumiantes. Taller, X Congreso Nacional de Medicina Veterinaria. 1-4 de abril, Valdivia.
- Cox, J.F., C. Martínez, S. Lagos, F. Saravia, R. Sasmay. 1997. Sperm migration in cervical mucus in goats. II. Relationship with colonization of the oviduct and fertilization efficiency. . Annu. Meeting of International Embryo Transfer Society, Francis, Enero de 1997.
- Martínez, C., P. Zamora, A. Santa María, J.F. Cox. 1997. Sperm migration in cervical mucus in goats. I. Effect of procedural factors on the outcome of the assay. Annu. Meeting of International Embryo Transfer Society, Francia, Enero de 1997.
- Barahona, P., F. Saravia, A. Santa María, M. Briones, J.F. Cox. 1997. Effect of oviductal secretions and cells on fertilizing ability of goat spermatozoa in vitro. Annu. Meeting of International Embryo Transfer Society, Francia, Enero de 1997.
- Cox, J.F. 1998. Fecundación in vitro en bovinos. Taller, X Congreso Nacional de Medicina Veterinaria. Valdivia..
- Cox, J.F., F. Saravia, X. Sandoval, A. Santa María, M. Briones. 1998. Análisis computarizado del movimiento espermático en caprinos. XXIII Sochipa, 21-23 de octubre, Chillán.
- Cox, J.F., F. Saravia, X. Sandoval, A. Santa María, M. Briones. 1998. Efecto de las secreciones oviductales en la eficiencia de fecundación in vitro de espermatozoides caprinos. XXIII Sochipa, 21-23 de octubre, Chillán.
- Cox, J.F., F. Saravia, C. Adones, A. Zavala, P. Gallardo. 1998. Introducción de razas caprinas a través de la transferencia de embriones congelados. XXIII Sochipa, 21-23 de octubre, Chillán.
- Cox, J.F., M. Briones, A. Zavala, A. Bocic, A. Vega. 1998. Sincronización de estros en ganado de carne con progesterona, prostaglandina y destete temporal. XXIII Sochipa, 21-23 de octubre, Chillán.
- Sasmay, R., J.F. Cox. 1998. Estudio histológico del tracto genital tubular en cabras criollas. XXIII Sochipa, 21-23 de octubre, Chillán.



- Cox, J.F., F. Saravia, O. Torrealba, A. Zavala, A. Lobos, S. Recabarren. 1999. Comparison of reproductive responses after PGF_{2α} and GnRH-PGF_{2α} oestrous synchronisation schemes in Holstein cows. Diskin, J. Sreenan (eds). International Symposium on Fertility in the High Producing Dairy Cow. Galway, Ireland, Septiembre de 1999.
- Cox, J.F., F. Saravia, O. Torrealba, A. Zavala, A. Lobos. 1999. Field assessment of GnRH-PGF_{2α} oestrous synchronisation in confined Holstein cows. Diskin, J. Sreenan (eds). International Symposium on Fertility in the High Producing Dairy Cow. Galway, Ireland, Septiembre de 1999.
- Cox, JF, F Saravia, A Zavala, V. Alfaro, C. Rivas, A. Cortés, N Butendieck. 2000. Fecundación y desarrollo in vitro de oocitos de vacas obtenidos por punción folicular asistida por ecografía (OPU). XI Congr. Medicina Veterinaria, Santiago.
- Cox, JF, A. Zavala, C. Rivas, F. Saravia, V. Alfaro. 2000. Preñez obtenida por embriones producidos in vitro de oocitos obtenidos por punción folicular asistida por laparoscopia en cabras. XI Congreso Medicina Veterinaria, Santiago.
- Cox, JF, A Zavala, S Lagos, M Briones, F Saravia, N Butendieck. 2000. Efecto de GnRH en la sincronización de estros en base de progesterona y prostaglandina F2a en ganado de carne. XI Congreso Medicina Veterinaria, Santiago.
- Cox, JF, A Zavala, F Saravia, C Rivas, P Gallardo. 2000. Efecto del estradiol sobre la presentación del estro y el momento de ovulación en cabras. XI Congreso Medicina Veterinaria, Santiago.
- Cox, JF, A Zavala, F Saravia, C Rivas, P Gallardo. 2000. Efecto del estradiol sobre la presentación del estro y el momento de ovulación en cabras criollas. II Reunión en Rumiantes Pequeños del Mercosur. Buenos Aires, Argentina, Octubre de 2000.
- Cox, JF, F Saravia, F. Riffo, A. Zavala, V. Mansilla. 2000. Uso de hembras androgenizadas en la detección de estros de cabras sincronizadas. II Reunión en Rumiantes Pequeños del Mercosur. Buenos Aires, Argentina, Octubre de 2000.
- Cox, JF, A Zavala, F Saravia, C Rivas, V Alfaro. 2000. Eficiencia de fecundación de oocitos madurados in vitro transferidos a oviductos de cabras inseminadas: un modelo para la evaluación de la capacidad fecundante in vivo de espermatozoides caprinos. II Reunión en Rumiantes Pequeños del Mercosur. Buenos Aires, Argentina, Octubre de 2000.
- Cox, JF, A. Zavala, C. Rivas, F. Saravia, V. Alfaro. 2000. Preñez obtenida por embriones producidos in vitro de oocitos obtenidos por punción folicular asistida por laparoscopia en cabras.
II Reunión en Rumiantes Pequeños del Mercosur. Buenos Aires, Argentina, Octubre de 2000.
- Cox, JF, J. Hepburn, F Saravia, A Zavala, C Adones. 2000. Introducción de razas caprinas a través de la transferencia de embriones congelados. II Reunión en Rumiantes Pequeños del Mercosur. Buenos Aires, Argentina, Octubre de 2000.
- Cox, J.F., F. Saravia. 2001. Control artificial de la dinámica folicular en bovinos. XXVI Congreso Anual de la Sociedad Chilena de Producción Animal. Santiago, 25-27 de Julio.
- Cox, J.F., F. Saravia, A. Zavala, V. Alfaro, C. Rivas y N. Butendieck. 2001. Evaluación de la funcionalidad de embriones producidos *in vitro* a partir de oocitos obtenidos por punción folicular (OPU) en bovinos. XXVI Congreso Anual de la Sociedad Chilena de Producción Animal. Santiago, 25-27 de Julio.
- Cox, J.F., F. Saravia, A. Zavala, V. Alfaro, C. Rivas y N. Butendieck. 2001. Producción de embriones *in vitro* a partir de oocitos obtenidos por punción folicular asistida por laparoscopia en cabras. XXVI Congreso Anual de la Sociedad Chilena de Producción Animal. Santiago, 25-27 de Julio.
- Cox, J.F., F. Saravia, y J. Cané. 2001. Caracterización de la dinámica folicular y ovulación en esquemas de sincronización de estros en base de progesterona y PGF_{2α} en cabras.



XXVI Congreso Anual de la Sociedad Chilena de Producción Animal. Santiago, 25-27 de Julio.

- Cox, J.F., C. Allendes, N. Letelier, O. Torrealba y F. Saravia. 2001. Estudio de la función ovárica pos parto en vacas lecheras de alta producción. XXVI Congreso Anual de la Sociedad Chilena de Producción Animal. Santiago, 25-27 de Julio.
- F. Saravia, J. Cané y J.F. Cox. 2001. Dinámica folicular durante el ciclo estral en caprinos. XXVI Congreso Anual de la Sociedad Chilena de Producción Animal. Santiago, 25.27 de Julio.

4. Proyectos de Investigación en área de especialización (seleccionados en el tema).

Patrocinados por instituciones extranjeras.

- Santa María, A., J.F.Cox, A. Islas y S. Recabarren. Study of sexual cycle and seasonality in creole goats by means of RIA. IAEA/FAO, Proyecto N° 4259. Terminado.
- Cox, J.F., N. Sepúlveda, P. Orellana, S. Recabarren, M. Briones. Utilización de técnicas radionucleares en el apoyo a programas de mejoramiento del potencial productivo y reproductivo del ganado bovino y ovino de pequeños productores. AIEA/FAO CHI 05-1998. Terminado.

Patrocinados por Instituciones Nacionales (No de la U de C).

- Cox J.F., A. Santa María y G. Mora. Inducción de superovulación y recuperación de embriones en cabras. Fondecyt N° 85/504. Terminado.
- Cox, J.F., A. Santa María y H. González. Desarrollo de un test de penetración espermática múltiple de zona pelucida para el estudio de la Reproducción Animal. Fondecyt N°91/318. Terminado.
- Cox, J.F., A. Santa María, M. Briones, R. Garcés y R. Guzmán. Estudio de la relación existente entre la habilidad que tienen espermatozoides de chivos de experimentar capacitación in vitro y la capacidad fecundante in vitro e in vivo de sus eyaculados. Fondecyt 1940977. Terminado.
- Cox, J.F., A. Santa María, M. Briones, F. Saravia. Implementación de Laboratorio de I&D en la producción de semen y embriones en caprinos. Fondef D96/F1065. Inicio: junio de 1997. Terminado.
- Cox, J.F., F. Saravia. Utilización de GnRH y Prostaglandina F2a en el control del post parto en lecherías de alta producción. Hoechst-IAEA. Inicio, Marzo de 1997. Investigador responsable. 6 hrs (DIUC 95121001-4).
- Cox, J.F., N. Butendieck, M. Briones, B. Butendieck. Desarrollo de tecnologías competitivas para la producción de embriones bovinos de carne y leche. Fondef D97I2037.

Patrocinados por la Universidad de Concepción.

- Santa María, A., J.F.Cox y G. Mora. Transferencia de embriones en caprinos. Efecto de la aplicación de HCG en la respuesta ovulatoria de hembras superovuladas. DIUC 24-20-06. 1984-1986. Terminado.
- Santa María, A. y J.F. Cox. Congelación de semen caprino. DIUC preliminar N° 85-237. 1985. Terminado.
- Cox, J.F., A. Santa María y G. Mora. Comparación de dos métodos de recuperación de embriones. DIUC preliminar N° 85-232.1985. Terminado.



- Santa María, A. y J.F.Cox. Congelación y metabolismo espermático en semen equino. Efecto del BSA e hipotaurina sobre la viabilidad espermática. DIUC 24-20-08. 1986-1987. Terminado.
- Cox, J.F., A. Santa María y A. Islas. Sincronización de estros en cabras criollas con una combinación de progesterona y Pg F2a. DIUC preliminar N°87-255.1987. Terminado.
- Santa María, A., J.F. Cox y H. González. Uso de un test de penetración espermática múltiple de zonas pelúcidas para el estudio del transporte espermático y fertilización in vitro en rumiantes. DIUC. Terminado.

ANTECEDENTES DE RELEVANCIA ACADEMICA

- Asesor de Conicyt para la evaluación de proyectos en Salud y Producción Animal (1997-1999).
- Miembro de la Society for Study of Fertility (Inglaterra).
- Miembro de la Soc. Chilena de Producción Animal.
- Miembro de la International Goat Association (IGA, USA).
- Asociación Iberoamericana de Reproducción Animal.
- Consultor para la Fundación para la Innovación Agraria en caprinos.
- Consultor para la Asociación de Agricultores de Ñuble en Reproducción Animal.

Participación como experto (1997-2000):

- Coordinador de Area Pecuaria. Programa Nacional de Biotecnología de Aplicación Agropecuaria y Forestal. FAO-Ministerio de Agricultura.
- Consultor de la Fundación para la Innovación Agraria, Ministerio de Agricultura para la planificación de Estrategias para la Ganadería Caprina Nacional.1999.
- Miembro del Comité Ejecutivo del Comité Asesor Productivo de la Gobernación.2000.

EXTENSION

Extensión académica hacia especialistas:

- 12 charlas en simposios y conferencias hasta 1997.
- Cox, JF. Avances en el manejo reproductivo en el bovino. X Congreso Nacional de Medicina Veterinaria. Valdivia 1998.
- Cox, JF. Fecundación in vitro en bovinos. . X Congreso Nacional de Medicina Veterinaria. Valdivia 1998.
- Cox, JF. Introducción de recursos genéticos en caprinos a través del uso de inseminación artificial y transferencia de embriones. Curso Internacional de Producción y Calidad de Leche Ovina y Caprina. Chillán, 1999.
- Cox, JF. Avances en el control de la reproducción en bovinos de leche de alta producción. Soc. Chilena de Buiatría, Osorno 1999.

Proyectos y programas de extensión (1999-2000).

- Supervisión de programa de inseminación artificial en caprinos en Comuna de Lonquimay. Primer programa de inseminación en gran escala realizado en Chile. 1999-2001.
- Capacitación en Inseminación Artificial en caprinos. 12 participantes. Lonquimay, Abril de 1999.
- Introducción de caprinos Boer de carne a través de transferencia de embriones. Programa INIA
- Supervisión de programa de introducción de caprinos Boer, Ramm Chile. 1999.



- Programa de inseminación Artificial con semen caprino Boer. Lonquimay. 2000-2001.
- Capacitación en Programas de Inseminación Artificial en caprinos. Chillán, octubre de 2000.
- Establecimiento de un núcleo genético Alpino Británico en Lonquimay. FIA-U. de C. 2000-2001.
- Desarrollo de programa de producción de reproductores por transferencia de embriones en bovinos de carne. Programa de Proveedores de Carnes Ñuble-U.de C. Octubre-Diciembre 2000.





SOTOMAYOR 725 CASA A DE LA CIUDAD DE CHILLAN
Teléfono 42-276498 ó 09-3209551
Fax 42-271957
Correo electrónico E-mail:
edvaldes@beaf.cl

Eduardo Héctor Valdés Salinas

Información personal

Estado civil: Casado
Nacionalidad: Chileno
Edad: 36 años
Lugar de nacimiento: Chillán el 09 de junio de 1964
Familia: 2 hijos varones

Educación

1985 - 1990	UNIVERSIDAD DEL BÍO BÍO	CHILLAN
CONTADOR AUDITOR.		
Egresado el año 1989		
1989 - 1990	UNIVERSIDAD DEL BÍO BÍO	CHILLAN
ADMINISTRADOR DE EMPRESAS		
Egresado el año 1990		
1995 - 1997	UNIVERSIDAD DEL BÍO BÍO	CHILLAN
INGENIERO COMERCIAL		
Egresado el año 1997		

Objetivo

Mi objetivo personal y profesional es servir de nexo en el traspaso del conocimiento de Gestión.

Referencias

HORACIO BORQUEZ CONTI, Gerente General Carnes Ñuble S.A.

HECTOR CANAHUATE MARZUCA Gerente General Forestal Santa Inés Ltd

EDUARDO DE LA SOTTA Gerente General De Curimapu S.A.

Actividad dependiente

Actualmente desempeño el Cargo de Gerente de Administración y Finanzas de Carnes Ñuble S.A., Cargo que lo desempeño desde el año 1990, hasta la fecha, esta empresa tiene presencia en el ámbito nacional en el rubro de Carnes de Vacuno, y además Carnes Ñuble tiene participación en diversos negocios todos ellos relacionados directa e indirectamente con el rubro Agrícola.

Actividades independientes

Asesorías a IANSAGRO S.A. a su plana administrativa

Asesorías a Forestal Santa Inés Ltda en Gestión y Finanzas
Asesorías a Comercializadora Curimapu S.A. en Gestión



Asesoría a Agrícola Cambrales Ltda en Gestión y Finanzas
Asesoría a Fricom Ltda en Gestión y Finanzas.
Asesoría a Memboc Ltda en Gestión
Profesor ayudante de la Cátedra Costos II y Contabilidad
General en la Universidad del Bio Bio sede Chillán
Profesor Titular de la Cátedra Contabilidad General en el
Instituto Santo Tomas Sede Chillán.

Antecedentes

Conocimientos en sistemas computacionales especializados en gestión

Conocimientos en software especializados en texto, planillas de Cálculo, presentaciones, Cartas Gantt, entre otros, que tienen como objetivo facilitar las labores administrativas.

Conocimientos en materias financieras.

Conocimientos y antecedentes estadísticos de diversos sectores económicos.

Conocimiento global de la cultura de los empresarios de la zona.

EDUARDO VALDES SALINAS
CONTADOR AUDITOR
INGENIERO COMERCIAL



CURRICULUM VITAE

1. ANTECEDENTES PERSONALES.

Nombre completo: Fernando Enrique Saravia Ramos.
Fecha nacimiento: 20 de Noviembre de 1968.
Nacionalidad: Chilena.
Fecha de ingreso U.de C: Agosto de 1996.
Jerarquía: Colaborador Académico.
Facultad (U. de C.): Medicina Veterinaria.

2. TITULOS, GRADOS Y PERFECCIONAMIENTO ACADEMICO Y PROFESIONAL.

Médico Veterinario, Universidad de Concepción. 1999.

Perfeccionamiento Académico y Profesional.

Curso: Formulación y evaluación de proyectos de tipo privados y sociales. 27 de octubre-29 de noviembre 1993.
Curso de Inseminación Artificial y Transferencia de Embriones en caprinos y ovinos. IMV, Francia, 10-18 de abril de 1997.
Curso de capacitación. Estandarización de procedimientos de ultrasonografía en función ovárica en bovinos. Universidad de Concepción. 22 al 31 de enero de 1999.
Curso de Congelación de embriones. Universidad de la Frontera, Temuco enero de 2000 (40 hrs)
Curso de Pedagogía Universitaria (3 talleres). Universidad de Concepción (8 hrs.) II semestre 2000.
Curso de desarrollo de liderazgo (4 talleres). Universidad de Concepción (18 Hrs) II semestre 2000.

3. EXPERIENCIA DOCENTE EN EDUCACION SUPERIOR

Facultad de Medicina Veterinaria.

Profesor Colaborador, Reproducción Animal I y II. Estudiantes de pregrado. Desde 1996.
Profesor Colaborador, Ginecología Veterinaria. Estudiantes de pregrado. Desde 1996.
Profesor Colaborador, Obstetricia Veterinaria. Estudiantes de pregrado. Desde 1996.

Profesor Guía en Tesis de Grado.

Estudio de la reproducción post parto en vacas Holstein de alta producción. Dra. Claudia Allende. 1999.
Sincronización de estros con GnRH y Prostaglandina F2 α en vacas Holstein Friesian. Dra. Verónica Contreras. 1999.
Transferencia de embriones en caprinos. Dra. Claudia Adones. 1999.
Relación entre la migración espermática y la capacidad fecundante de espermatozoides caprinos. Dra. Paz Gallardo. 1999.
Respuesta ovulatoria en yeguas inducidas a ovular, tratadas con hCG. Dr. Miguel Muñoz Nieto. 2000
Caracterización del movimiento de espermatozoides caprinos y su relación con la fertilidad. Srta. Cecilia Rivas. 2000.
Congelación de espermatozoides caprinos. Sr. Víctor Alfaro. 2000.
Sincronización de estro en cabras criollas. Efecto de la progesterona en la dinámica folicular. Srta. Jéssica Cané. 2000.
Comparación de un esquema de sincronización de estros a base de GnRH y Prostaglandina, con una a base de Prostaglandina en vacas lecheras. Srta. Ximena Hernández. 2000.
Desarrollo de un test de penetración espermática múltiple de zonas pelúcidas en bovinos. Srta. Beatriz González. 2000.



4. EXPERIENCIA PROFESIONAL NO DOCENTE.

Publicaciones.

- Cox, J.F., F. Saravia, M. Briones y A. Santa María. 1994. Efecto de la cafeína en la capacidad fecundante de espermatozoides de chivos. Arch. Med. Vet. 26:35-42 (ISI).
- Cox, J.F., A. Catalán, F. Saravia, J. Avila y A. Santa María. 1994. In vitro fertilization of cattle and sheep follicular oocytes by goat spermatozoa. Small Ruminant Research, 15:55-58 (ISI).
- Cox, J.F., J. Avila, F. Saravia y A. Santa María. 1994. Assessment of fertilizing ability of goat spermatozoa by in vitro fertilization of cattle and sheep intact oocytes. Theriogenology, 41:1621-1629 (ISI).
- Cox, J.F., F. Saravia, A. Santa María y M. Briones. 1995. Dose-dependent effect of heparin on fertilizing ability of goat spermatozoa. Theriogenology, 44:451-460 (ISI).
- Cox, J.F., P. Fernández, F. Saravia, M. Briones, A. Santa María. 1997. Efecto de la heparina en la capacidad fecundante in vitro de espermatozoides caprinos. Arch. Med. Vet. 29:261-267. (ISI).
- Cox, J.F., C. Martínez, S. Lagos, F. Saravia, R. Sasmay. 1997. Sperm migration in cervical mucus in goats. II. Relationship with colonization of the oviduct and fertilization efficiency. Theriogenology, 47:254.
- Barahona, P., F. Saravia, A. Santa María, M. Briones, J.F. Cox. 1997. Effect of oviductal secretions and cells on fertilizing ability of goat spermatozoa in vitro. Theriogenology, 47:331.
- Cox, J.F., F. Saravia, A. Zavala, P. Fernández y R. Guzmán. 1998. Introducción de caprinos Boer al país a través de la transferencia de embriones congelados. Agro Ciencia 14:173-176.
- Cox, J.F., P. Fernández, F. Saravia y A. Santa María. 1998. Utilización de lectina Pisum sativum y yoduro de propidio para la evaluación rápida de integridad de acrosoma en espermatozoides caprinos. Arch. Med. Vet. 30: 93-99 (ISI).
- Cox, J.F., F. Saravia, V. Contreras, A. Lobos y Sergio Recabarren. 1999. Sincronización de estros con GnRH y PGF_{2α} en vacas Holstein en confinamiento. Arch. Med. Vet. 31:19-25.
- Cox, J.F., F. Saravia, O. Torrealba, A. Zavala, A. Lobos, S. Recabarren. 1999. Comparison of reproductive responses after PGF_{2α} and GnRH-PGF_{2α} oestrous synchronisation schemes in Holstein cows. Diskin, J. Sreenan (eds). Fertility and Infertility in the High Producing Dairy Cow, BSAS occasional series (en prensa).
- Cox, J.F., F. Saravia, O. Torrealba, A. Zavala, A. Lobos. 1999. Field assessment of GnRH-PGF_{2α} oestrous synchronisation in confined Holstein cows. Diskin, J. Sreenan (eds). Fertility and Infertility in the High Producing Dairy Cow, BSAS occasional series (en prensa).

Papers aprobados para publicación

Cox, J.F, F Saravia, A Zavala, P. Gallardo, H. Rodríguez-Martínez. Different efficiencies on sperm migration in cervical mucus affect colonization of the oviduct and in vivo fertilization in goats. Theriogenology.

Cox, J.F. F Saravia, A Zavala, C. Rivas, H. Rodríguez-Martínez. Fertilization efficiency of in vitro matured oocytes transferred to oviduct of inseminated females; a useful model to study in vivo fertilization performance of goat spermatozoa. Theriogenology.

En evaluación:

Cox, J.F., J. Hepburn, F. Saravia, A. Zavaia , C. Adones. Introduction of goats breeds by embryo transfer in Chile. Small Ruminat Research (Enviado)

Ponencias en Congresos y Simposios

Cox, J.F. y F. Saravia. 1992. Fecundación in vitro en ovinos. Uso de un test de penetración múltiple de zonas pelúcidas. XVIII Reunión Anual Soc. Chilena de Producción Animal. Chillán, Chile.



Cox, J.F., F. Saravia, J. Avila, A. Catalán y A. Santa María. 1992. Fecundación heteróloga de oocitos intactos usando espermios de cabra. XVIII Reunión Anual Soc. Chilena de Producción Animal. Chillán, Chile.

Cox, J.F., F Saravia, A. Santa María y M. Briones. 1993. Fecundación in vitro de oocitos madurados in vitro en bovinos. Asociación Latinoamericana de Producción Animal (ALPA). Universidad Católica de Chile, julio de 1993, Santiago.

Cox, J.F., F Saravia y A. Santa María. 1993. Uso de la fecundación de oocitos bovinos y ovinos intactos para el estudio de la capacidad fecundante de espermatozoides caprinos in vitro. Asociación Latinoamericana de Producción Animal (ALPA). Universidad Católica de Chile, julio de 1993. Santiago.

Cox, J.F., F Saravia, J. Avila y A. Santa María. 1993. Estudio de efectos específicos de la heparina en la capacidad fecundante de espermatozoides caprinos. Asociación Latinoamericana de Producción Animal (ALPA). Universidad Católica de Chile, julio de 1993, Santiago.

Cox, J.F., C. Martínez, S. Lagos, F. Saravia y R. Sasmay. Migración espermática en mucus cervical en cabras en relación con la colonización del oviducto y la eficiencia de fecundación. Reunión Anual Soc. Biología de la Reproducción y del Desarrollo, La Serena, 15-17 de agosto.

Cox, J.F., P. Barahona, F. Saravia, A. Zavala, A. Santa María. Efecto de células y secreciones oviductales en la capacidad fecundante de espermatozoides caprinos. Reunión Anual Soc. Biología de la Reproducción y del Desarrollo, La Serena, 15-17 de agosto.

Cox, J.F., F. Saravia, X. Sandoval, A. Santa María, M. Briones. 1998. Análisis computarizado del movimiento espermático en caprinos. XXIII Sochipa, 21-23 de octubre, Chillán.

Cox, J.F., F. Saravia, X. Sandoval, A. Santa María, M. Briones. 1998. Efecto de las secreciones oviductales en la eficiencia de fecundación in vitro de espermatozoides caprinos. XXIII Sochipa, 21-23 de octubre, Chillán.

Cox, J.F., F. Saravia, C. Adones, A. Zavala, P. Gallardo. 1998. Introducción de razas caprinas a través de la transferencia de embriones congelados. XXIII Sochipa, 21-23 de octubre, Chillán.

Cox, J.F., A. Zavala, F. Saravia, C. Rivas, P. Gallardo. 2000. Efecto del estradiol sobre la presentación del estro y el momento de ovulación en cabras criollas. III Congreso de Pequeños Rumiantes del MERCOSUR, 23-25 de Octubre. Buenos Aires, Argentina

Cox, J.F., F. Saravia, F. Riffo, A. Zavala, V. Mansilla. 2000. Uso de hembras androgenizadas en la detección de estros en cabras sincronizadas. III Congreso de Pequeños Rumiantes del MERCOSUR. 23-25 de Octubre, Buenos Aires, Argentina,

Cox, J.F., A. Zavala, F. Saravia, C. Rivas, V. Alfaro. 2000. Eficiencia de fecundación de oocitos madurados in vitro transferidos a oviductos de cabras inseminadas: Un modelo para la evaluación de la capacidad fecundante in vivo de espermatozoides caprinos. III Congreso de Pequeños Rumiantes del MERCOSUR, 23-25 de Octubre, Buenos Aires, Argentina.

Cox, J.F., A. Zavala, C. Rivas F. Saravia, V. Alfaro. 2000. Preñez obtenida por embriones producidos in vitro desde oocitos obtenidos por punción folicular asistida por laparoscopia en cabras. III Congreso de Pequeños Rumiantes del MERCOSUR, 23-25 de Octubre Buenos Aires, Argentina.

Cox, J.F., J. Hepburn, F. Saravia A. Zavala, C. Adones. 2000 Introducción de razas caprinas a través de la transferencia de embriones descongelados. III Congreso de Pequeños Rumiantes del MERCOSUR. 23-25 de Octubre Buenos Aires, Argentina.

Cox, J.F., F. Saravia A. Zavala, V. Alfaro. C. Rivas, A. Cortés, N. Butendieck 2000. Fecundación y desarrollo in vitro de oocitos de vaca obtenidos por punción folicular asistida por ecografía. (OPU). XI Congreso Nacional de Medicina Veterinaria, Santiago, 24-27 de Octubre.

Cox, J.F., A. Zavala, S. Lagos, M. Briones, F. Saravia, N. Butendieck. 2000. Efecto de la GnRH en la sincronización de estros en base de progesterona y prostaglandina f2 alfa en ganado de carne. XI Congreso Nacional de Medicina Veterinaria, Santiago, 24-27 de Octubre.

Cox, J.F., A. Zavala, C. Rivas F. Saravia, V. Alfaro. 2000. Preñez obtenida por embriones producidos in vitro desde oocitos obtenidos por punción folicular asistida por laparoscopia en cabras. XI Congreso Nacional de Medicina Veterinaria, Santiago, 24-27 de Octubre.

Cox, J. F., F. Saravia, F. Riffo, A. Zavala, V. Mansilla. 2000. Uso de hembras androgenizadas en la detección de estros en cabras sincronizadas. XI Congreso Nacional de Medicina Veterinaria, Santiago, 24-27 de Octubre.

Cox, J. F., A. Zavala, F. Saravia, C. Rivas, P. Gallardo. 2000. Efecto del estradiol sobre la presentación del estro y el momento de ovulación en cabras criollas. XI Congreso Nacional de Medicina Veterinaria, Santiago, 24-27 de Octubre.

Cox, J.F., F. Saravia. 2001. Control artificial de la dinámica folicular en bovinos. XXVI Congreso Anual de la Sociedad Chilena de Producción Animal. Santiago, 25-27 de Julio.



Cox, J.F., F. Saravia, A. Zavala, V. Alfaro, C. Rivas y N. Butendieck. 2001. Evaluación de la funcionalidad de embriones producidos *in vitro* a partir de oocitos obtenidos por punción folicular (OPU) en bovinos. XXVI Congreso Anual de la Sociedad Chilena de Producción Animal. Santiago, 25-27 de Julio.

Cox, J.F., F. Saravia, A. Zavala, V. Alfaro, C. Rivas y N. Butendieck. 2001. Producción de embriones *in vitro* a partir de oocitos obtenidos por punción folicular asistida por laparoscopia en cabras. XXVI Congreso Anual de la Sociedad Chilena de Producción Animal. Santiago, 25-27 de Julio.

Cox, J.F., F. Saravia, y J. Cané. 2001. Caracterización de la dinámica folicular y ovulación en esquemas de sincronización de estros en base de progesterona y PGF2 α en cabras. XXVI Congreso Anual de la Sociedad Chilena de Producción Animal. Santiago, 25-27 de Julio.

Cox, J.F., C. Allendes, N. Letelier, O. Torrealba y F. Saravia. 2001. Estudio de la función ovárica pos parto en vacas lecheras de alta producción. XXVI Congreso Anual de la Sociedad Chilena de Producción Animal. Santiago, 25-27 de Julio.

F. Saravia, J. Cané y J.F. Cox. 2001. Dinámica folicular durante el ciclo estral en caprinos. XXVI Congreso Anual de la Sociedad Chilena de Producción Animal. Santiago, 25.27 de Julio.

4. Proyectos de Investigación en área de especialización.

Patrocinados por Instituciones Nacionales (No de la U de C).

Cox, J.F., A. Santa María, M. Briones, F. Saravia. Implementación de Laboratorio de I&D en la producción de semen y embriones en caprinos. Fondef D96/F1065. Inicio: junio de 1997. Coinvestigador.

Cox, J.F., F. Saravia. Utilización de GnRH y Prostaglandina F2a en el control del post parto en lecherías de alta producción. Hoechst-IAEA. Inicio, Marzo de 1997. Coinvestigador (DIUC 95121001-4).

Cox J.F., F. Saravia, M. Briones Desarrollo de tecnologías competitivas de producción de embriones para la introducción y multiplicación acelerada de material genético superior en bovinos de leche y carne. FONDEF, D97 I2037 Coinvestigador



CURRICULUM VITAE

DATOS PERSONALES

Nombre : BARBARA ISABEL BUTENDIECK AUSTEN
Fecha de Nacimiento : 29 Septiembre 1967
Padres : Norberto Butendieck Burattini
Ursula Austen Preuss
Nacionalidad : Chilena
Cédula de Identidad :
Profesión : Bioquímico
Estado Civil : Casada
Dirección Particular : Lynch 780 , Depto.1602, Temuco
Fono (45) 214117

ESTUDIOS REALIZADOS

Primarios y Secundarios

1973-1975 : Colegio Alemán de Temuco
1976-1977 : Bell Sherman School Ithaca, New York, EE.UU.
1977-1982 : Colegio Alemán de Temuco
1983 : Colegio Alemán de Santiago, sección comercial
1984-1986 : Colegio Alemán de Temuco
1986 : Schillerschule, Hannover, República Federal de Alemania. Intercambio Estudiantil

Universitarios

1987-1992 : Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica,
Universidad Austral de Chile.



- 1993 :Práctica Profesional en Bioforest Ltda.
- 1993-1996 :Tesis de Pregrado. Trabajo de laboratorio "Optimización de la reacción de la polimerasa en cadena para la detección de *Renibacterium salmoninarum*." Profesor Patrocinante : Dra. Gloria León Rivera.
- 1996 :Obtención del Título de Bioquímico.

PUBLICACIONES

- 1994 :Noticiero de Biología Vol. 2 N° 3. "Detección de *Renibacterium salmoninarum* en ovas de salmón por amplificación génica específica." Resumen.
- 1995 :XXVII N° 2, Archivos de Medicina Veterinaria, UACH "Detección de *Renibacterium salmoninarum* por amplificación génica específica."
- 1996 :Optimización de la reacción de la polimerasa en cadena para la detección de *Renibacterium salmoninarum* . Tesis de Pregrado, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.
- 2000 :Tierra Adentro N° 33, Coautor, " Somatotrofina bovina, hechos y no supuestos." Revista divulgativa.
- 2000 :Tierra Adentro N° 34, Coautor, "¿Qué es la Somatotrofina bovina?" Revista divulgativa.
- 2001 :Agricultura Técnica Vol. 61 N° 1. " Detección de un defecto genético en bovinos mediante una prueba de ADN."

SEMINARIOS, CONGRESOS, CONFERENCIAS, CURSOS.

- 1987 : I Ciclo de Conferencias de Biotecnología. Universidad Austral de Chile, Oyente.
- 1992 :III Ciclo de Conferencias de Biotecnología. Universidad Austral de Chile, Oyente.
- 1992 :IX Congreso de la Asociación Nacional de Estudiantes de Bioquímica. Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago. Oyente.
- 1994 :II Santiago Southern Summer Symposia, Facultad de Medicina, Universidad de Chile , Santiago. Oyente.



- 1994 :XIV Jornadas Ciencias del Mar, I Jornada Chilena de Salmonicultura, Puerto Montt. Coautor Poster. (Amplificación génica : Un método sensible y específico para el diagnóstico de la enfermedad bacteriana del riñón)
- 1994 :XVI Congreso Chileno de Microbiología, Santiago. Coautor Presentación Libre. (Reacción de la polimerasa en cadena : un método específico para la detección de *Renibacterium salmoninarum*, agente etiológico del BKD.).
- 1994 :XXVII Reunión Anual de la Sociedad de Biología de Chile. Puyehue. Autor Poster. (Detección de *Renibacterium salmoninarum* en ovas de salmón por amplificación génica específica.).Resumen: Noticiero de Biología Vol. 2 N° 3 (Nov. 1994)
- 1995 :III Santiago Southern Summer Symposia, Facultad de Medicina, Universidad de Chile , Santiago. Oyente.
- 1998 :XII Reunión Anual Sociedad de Biología Celular de Chile y XXI Reunión Anual Sociedad de Bioquímica y Biología Molecular de Chile. Oyente.
- 1999 :Curso de entrenamiento de manipulación, biopsia y sexaje de embriones bovinos en el Laboratorio LTR del CIZ, en Cremona, ITALIA.
- 1999 :Visita al Laboratorio de Genética molecular de la Escuela Superior de Medicina Veterinaria en Hannover, ALEMANIA.
- 1999 :5° Simposium Latinoamericano en Aplicaciones de la Electroforesis Capilar en Biotecnología, Biomedicina, Biofarmacia e Industria LACE'99 Acapulco, Mexico.
- 1999 :Curso pre-simposio teórico practico: Principios básicos y aplicaciones de la electroforesis capilar en las Ciencias Químico Biológicas. En Acapulco, MEXICO.

EXPERIENCIA LABORAL:

- Agosto 1998 a la fecha :Ayudante de investigación en el proyecto FONDEF D9712037 "Desarrollo de tecnologías competitivas de producción de embriones para la introducción y multiplicación acelerada de material genético superior en bovinos de leche y carne", que se realiza en INIA Carillanca, en conjunto con la Facultad de Medicina



Veterinaria de la Universidad de Concepción sede
Chillán.

IDIOMAS

Alemán : lee, habla, escribe
Inglés : lee, habla, escribe

MANEJO COMPUTACIONAL

A nivel de usuario : Windows
Word
Power Point
Excel
Adobe Photo delux
Internet Explorer
MS Photo editor



CURRICULUM VITAE

1. ANTECEDENTES PERSONALES.

Nombre completo: René Edgardo Ortega Vásquez
RUT:
Fecha nacimiento: 19 de julio de 1974.
Nacionalidad: Chilena.
Fecha de ingreso U.de C: Agosto de 2000.
Jerarquía: Instructor.
Facultad (U. de C.): Medicina Veterinaria.
Email: rortegav@latinmail.com

2. TITULOS Y GRADOS.

Médico Veterinario, Universidad de Chile. 2000.

3. EXPERIENCIA DOCENTE EN EDUCACION SUPERIOR

Facultad de. Medicina Veterinaria.

Profesor Responsable: Asignatura de Virología. Desde 2001.

Publicaciones.

Celedón, MO., R Ortega, M Scorti, J Pizarro, L Ibarra. 1998. Comparación de la prueba de inmunofluorescencia en linfocitos con el aislamiento viral en el diagnóstico del virus diarrea viral bovina. Archivos de Medicina Veterinaria. Vol. XXX, N° extraordinario. Resumen X Congreso Nacional de Medicina Veterinaria. Valdivia, Chile. 1-4 Abril, 1998. pp 19-20.



CURRICULUM VITAE

1.- Antecedentes Personales:

Nombre Completo: **OSCAR HERNAN TORREALBA MUNITA**

Fecha de nacimiento: 20 de Noviembre de 1955

Cédula de Identidad

Nacionalidad Chilena

Estado civil Casado

Dirección Jardín del Este Parcela 9, Chillán
Casilla 475, Chillán.

Teléfono 42-275806 - 098837752

E-mail torrealbaj@entelchile.net ohtm82@mi.terra.cl

2.- Títulos, Grados y Perfeccionamiento Académico y Profesional:

Médico Veterinario, (obtenido con Distinción Máxima), Facultad de Ciencias Pecuarias y Medicina Veterinaria, Universidad de Chile, Sede Santiago Sur. Estudios entre 1973 y 1978.

Licenciado en Ciencias Pecuarias y Medicina Veterinaria, obtenido en 1978, Facultad de Ciencias Pecuarias y Medicina Veterinaria, Universidad de Chile, Sede Santiago Sur.

*Curso " Computación para Profesionales del Area Agropecuaria".
Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Chile, calificación obtenida, 94% (1- 100%), Abril a Mayo de 1979.

*Curso "Los Radiofármacos", Vicerrectoría de Extensión y Comunicaciones, Universidad de Chile, 19 de Junio al 26 de Julio de 1979.

*Jornadas "Avances en Farmacología y Terapéuticas Veterinarias", Dpto. de Ciencias Clínicas, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Chile. 19 al 23 de Noviembre de 1979.

*Seminario " Capacitación Agrícola", Facultad de Agronomía, Pontificia Universidad Católica de Chile, Ministerio del Trabajo (Cense) Abril 1980.



- *Participación en conferencias: Consideraciones sobre aspectos de Genética, Alimentación, Reproducción y calidad de leche en bovinos de alta producción, Asociación Latinoamericana de Producción Animal, Pontificia Universidad Católica de Chile, Julio 26 de 1980.
- *Seminario "Producción de Leche", INIA Quilamapu, Chillán, Agosto de 1981.
- *Seminario "Producción Lechera y cultivo del maíz para ensilaje", INIA Quilamapu Chillán, septiembre 30 de 1981.
- *Curso "Neuroendocrinología de la reproducción y control de la ovulación", Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales, Dpto. de Medicina Veterinaria, Universidad de Concepción, 11 y 12 de Diciembre de 1981.
- *Curso "Patología reproductiva de la hembra bovina", Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales, Dpto. de Medicina Veterinaria Universidad de Concepción, 6 y 7 de Octubre de 1983.
- *Seminario "Análisis Técnico económico del cultivo del Maíz en Chile, Facultad de Agronomía, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago 1 y 2 de Agosto de 1984.
- *"Jornada del Productor lechero", Agrozzi División Agrícola Carozzi Santiago, Junio de 1985.
- *Curso "Factores que influyen la fertilidad de la vaca lechera en puerperio y post-puerperio", Escuela de Post Grado, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile, Mayo 1987.
- *Curso de Perfeccionamiento, "Quintas Jornadas de Producción Cunicola", Depto. de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales, Universidad de Concepción, Diciembre 1987.
- *Jornada de "Leucosis Bovina", Dirección de Extensión, Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales, Universidad de Concepción, Junio de 1988.
- *Panel "Tuberculosis Bovina", Colegio Medico Veterinario de Chile, Consejo Provincial Ñuble, Julio de 1988.
- *Curso "Genética y Fertilidad en Bovinos lecheros de alta producción", Escuela Post Grado, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile, Agosto de 1988.



- *Curso "Calidad de Leche y Mastitis", Facultad de Ciencias Agronómicas Veterinarias y Forestales, Universidad de Concepción, Octubre de 1990.
- *Curso "Primeras Jornadas de Producción de Carne Bovina", Colegio Médico Veterinario de Chile, Consejo Provincial Ñuble, Junio de 1991, (Director).
- *Curso "Segundas Jornadas de Producción de Carne Bovina", Colegio Médico Veterinario de Chile, Consejo Provincial Ñuble, Agosto de 1992, (Director).
- *Curso "Diseño de Instalaciones y manejo ambiental para rebaños lecheros de alta producción", (Profesor William Bickert, Michigan State University), Escuela de Post Grado, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile, 4 y 5 de Noviembre de 1992.
- *Curso "Sistema de manejo de Estiércol e Instalaciones de ordeña para rebaños lecheros de alta producción", (Profesor William Bickert, Michigan State University), Escuela de Post Grado, facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile, 4 y 5 de Agosto de 1994.
- *Seminario Internacional "Manejo y utilización de Purines en lechería Escuela Agrícola El Huertón, SNA, Los Angeles, 29 y 30 de Mayo de 1996, participación Profesor William Bickert, Michigan State University.
- *Curso "Alfalfa, Avances en Manejo y Utilización", Colegio de Ingenieros Agrónomos de Ñuble AG, Chillán, 19 de Julio de 1996.
- *Simposio Internacional "Bioclimatología, infraestructura y reproducción en rebaños de alta producción", Laboratorio de Fisiología y Endocrinología Animal, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad de Concepción, Chillán 25 de Octubre de 1996.
- *"Terceras jornadas Chilenas de Buiatría", Sociedad Chilena de Buiatría, Osorno, Chile, 10-11 y 12 de Abril de 1997.
- *"Segundas Jornadas de Producción Animal, Innovaciones en producción de leche", Facultad de medicina Veterinaria, Universidad de Concepción, Depto. de Ciencias Pecuarias, Diciembre de 1997.
- *"Seminario Internacional Manejo Reproductivo de Vacas lecheras de alta producción", INIA Quilamapu y Cooperativa Agrícola Lechera Bio-Bio Ltda., Los Angeles, Mayo 13 de 1998.
- *Seminario "Difusión Gestión de Residuos Agroindustriales", proyecto FDI-CORFO, INTEC, Chile, Noviembre 1998.



*Participación en conferencias: "Consideraciones sobre aspectos de Genética, Alimentación, Reproducción y Calidad de leche en bovinos de Alta Producción", Asociación Latinoamericana de producción Animal, Pontificia Universidad Católica de Chile, Julio de 1980.

3.- Experiencia Docente en Educación Superior

3.1- *Noviembre de 1978 a Agosto de 1980, Académico Jornada Completa Grupo de Radiología, Departamento de Ciencias Clínicas, Facultad de Ciencias Pecuarias y Medicina Veterinaria, Universidad de Chile.

*1979, Participación como Profesor a cargo del Curso Tecnología Radiología, Departamento de Ciencias Clínicas, Facultad de Ciencias Pecuarias y Medicina Veterinaria, Universidad de Chile.

*1980, Participación Docente en la Asignatura Patología Quirúrgica, Facultad de Ciencias Pecuarias y Medicina Veterinaria, Universidad de Chile (los 2 semestres académicos).

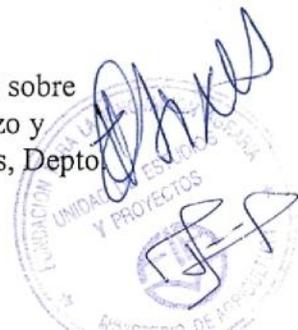
3.2- *Profesor encargado de la Asignatura "Asistencia Predial", dictado para alumnos de Medicina Veterinaria (noveno y décimo semestre), Facultad de Ciencias Agronómicas, Veterinarias y Forestales, Universidad de Concepción, años 1992 y 1993.

3.3- *Dirección de Tesis: "Estudio del patrón Venoso cerebral del perro mediante Venografía". Trabajo realizado entre Junio y Octubre de 1979. Facultad de Ciencias Pecuarias y Medicina Veterinaria, Universidad de Chile. Condujo al título de Médico Veterinario.

*Dirección de Tesis: "Estudio Radiológico evolutivo del cierre del cartílago de conjunción epifisiario distal del radio y su relación con niveles de fosfata alcalina sérica en potrillos FS de carrera de 24 a 26 meses de edad". Trabajo ejecutado entre Diciembre de 1979 a Diciembre de 1980. Facultad de Ciencias Pecuarias y Medicina Veterinaria, Universidad de Chile. Condujo al título de Médico Veterinario.

*Dirección de Tesis: "Estudio Radiológico anatómo patológico y determinación de grupos aldehídos libres de líquido sinovial en afecciones degenerativas de la articulación podotrocLEAR del equino". Trabajo ejecutado entre Enero de 1980 y Enero de 1981. Facultad de de Ciencias veterinarias, Universidad de Chile. Condujo al título de Médico Veterinario.

*Dirección de Tesis: "Efectos de alimentos microbiales directos (probióticos) sobre parámetros productivos en terneros de lechería". Trabajo realizado entre Marzo y Octubre de 1992. Facultad de Ciencias Agronómicas, veterinarias y Forestales, Depto



de Medicina Veterinaria, Universidad de Concepción. Condujo al título de Médico Veterinario.

*Dirección de Tesis: "Prevalencia de patologías podales claudicógenas en vacas lecheras de alta producción en confinamiento permanente", en la comuna de San Carlos, Ñuble VIII región. Trabajo realizado de Enero a Diciembre de 1993. Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad de Concepción. Condujo al título de Médico Veterinario.

*Dirección de Tesis: "Efecto de la suplementación de minerales quelados sobre algunos parámetros productivos y hematológicos en terneros de lechería con diferentes sistemas de alimentación". Trabajo realizado entre Enero y Diciembre de 1994. Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad de Concepción. Condujo al título de Médico Veterinario.

3.4- *Enero de 1979 a Julio de 1980. Prestación de servicios Radiológicos, manejo de equipos, Radiodiagnóstico y encargado de la farmacia veterinaria, Departamento de Medicina, Clínica y Cirugía, facultad de Ciencias Pecuarias y Medicina Veterinaria, Universidad de Chile.

*Asesor y coordinador de Prácticas profesionales para alumnos del Liceo Agrícola de Cato (A-8) (Corporación de Desarrollo Social del Sector Rural, Codesser). 1987

*Coordinador de Prácticas estivales en la VIII región para alumnos de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile, años 1984 a 1988.

*Apoyo docente y clases en terreno a la asignatura Clínica Mayor, Dpto. de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias Agronómicas Veterinarias y Forestales, Universidad de Concepción, año 1991.

4.- Experiencia Profesional no Docente.

*Administrador y Asesor del Criadero La Serena (Comuna de San Carlos, Ñuble) dedicado a Producción de Leche con raza Holstein Fresian. Años 1980 a 1988. Posteriormente Asesor en Producción Animal hasta la fecha.

*Misión Comercial Arequipa, Perú, venta de vaquillas finas registradas Holstein Fresian, Convenio Prochile y Comité de Desarrollo Ganadero de la Octava Región. Diciembre de 1986.



*Administrador Fundo Itihue (Comuna de San Carlos Ñuble), dedicado a ganadería bovina de carne, raza Angus, agricultura tradicional y fruticultura. Desde Enero de 1987 a Diciembre de 1989.

*Director Gerente Empresa Agroveterinaria Petrohué Limitada, Comuna San Carlos Ñuble, dedicada a servicios y asesorías profesionales especializadas en producción bovina, representación oficial para la Octava Región de Holstein Chile, área agrocomercial y corretajes. Años 1986 a 1996.

*Asesor especialista en producción bovina en áreas de nutrición, reproducción, sanidad y manejo, principalmente en sistemas lecheros de alta producción en predios de la VII y VIII regiones. Planificación, desarrollo y ejecución de varios proyectos de infraestructura, emplazamiento y procedimientos de producción de leche y carne, hoy en funcionamiento. Además desde 1980 a la fecha variadas asesorías en predios de producción intensiva de carne en la VIII Región.

*Gerente de la Asociación Gremial de Productores de Leche de Ñuble, desde Junio 1997 a Diciembre de 1999.

*Gerente de Prolesac. Empresa relacionada a Profo Lechero de San Carlos Ñuble, durante el segundo semestre de 1998.

*Asesor en producción de carne, aspectos de manejo y nutrición, Programa de Desarrollo de Proveedores, PDP Carnes Ñuble S.A., Junio 1999 a la fecha.

Trabajo en Investigación.

*Estudio autoradiográfico renal en ratas y caninos con I 113 M, División de Radioisótopos, Centro de Estudios Nucleares de La Reina, Santiago, Comisión Chilena de Energía Nuclear, Enero de 1978 a Abril de 1979.

*Coinvestigador Proyecto "Estudio de Afecciones Ósteoarticulares del equino en Chile", número A589-79, Servicio de Desarrollo Científico, Artístico y Cooperación Internacional, Universidad de Chile, Octubre de 1979 a Octubre de 1980.

*Autor del trabajo "Distribución Biológica y Comparativa de Radiofármacos para estudio renal. Evaluación de algunos radiofármacos de ubicación renal y Autoradiografía". Presentado en la X Convención Nacional de Médicos



Veterinarios, Santiago 25 al 27 de Julio de 1979.
(Aceptado para su publicación).

*Autor del trabajo "Panosteítis Eosinofílica del Canino. Primera descripción en Chile". Presentado en el II Congreso Nacional de Medicina Veterinaria, Valdivia Noviembre de 1979. (Aceptado para su publicación).

* Colaborador Proyecto Investigación Desarrollo biotecnológico de embriones bovinos para mejoramiento genético en leche y carne, Universidad de Concepción, 1998 a la fecha.

*Expositor X Convención Nacional de Médicos Veterinarios, Sociedad de Medicina Veterinaria de Chile, 25 - 27 de Julio de 1979.

*Participación Programa de Producción Agropecuaria y Desarrollo Provincial de Ñuble, Fase I San Carlos , Abril de 1980 a Marzo de 1981. Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile.

*XIII Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias, Santiago de Chile, 5 al 9 de 1992. Coordinador Técnico de sección "Bovinos Producción".

*Colaborador Técnico Revistas "Agroanálisis" y "Holstein Chile" (Circulación nacional). Desde 1988 a 1996.

*Conferencia "Medio Ambiente e Infraestructuras en Producción de Leche", desarrollada para la Asociación de Productores Lecheros de Linares, Mayo de 1994.

*Autor publicación Técnica "Ensilaje de Maíz". Trabajo elaborado para Semillas Tracy, 1996.

*Conferencia "Maíz para Ensilaje, Desafío en la Alimentación Bovina de alto rendimiento". Iansa, Semillas Tracy. Talca Septiembre de 1998.

encia "Producción Bovina de Carne", grupo GTT engorda y Frutícola Talca, Junio de 2000, Mayo de 2001.

cedentes.



*Participación en la 105 FERIA Internacional de Santiago, FISA 1975. Premio Sociedad Nacional de Agricultura por Juzgamiento Raza Holandés Europea.

*Secretario Coordinador Grupo Transferencia Tecnológica GTT N° 2 Lechero San Carlos, compuesto por 15 agricultores involucrando una superficie de 3.500 hectáreas de riego, cultivos tradicionales, ganadería y fruticultura. 1983 a 1986.

*Director de la Asociación Gremial de San Carlos, participando en todas las actividades inherentes al cargo y en trabajos específicos con la Secretaría Ministerial de Agricultura, VIII región. 1984 a 1990.

*Participación en el I Encuentro Nacional GTT (Pucón), Agosto de 1987.

*Director y Asesor Técnico del Comité Organizador de la Exposición Agrícola y Ganadera de San Carlos, AGROEXPO, Provincia de Ñuble 1980 a la fecha.

*Participación en la Elaboración de Objetivos y Matriz del Profo Lechero de San Carlos, Provincia de Ñuble, 1995.

*Autor de "Estudio Diagnóstico Tecnológico Lechero", realizado en 1996, a solicitud del Profo Lechero de San Carlos, para 8 lecherías de Empresarios integrantes del mismo.

*Director de la "Asociación Gremial de Productores de Leche de Ñuble", Aproleche Ñuble desde Enero de 1999 a la fecha.

*Congreso Producción intensiva de Carne, Forrajes y Granos Journal, Argentina, General La Madrid, Las Flores, Buenos Aires. Septiembre 1999.

*Curso Post Grado "Suplementación Invernal de Bovinos de Carne", Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional de Mar del Plata, Balcarce, Argentina, del 28 de Noviembre al 8 de Diciembre de 1999.

*Congreso Mundial Hereford, Buenos Aires, Argentina, Abril del 2000. Incluyó gira tecnológica a La Plata, predios de producción orgánica, estancias de cría y engorda en Mar del Plata.

*Idiomas: Inglés, lectura y comprensión.



*Computación: Office 97, nivel usuario.

del 2001.

Oscar To
Médico
R.C.I

inita

