

FOLIO
BASES

537-856-5

CÓDIGO
(Uso interno)

FIA-PI-C-2005-1- P - 097

SECCIÓN 1 : ANTECEDENTES GENERALES DEL PROYECTO

NOMBRE DEL PROYECTO: "Conservación de genofondos de especies animales silvestres nativas y endémicas en peligro de extinción"

LÍNEA(S) TEMÁTICA(S): Biotecnología

RUBRO(S): Conservación y caracterización del patrimonio genético nacional

REGION(ES) DE EJECUCIÓN: Octava

FECHA DE INICIO (dd/mm/aaaa): 15/12/05

FECHA DE TÉRMINO (dd/mm/aaaa): 15/03/09

DURACIÓN (meses): 39

AGENTE POSTULANTE O EJECUTOR

Nombre : Universidad de Concepción. Sede Chillán
RUT : 81.494.400-K
Dirección : Avenida Vicente Méndez 595. Ciudad Chillán, VIII región
Fono : 42-208979
Fax : 42-270212 **E-mail** : fidcastro@udec.cl
Web : <http://www.veterinariaudec.cl/>
Cuenta Bancaria :

AGENTES ASOCIADOS

Este es un proyecto que llevará a cabo la Universidad de Concepción



Info pro
[Signature]

REPRESENTANTE LEGAL DEL AGENTE POSTULANTE

(Completar además los datos personales en la Ficha del Anexo 1)

- **Nombres y Apellidos** : Alejandro Santamaría Sanzana
- **Dirección y Comuna** : Avenida Vicente Méndez 595. Chillán. VIII Región
- **Fono** : 42-20-8705
- **Fax** : 42-270212
- **E-mail** : asantamaria@udec.cl

COSTO TOTAL DEL PROYECTO (Valores Reajustados)	: \$	160.648.043		
FINANCIAMIENTO SOLICITADO A FIA (Valores Reajustados)	: \$	102.194.504	63.6	%
APORTE DE CONTRAPARTE (Valores Reajustados)	: \$	58.453.539	36.4	%






SECCIÓN 2 : EQUIPO DE COORDINACIÓN Y EQUIPO TÉCNICO DEL PROYECTO

2.1. Equipo de Coordinación del Proyecto

COORDINADOR DEL PROYECTO

- Nombres y Apellidos : Fidel Ovidio Castro Reboredo
- Dedicación Proyecto (% año) : 30% / año
- Cargo o actividad que realiza : Colaborador académico
- Dirección y Comuna : Avenida Vicente Méndez 595
- Región :VIII del Bío-Bío
- Ciudad :Chillán
- Fono :42-208979
- Fax :42-270212
- E-mail :fidcastro@udec.cl

COORDINADOR ALTERNO DEL PROYECTO

- Nombres y Apellidos :Oscar Enrique Skewes Ramm
- Dedicación Proyecto (% año) :10% / año
- Cargo o actividad que realiza :Profesor Asociado
- Dirección y Comuna : Avenida Vicente Méndez 595
- Región :VIII del Bío-Bío
- Ciudad :Chillán
- Fono :42-208841
- Fax :42-270212
- E-mail :oskewes@udec.cl



2.2. Equipo Técnico del Proyecto

(Completar además los datos personales en la Ficha del Anexo 1 y presentar los curriculum vitae en Anexo 2)

Nombre Completo	Profesión	Especialidad	Función y Actividad en el Proyecto	Dedicación al Proyecto (% año)
Lleretny Rodríguez Alvarez	Biólogo	Biología celular y molecular. Cultivo de tejidos	Responsable de obtener, caracterizar y conservar los cultivos primarios	100
Fidel Ovidio Castro	Ingeniero Zootecnista	Biología celular y molecular. Reproducción animal	Director, responsable del establecimiento del Banco de Recursos Genéticos	30
Pedro Rojas García	Médico Veterinario	Fisiología	Caracterización molecular de los cultivos. Toma de muestras	10
José Cox Ureta	Médico Veterinario	Reproducción Animal	Congelación de semen, ovarios, ovocitos y embriones	10
Oscar Skewes Ramm	Médico Veterinario	Fauna Silvestre	Coordinador alternativo del proyecto. Diseño de estrategias de conservación y evaluación. Toma de muestras	10
Asistente # 1	Técnico		Manutención del banco congelado	10




SECCIÓN 3 : BREVE RESUMEN DEL PROYECTO

El presente proyecto presentado por la Universidad de Concepción, responde a la necesidad de desarrollar nuevas tecnologías que permitan salvaguardar los recursos genéticos autóctonos de animales en peligro de extinción de Chile, así como de crear las bases para esfuerzos de mayor envergadura que impliquen la conservación de otros valiosos recursos genéticos, no sólo amenazados de extinción, sino de alto valor económico.

Por medio de la introducción de biotecnologías de punta, este proyecto pretende crear un Banco de Recursos Genéticos a partir de biopsias tomadas de animales en distintos grados de amenaza de extinción, de las cuales se desarrollarán cultivos primarios celulares in vitro que serán criopreservados, de modo que se pueda dotar al país de un verdadero reservorio de células funcionales, de alto valor agregado, útiles en investigaciones científicas de distinta índole, tales como estudios de epidemiología molecular de enfermedades que azotan a estas especies, caracterización y filogenia de razas y sobre todo, con vistas a su uso en un futuro, quizá no tan lejano como donantes de núcleo para la clonación somática y por ende el rescate de especies.

Como resultado del proyecto además se fundarán las bases en Chile para un mayor uso de las tecnologías modernas en función de la conservación y la salvaguarda de los recursos genéticos. En la actualidad a pesar de la voluntad política y de la existencia de un marco regulatorio, Chile adolece de un banco de recursos genéticos criopreservados y no se vislumbran mayores esfuerzos por establecerlo. De ahí, la importancia medular de este proyecto como base para la ampliación de la experiencia de la Universidad de Concepción, a otros centros de investigación del país que decidan introducirse en esta apasionante y necesaria área de investigaciones.






Los resultados de este Banco serán patrimonio de Chile y estarán disponible a otros investigadores y colegas que necesiten los recursos genéticos aquí guardados en función de intereses diversos de la biología conservacionista.

Como evidencia de las posibles aplicaciones de esta tecnología, el colectivo del proyecto se propone producir embriones clonados in vitro a partir de huumules, utilizando como receptores, ovocitos de ciervas rojas y de vacas. Esto constituirá el primer paso en el establecimiento de la transferencia nuclear somática o clonación como herramienta en la conservación y rescate de especies amenazadas por los daños ecológicos producidos por el hombre.

Con una duración de 39 meses, el proyecto contempla 4 líneas de trabajo, dos de ellas, relacionadas con la creación de un banco congelado de recursos genéticos de las 8 especies más amenazadas de extinción en Chile (7 de mamíferos y 1 de aves) se centrarán en la implementación de las metodologías necesarias para desarrollar cultivos primarios in vitro a partir de biopsias de los animales y su adecuada conservación en congelación. Una tercera dirección de trabajo se centrará en el establecimiento de los controles adecuados y la documentación requerida para convertir el Banco en un sistema funcional e interactivo de alto valor y la cuarta línea de investigaciones tratará de ajustar las tecnologías existentes en Chile y el mundo al rescate de huumules mediante la clonación somática inter específica.

El proyecto cuenta con expertos en la materia y con la experiencia científica y práctica requerida para el éxito de sus objetivos. Además cuenta con el respaldo de la infraestructura y equipos disponibles en la Universidad de Concepción y con los contactos en la Red Nacional de Biodiversidad para poder concretar esta iniciativa.



SECCIÓN 4 : IDENTIFICACIÓN DEL PROBLEMA A RESOLVER

La diversidad biológica es vital para mantener la vida del modo que la entendemos. Sin embargo, el rápido crecimiento de la población del planeta ha puesto una extraordinaria presión sobre los ecosistemas, tales como destrucción ambiental a gran escala, la conversión, reducción y destrucción de hábitat y la contaminación. Una de las reacciones a este problema, ha sido el surgimiento de la biología de la conservación, una suerte de mezcla de disciplinas científicas que se enfocan en la biodiversidad a través de la cooperación de ideas, informaciones y aproximaciones a la realidad actual de la flora y fauna del planeta.

Actualmente hay más de 5000 especies de animales ubicadas en las diferentes gradaciones de peligro de extinción. De éstas, 25% son mamíferos y 11% aves, (Cofré y Marquet; 1999). Un gran número de especies de reptiles, anfibios y peces también se encuentran amenazadas.

Chile es hogar para una diversidad única de hermosos ejemplares de peces, aves y mamíferos, cuya función no es meramente decorativa, sino que cumplen un importante papel en el funcionamiento del ecosistema. En el país se han iniciado esfuerzos por entender la magnitud del problema de conservación de la fauna autóctona, con vistas a trazar estrategias de salvamento y protección. No obstante, es poco lo que se ha hecho y la evolución de la temática ha sido relativamente corta. Como resultado de las investigaciones más recientes (Cofré y Marquet; 1999) se han identificado 49 de 82 (60%) especies de mamíferos en Chile que deben ser priorizadas en programas de conservación.

Del total de especies en algún grado de peligro, 16 son consideradas en equilibrio frágil, 12, como vulnerables, 11 en peligro y 3 críticas. Igualmente 8 especies de aves fue consideradas como críticas.



El enfoque científico actual para la protección de estas especies, combina los avances en las técnicas de cultivo celular, biotecnología reproductiva e ingeniería genética y biología molecular, en aras de desarrollar programas multidisciplinarios que permitan salvaguardar el potencial genético autóctono para las futuras generaciones, así como a la conservación y aseguramiento de las mejores razas de la agricultura doméstica con vistas a su empleo comercial.

Una de las estrategias esenciales ha sido la creación de criobancos o Bancos de Recursos Genómicos (BRG), que constituyen reservorios de muestras colectadas sistemáticamente, ya sean gametos, productos sanguíneos, tejidos o ADN con fines de conservación. Los BRGs pueden mitigar los efectos de la presión selectiva artificialmente ejercida por el hombre sobre los animales, la deriva genética y la consanguinidad mediante la oferta de nuevas fuentes de germoplasma, o sea de nuevos genes que pueden ser introducidos en poblaciones pequeñas o fragmentadas.

De acuerdo a los antecedentes mencionados, el problema que se desea abordar por medio de la implementación del proyecto es establecer un Banco de Recursos Genéticos de animales en amenaza de extinción en Chile, con sede en la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad de Concepción, en el Campus Chillán. En una primera etapa este banco centraría su atención y esfuerzos en 8 especies en categoría de peligro de extinción y crítica. Las especies en cuestión serían: *Hippocamelus antisensis* (Taruca), *Pseudalopex fulvipes* (Zorro chilote), *Chinchilla lanigera* (Chinchilla), *Hippocamelus bisulcus* (Huemul del Sur), *Ryncholestes raphanurus* (Comadreja), *Lontra provocax* (Huillún), *Oncifelis guigna* (Huiña) todos mamíferos y una especie de aves, el Picaflor de Juan Fernández *Sephanoides fernandensis*.



Se prevé a largo plazo la apertura del BRG a otras especies con menor grado de amenaza, así como a animales domésticos de alto valor genético, productivo y comercial.

Debido a la escasez de ejemplares de las especies a conservar y por ende las dificultades inherentes a su captura o inmovilización, se propone un enfoque minimalista en el cual se le da prioridad a la toma de biopsias cutáneas o de pelos conteniendo folículos pilosos, a partir de las cuales se deriven in vitro, líneas de cultivos celulares. Estas serán adecuadamente caracterizadas y conservadas en congelación como garantía de preservación de material genético de la especie y en la espera del perfeccionamiento de técnicas modernas como la transferencia nuclear somática o clonación que permitirán restablecer poblaciones de animales a partir de células somáticas, como ya se ha logrado en varias especies (ver sección 5. Antecedentes y justificación).

Adicionalmente se propone, en aquellos casos que sea posible, la toma y conservación de muestras de semen de machos capturados, de ovarios u ovocitos de hembras a sacrificar y de embriones en el eventual caso de poder producirlos. Se guardarán muestras de sangre y plasma sanguíneo para análisis genómicos y veterinarios.



SECCIÓN 5 : ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO

5.1. Antecedentes generales y justificación

Actualmente hay más de 5000 especies de animales ubicadas en las diferentes gradaciones de peligro de extinción. De éstas, 25% son mamíferos y 11% aves, (Cofré y Marquet; 1999). Un gran número de especies de reptiles, anfibios y peces también se encuentran amenazadas.

En países de fauna tan variada y con alto grado de endemismo, como Australia, desde el asentamiento de los europeos, hace menos de 300 años, han desaparecido al menos 19 especies de mamíferos, 20 de aves y 3 de anfibios y en este momento se encuentran amenazadas al menos 43 especies de mamíferos, 29 de anfibios, 512 de reptiles y 17 de peces de agua dulce. Estos datos brindan una idea del daño que nuestras costumbres de vida están infligiendo al reino animal. (The Animal Gene Storage and Resource Centre of Australia. Monash Institute of Reproduction and Development página web).

La diversidad biológica es vital para mantener la vida del modo que la entendemos. Sin embargo, el rápido crecimiento de la población del planeta ha puesto una extraordinaria presión sobre los ecosistemas, tales como destrucción ambiental a gran escala, la conversión, reducción y destrucción de hábitat y la polución. Una de las reacciones a este problema, ha sido el surgimiento de la biología de la conservación, una suerte de mezcla de disciplinas científicas que se enfocan en la biodiversidad a través de la cooperación de ideas, informaciones y aproximaciones a la realidad actual de la flora y fauna del planeta.

Una de las estrategias esenciales ha sido la creación de criobancos o Bancos de Recursos Genómicos (BRG), que constituyen reservorios de muestras colectadas



sistemáticamente, ya sean gametos, productos sanguíneos, tejidos o ADN con fines de conservación. Los BRGs pueden mitigar los efectos de la presión selectiva artificialmente ejercida por el hombre sobre los animales, la deriva genética y la consanguinidad mediante la oferta de nuevas fuentes de germoplasma, o sea de nuevos genes que pueden ser introducidos en poblaciones pequeñas o fragmentadas. Por ejemplo, en lugar de transportar animales en peligro de extinción, lo que constituye una fuente de estrés, la heterogeneidad genética puede ser mantenida mediante el envío de semen o de embriones de estos animales. Se ha empleado con éxito la inseminación artificial en tigres de Sumatra que aún subsisten en hábitat fragmentados de Indonesia (Tilson and Brady 1992).

Las poblaciones pequeñas son susceptibles a catástrofes ambientales, cambios políticos o epizootias que las destruyan. El efecto dañino sobre estas poblaciones, puede ser tan sencillo como el que provoque el derrame de petróleo de un carguero, o tan complejo como el provocado por una guerra o una epidemia. Por ejemplo el hurón de patas negras (*Mustela nigripes*) se extinguió en el oeste americano, primero por la eliminación causada por el hombre de sus fuentes de nutrición y después por una epidemia de moquillo canino (distemper) en los años 80 del siglo pasado (Seal et al. 1988). La catástrofe se hubiera podido evitar si se hubieran guardado muestras de semen de machos seleccionados antes que la epidemia se hiciera aguda.

La diversidad genética se extingue cuando no hay más animales aptos para reproducirse (Ballou 1992). Sin embargo, mientras exista material genético criopreservado en forma de semen o de embriones, los genes no se extinguen con la desaparición del animal. Por ejemplo, se ha logrado criopreservar semen de toros por más de 50 años sin que éste pierda su capacidad fecundante (Leibo 1994).

Usualmente el concepto de banco de germoplasma ha estado asociado a la conservación de semen y embriones, pero la colecta de sangre y de tejidos es tan importante como la de material reproductivo. Estos materiales tienen una amplia



gama de usos en programas de conservación, tales como estudios de variación genética, filogenia, paternidad y de los procesos que subyacen la diversidad como el flujo de genes, la selección y el apareo. Se han empleado técnicas moleculares para responder a muchas necesidades prácticas de la conservación de las especies, incluyendo la cuantificación del grado de hibridación de la pantera de la florida (*Felis concolor coryi*), en peligro de extinción o el impacto de 200 años de sacrificio de las ballenas jorobadas (*Megaptera novaeanglia*) (O'Brien 1994a, 1994b). Para ambos estudios se requirió el uso de muchas muestras de sangre almacenadas en BRGs.

La sangre además puede ser empleada para el análisis del bienestar de los animales y si se le conserva adecuadamente, puede en un momento determinado arrojar luz sobre la causa o el momento del inicio de una epidemia devastadora en una especie determinada. Un ejemplo fehaciente fue el reciente episodio de moquillo canino (distemper) epizootico que llevó a la muerte a alrededor del 30% de los leones (*Panthera leo*) del ecosistema del Serengeti en Tanzania (Roelke-Parker et al. 1996). Debido a la existencia de sangre congelada, colectada sistemáticamente por más de una década, se pudo estudiar el tiempo entre la emergencia del morbillivirus y el inicio de la morbilidad y mortalidad entre los leones, lo que a su vez ayudará a la eventual prevención de futuros brotes de este tipo.

Como se señaló con anterioridad, históricamente, la colecta inicial y preservación de recursos genéticos se limitaban a la colecta de semen a partir de animales vivos. No obstante, con el desarrollo de las técnicas de reproducción asistida, ahora es posible la producción de crías viables a partir de los testículos o los ovarios de animales fallecidos y a partir de los cuales se logró obtener el tejido u órgano en un plazo razonablemente corto después de la muerte. Avances más recientes permiten incluso el uso de muestras de tejidos con fines de criopreservación y posterior recuperación mediante transferencia nuclear somática o clonación.




Es muy importante resaltar, que la adopción de nuevas tecnologías de reproducción asistida y de criopreservación puede aportar significantes beneficios para la conservación y futuro uso comercial de especies de peces y moluscos.

Los nuevos y promisorios enfoques de reproducción asistida han de ser explorados también en la creación de un BRG. Por ejemplo la criopreservación de cortes completos de ovarios que incluyen folículos en distintas etapas del desarrollo han dado lugar a la producción de embriones a partir de estos folículos y al consiguiente nacimiento de crías viables en ratones y ovejas, después de la transferencia de los embriones a hembras receptoras, o del trasplante de los fragmentos de ovarios a otras hembras inmunosuprimidas (Gosden et al. 1994, Gunasena et al. 1997, Harp et al. 1994). De indudable valor es también el aislamiento y la criopreservación de células madres espermatogoniales o embrionarias (Avarbock et al. 1996, Campbell et al. 1996). Recientemente, usando estas técnicas, ha sido posible retomar la espermatogénesis en ratones después de la transferencia de células madres provenientes de espermatogonias y criopreservadas (Clouthier et al. 1996).

El hecho de que la transferencia nuclear somática o clonación somática no constituya aún una tecnología que ofrezca resultados repetibles de modo eficiente, no implica que esos argumentos sean empleados en contra del establecimiento de colecciones de células y tejidos de animales en peligro de extinción, ya que indudablemente las tecnologías actuales se volverán eficientes y podrán ser usadas en el rescate de especies.

Hoy se cuenta con la capacidad tecnológica para preservar tejidos y células, mañana, es casi seguro que ésta se complementará con herramientas que permitan exitosamente crear nuevas descendencias a partir de estos recursos. Incluso en el peor de los casos, la pérdida total de una especie, será posible re-crearla con el uso de especies relacionadas que pudieran actuar como incubadoras. Esta estrategia se



está empleando en la actualidad en la preservación del Wombat de hocico peludo del norte de Australia (Wolvekamp et al. 2001).

Se han realizado varios intentos de clonar especies exóticas o en amenaza de extinción como son los casos del Gaur o argali (*Bos gaurus*), el Banteng (*Bos javanicus*) y el bucardo (*Capra pyrenaica*). El sello distintivo de todos estos intentos ha sido el uso de la clonación inter-específica, en los cuales el ovocito proviene de una especie doméstica (vaca, *Bos taurus*) o cabra (*Capra hircus*) y el núcleo de la especie de interés (Voll et al., 2004). Estos clones inter específicos se diferencian de las especies que los originan en la heterogeneidad mitocondrial que resulta del uso de un ovocito de otra especie, lo que no constituye un obstáculo para el uso de estos animales con fines de conservación. Aún en el caso de que la incompatibilidad de las mitocondrias tenga un efecto fenotípico obvio, que no ha sido demostrado, los clones machos no van a transferir estas mitocondrias a la segunda generación por lo que el efecto quedaría mitigado (Sutovsky et al. 2000). El mismo argumento no se aplica a los clones hembras que sí transmitirán su ADN mitocondrial a las generaciones subsiguientes, por lo que se puede proponer emplear preferiblemente animales machos como donantes de células para los bancos de recursos genéticos.

Los avances recientes en la tecnología de transferencia nuclear somática permitirán aumentar el potencial de multiplicación de animales de alto valor, a través del uso de líneas de cultivos celulares como donantes de núcleos. Esta nueva herramienta posibilitará en un futuro a mediano plazo, el uso relativamente rentable de esta tecnología en producción animal, y así lograr un aumento de la productividad.

La eficiencia de la clonación en ganado bovino ha aumentado en los últimos años, lográndose tasas de desarrollo in vitro y de gestación, similares a las que se obtienen en la producción in vitro de embriones. No obstante, la eficiencia global del proceso es aún baja y no se dominan a plenitud, todos los factores involucrados en la misma. De especial relevancia son el desarrollo fetal de los clones, así como el denominado



Handwritten signature and a stamp with the letters 'FPA' inside a square frame.

"síndrome de la cría grande" (Large Offspring Síndrome; LOS, por sus siglas en inglés) que implica una alta tasa de mortalidad embrionaria y de desarrollo post natal anormal. La estandarización de una metodología experimental, práctica y económicamente factible, dará a esta técnica los fundamentos para hacerla confiable y repetible.

La potencialidad de estas tecnologías incluyen y no se limitan a: la capacidad de conservar los recursos genéticos, las líneas de consanguinidad, al desarrollo de sistemas de crianza artificiales, la introducción de la ingeniería genética y de tecnologías que permitan sobreponerse a la restricción del desarrollo en cautiverio de muchas de estas especies. El foco debe centrarse de modo prioritario en la posibilidad de adaptación o duplicación de las tecnologías de reproducción asistida desarrollada en especies de laboratorio y domésticas a aquellas de interés conservacionista.

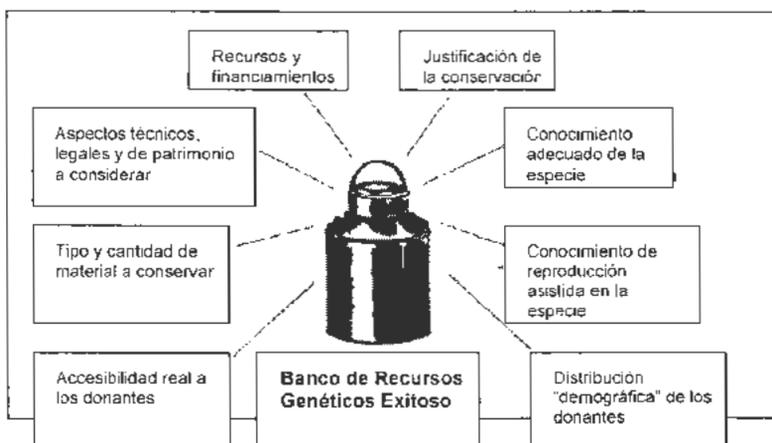
Si bien coleccionar y guardar material biológico de diversas especies es un reto, su uso juicioso es uno aún mayor. El más común de los problemas es el desarrollo de colecciones contaminadas y desorganizadas que no ayudan a la conservación de las especies, sino que se convierten, por el contrario en morgues genéticas o en almacenes de biodiversidad compuestos de material muerto e inviable (Goodman 1990). Es por ello que es de vital importancia contar con un plan de acción que contemple la mayor cantidad posible de variables que puedan influir sobre la calidad y uso del banco.

Se ha especulado sobre el potencial que se encierra en el uso de especies comunes de interés económico para la propagación de especies en peligro de extinción. El mejor ejemplo es la transferencia ínter específica de embriones en la cual el embrión de la especie en extinción es transferido al vientre de una hembra receptora de una especie domesticada. Existen ejemplos concretos de esta tecnología como es el caso del nacimiento de un gaur (*Bos gaurus*) empleando una vaca como receptora



(Stover and Evans 1984); o de embriones de bongoes (*Tragelaphus eurycero*; un bóvido africano Dresser et al. 1985) a madres Eland (*Taurotragus oryx*, otro bóvido africano) o del potro Przewalski ; (*Equus przewalskii*) y de la cebra africana (*Equus burchelli*) a yeguas domésticas (Summers et al. 1987). No obstante los avances alcanzados en los experimentos descritos anteriormente, aún se desconoce mucho de la interacción entre el trofoblasto y el embrioblasto de dos especies distintas. Mucha más investigación se requiere antes de poder emplear la transferencia hetero-específica de embriones con fines preservacionistas.

El plan de acción es un documento que contiene información explícita sobre el banco de recursos genéticos, lo que incluye información relevante a las especies, número de animales en la vida salvaje y en cautiverio, la accesibilidad de éstos para donar material biológico. De modo estratégico, cada banco debe existir en triplicado. Un primer banco, intocable o perpetuo debe garantizar la conservación a largo plazo de las muestras de valor conservacional. Este banco sólo podrá utilizarse cuando la especie se encuentre en evidente peligro de desaparecer. El segundo banco o banco de trabajo, permite las labores de rutina con animales vivos, tanto in situ como ex situ y un tercer banco que contenga material biológico viable disponible para investigaciones



(o sea para propósitos no relacionados con la propagación).





Uno de los objetivos del plan de acción es determinar que tipo y cantidad de material biológico debe ser colectado y guardado en aras de contar con un banco de recursos genéticos funcional y exitoso. Por ejemplo cuánto semen habría que guardar de un macho determinado o cómo emplear un solo animal en un proceso de restauración genética. Estos análisis pueden ser simulados por medio de computadoras y han brindado una gran cantidad de información sobre la importancia de mantener tres bancos de cada especie (Johnston and Lacy 1995, Wildt and Seal 1994). Uno de esos bancos sería el infinito o perpetuo, para uso sólo cuando la especie se aproxima a la extinción, el segundo para el manejo rutinario de animales vivos y para su propagación in situ y ex situ y el tercero para material biológico que se use en investigaciones, pero sin propósitos de propagación.

El plan de acción también se refiere a los aspectos técnicos de la colecta, almacenamiento y uso de los recursos genéticos, a las investigaciones que con ellos se realicen y al financiamiento para su mantenimiento y funcionamiento.

Es esencial el establecimiento de estándares para monitorear efectivamente el control de calidad de los bancos. Existen protocolos que se han implementado para asegurar germoplasma de origen agrícola y de microorganismos que pueden ser prototipos para bancos de germoplasma animal. Por ejemplo, la ATCC (American Tissue Culture Collection) es un modelo a seguir para la conservación segura ex situ de una enorme gama de diferentes organismos. Las muestras son guardadas en 57 reservorios de nitrógeno líquido con una capacidad de más de 2 millones de viales cada uno, 37 refrigeradores de ultra bajas temperaturas que guardan más de 150 mil viales a -70°C o en cámaras frías a 4°C de 900 pies de área, todos los cuales son monitoreados de modo electrónico, continuamente para las variaciones de temperatura. Todo el funcionamiento del BRG tiene que cumplir con los más altos estándares de calidad y están duplicados en dos lugares diferentes para minimizar las pérdidas en casos de catástrofe. Se implementan de modo obligatorio programas



de cuarentena para evitar la introducción de enfermedades y se introducen nuevos métodos de diagnóstico molecular para prevenir las enfermedades contagiosas a tejido animal o humano.

Bases de datos: El valor real de todo material biológico único o exclusivo de un animal o planta viva, radica no sólo en las muestras colectadas, sino en la calidad y confiabilidad de los datos recopilados sobre ellos. Particularmente son importantes los datos sobre el tipo de espécimen, estatus zoo-sanitario, calidad de la muestra, procedencia, pedigree, forma de congelación, abundancia, etc.

De acuerdo a los antecedentes mencionados, el problema que se desea abordar por medio de la implementación del proyecto es establecer un Banco de Recursos Genéticos de animales en amenaza de extinción en Chile, con sede en la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad de Concepción, en el Campus Chillán. En una primera etapa este banco centraría su atención y esfuerzos en 8 especies en categoría de peligro de extinción y crítica. Las especies en cuestión serían: *Hippocamelus antisensis* (Taruca), *Pseudalopex fulvipes* (Zorro chilote), *Chinchilla lanigera* (Chinchilla), *Hippocamelus bisulcus* (Huemul del Sur), *Ryncholestes raphanurus* (Comadreja), *Lontra provocax* (Huillín), *Oncifelis guigna* (Huiña) todos mamíferos y una especie de aves, el Picaflor de Juan Fernández (*Sephanoides fernandesis*).

La taruca y el huemul chileno son las únicas especies del género *Hippocamelus*. La taruca habita en la provincia de Parícuta (I Región) entre los 2.800 y los 3.900 m de altitud, mientras que el huemul es exclusivo de la región Andino-Patagónica de Chile y Argentina. Actualmente se encuentra principalmente en la X-XII regiones, aunque se reconoce además una pequeña población en la cordillera de la provincia de Ñuble, en la VIII región. Su hábitat actual corresponde a sectores de bosque alterados o sectores de matorrales peri glaciares, donde encuentra refugio de su





principal enemigo, el hombre. Ambas especies están consideradas en peligro de extinción, la taruca catalogada C (estado crítico) y el huemul E (en peligro) según Cofré y Marquet, 1999.

El zorro chilote o de se restringe casi exclusivamente a la Isla de Chiloé, en el sur de Chile. La especie es considerada en peligro crítico y está entre las tres especies de mamíferos terrestres con mayor riesgo de extinción en Chile (Cofré y Marquet, 1999). Además de los peligros debido a la acelerada destrucción de su hábitat obligado, el bosque temperado del sur, un ecosistema único, y la persecución directa por humanos, la especie presenta altos riesgos de extinción debido a la transmisión potencial de enfermedades virales por perros domésticos. Aparte de los limitados estudios ecológicos sobre el zorro de Darwin, no existe información cuantitativa sobre su densidad y distribución, uso del hábitat, dinámicas poblacionales, organización social, estructura genética de sus poblaciones y enfermedades en la Isla de Chiloé. Más aún, no existen datos acerca de la densidad, distribución y estado de enfermedades de la creciente población local de perros.

La chinchilla chilena presentaba una distribución original que se extendía entre Taltal y Talca, desde los 400 hasta los 2.500 m.s.n.m. Sin embargo, en la actualidad su población se limita a algunas colonias que se distribuyen entre las Provincias de Choapa y Elqui en la IV Región (La Conservación de la Fauna Nativa de Chile. Logros y Perspectivas. CONAF, 1998. Victor Valverde (Ed) páginas 74-82). Está catalogada C (crítica) según Cofré y Marquet, 1999. La caza indiscriminada para la colecta de su preciosa piel han colocado a la especie al borde de la desaparición.

La comadreja trompuda es representante de los primitivos Caenoléstidos sudamericanos del orden de los marsupiales, es uno de los mamíferos más antiguos de este continente. Este marsupial habita principalmente en las regiones Novena y



Décima. Esta especie está considerada en peligro de extinción, rango E, según Cofré y Marquet, 1999, producto de la constante destrucción de su hábitat, una de las mayores amenazas para los vertebrados. En los faldeos del volcán Osorno se ha encontrado la pequeña comadreja trompuda. De esta especie se han recolectado alrededor de 20 ejemplares, de los cuales la mayoría se encuentra en el Parque Nacional Vicente Pérez Rosales.

El huillín, una especie de nutria casi desconocida para la ciencia, que hace muchos años era posible encontrarla desde el río Cachapoal en Sexta región, hacia el sur está en peligro de extinción debido a la caza indiscriminada y principalmente a la pérdida de ríos y lagos con una buena vegetación de orilla. Esta especie antiguamente habitaba desde la VI Región hasta Magallanes. Hoy sólo se puede encontrar al sur del río Cautín, IX Región. De hecho, tiene la distribución geográfica más pequeña de las nutrias del mundo. Se encuentra solamente en Chile y Argentina. Está considerada en peligro de extinción, categoría E, según Cofré y Marquet, 1999.

La huiña o guña, es el menor de los félidos silvestres chilenos y su hábitat se extiende desde Coquimbo (IV región) hasta Aysén (XI región), incluyendo la Isla de Chiloé y las Guaitecas, desde el nivel del mar hasta el límite de la vegetación. Habita particularmente bosques siempre-verdes caracterizados por la presencia de quila densa ("quilantale"). Está considerada en peligro de extinción, categoría E, siempre según Cofré y Marquet 1999. debido principalmente a su baja abundancia, la cual, a su vez ha sido causada por la pérdida de su hábitat específico y la matanza por humanos y perros.

El picaflor de Juan Fernández (*Sephanoides fernandensis*), habita exclusivamente en esta isla de sólo 92 km², por lo que representa uno de los endemismos más marcados del continente; su congénere, el picaflor chico (*Sephanoides sephanoides*), se encuentra en las dos islas mayores de Juan Fernández (Más a Tierra o Robinson



Crusoe y Más a Fuera o A. Selkirk) y también en Chile continental, desde Caldera (III Región) hasta Tierra del Fuego (XII Región). De las diez especies de aves en categoría E (en Peligro de extinción) de Chile, el picaflor de Juan Fernández es la más amenazada, según el Libro Rojo de los Vertebrados Terrestres de Chile (A. Glade, Ed. 1993). Los censos realizados en los últimos años estiman una población total de esta especie entre 350 y 1000 individuos. Una de las causas de la disminución de su población ha sido el ataque de los gatos, que son animales introducidos en la isla.

Antecedentes del producto y/o tecnología a nivel internacional

A nivel global ha ocurrido una importante contracción de los recursos genéticos debido a presiones de índole económica y social. Como resultado de esto, durante los años 90 se produjo un dramático incremento de las actividades relacionadas con la conservación de estos recursos. Se iniciaron numerosos programas nacionales. La FAO conjuntamente con las Naciones Unidas jugó un papel prominente en la coordinación de las acciones nacionales. De este modo se han iniciado programas nacionales dirigidos a la conservación in situ, ex situ y al intercambio de información..

Se ha creado a nivel internacional clara conciencia en algunos estados y pactos regionales de la importancia de la conservación de las especies en peligro de extinción y se toman iniciativas importantes destinadas a salvaguardar el patrimonio genético de cada nación o pacto regional. Este tipo de actividad es impensable sin la participación decisiva de fondos del estado y del trazado de políticas coherentes en materia de conservación. Uno de los elementos críticos lo constituye la creación de bancos de material biológico criopreservado. Numerosos países iniciaron colecciones congeladas de múltiples especies tanto de importancia económica, como zoológica



A nivel internacional destacan los esfuerzos de la Unión Europea, Australia y los Estados Unidos. De este modo, el ERFP (European Regional Focal Point; por sus siglas en inglés) es reconocido oficialmente por el programa de la FAO como el coordinador de una red global de Recursos Genéticos Animales y fue creado inicialmente por financiamiento del gobierno francés. En este momento el ERFP es cofinanciado por al menos 10 donaciones de gobiernos europeos y cuenta con el apoyo total de la Asociación Europea de Producción Animal. Entre sus actividades destaca la creación de las guías para la criopreservación de recursos genéticos animales en Europa y actúa como entidad coordinadora de los numerosos BRG que existen en los países miembros de la Unión Europea.

Un importante criterio de inclusión de le ERFP es que todas las iniciativas posibles de criopreservación deben ser incluidas y tomadas en cuenta, de modo que puedan contribuir a largo plazo a la conservación de los recursos genéticos de cada nación. La crioconservación es entendida en la Unión Europea como herramienta fundamental para conservar la variabilidad genética de especies de uso ganadero y para el uso en programas de conservación de especies en peligro de extinción.

En otros países como Australia y los Estados Unidos, también existen bancos de recursos genéticos, de modo general asociados a zoológicos, museos o centros de investigaciones y universidades.

¿Cómo se puede implementar un BRG con fines de conservación? El Grupo de Especialistas en Crianza y Conservación (CBSG; por sus siglas en inglés) perteneciente a la Comisión y Unión Mundial de Conservación de Especies Sobrevivientes ha trazado normativas al respecto como parte de su misión. El CBSG posee una red mundial de 700 miembros y sirve como un catalizador neutral y un facilitador de los planes de conservación a nivel mundial. De este modo mantiene un sitio web (<http://www.cbsg.org/>).




El CBSG ha contribuido al proceso de creación de BRGs en dos modos, primero facilitando talleres en regiones de gran biodiversidad y cuyos gobiernos y autoridades estén realmente interesados en el salvamento de especies en peligro de extinción y recomendando estrategias para asegurar su recobrado (Ellis y Seal 1995, Westley y Vredenburg 1997) De ese modo el CBSG ayuda de modo objetivo a la identificación de aquellas especies que más se pueden beneficiar de la conservación, incluyendo la creación de bancos congelados de tejidos y muestras de estas especies

Segundo el CBSG ha promovido la preocupación internacional y el debate sobre el uso y la utilidad de los BRGs como parte de las estrategias y de los planes de conservación (Bartels y Wildt 1994, Wildt y Seal 1995).

En Australia, se ha creado el GSRCA que es una unión entre el Instituto de Reproducción y Desarrollo de la Universidad de Monash en Melbourne y la Junta de Parques Zoológicos de Nueva Gales del Sur. EN la actualidad, el centro opera a nivel nacional en colaboración con una decena de otras entidades públicas y privadas. Como resultado han logrado crear uno de los BRGs más importantes del mundo en el cual se combinan técnicas avanzadas de biotecnología reproductiva, biología de la conservación y manejo de recursos genéticos contribuyendo al salvamento de decenas de especies.

5.2. Antecedentes del producto y/o tecnología a nivel nacional

Chile ratificó en 1994 el Convenio sobre la Diversidad Biológica (CDB) adoptado y abierto a la firma en Rio de Janeiro en 1992 y tiene rango de Ley de la República desde 1998. Entre los objetivos de ese convenio destacan la conservación de la diversidad biológica, la utilización sostenible de sus componentes y la participación justa y equitativa en los beneficios que se deriven de la utilización de los recursos genéticos.



Como parte de los mecanismos de control y ejecución de esta ley y de forma paralela, se creó en Chile la Comisión Nacional del Medio Ambiente (CONAMA) acorde a la Ley 19.300. Esta es la institución encargada de velar por los recursos genéticos del país en su conjunto.

Uno de los mecanismos encargados de garantizar la adecuada protección a las especies en peligro de extinción en Chile es el proyecto Sistema de Información sobre Biodiversidad en Chile (Proyecto BDM), iniciativa surgida en el contexto del Convenio sobre Diversidad Biológica, financiada en forma conjunta por el Programa de Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA), el Fondo Global para el Medio Ambiente (GEF) y la Comisión Nacional del Medio Ambiente de Chile (CONAMA). Este proyecto se propone fortalecer las instituciones nacionales que se ocupan de la biodiversidad, a través de la generación, procesamiento y difusión de información sobre ésta, respetando la autonomía institucional en la definición de las condiciones de acceso y el pleno ejercicio del derecho de propiedad intelectual.

En el Convenio sobre la Diversidad Biológica, ratificado por Chile, en su artículo 9 se refiere a la implementación de medidas para la conservación ex situ según proceda de componentes de la diversidad biológica. Sugiriendo la creación y mantenimiento de instalaciones para la conservación ex situ y la investigación de plantas, animales y microorganismos.

La ratificación por parte de Chile del CDB no implica la pérdida del control de sus recursos genéticos, sino por el contrario, en el artículo 15 del susodicho documento se explicita que el acceso a los recursos genéticos es derecho soberano del Estado y es éste el encargado de regular el acceso a los recursos genéticos, sometidos a legislación nacional.

La Comisión Nacional de Medio Ambiente (CONAMA) en Diciembre de 2003 trazó la Estrategia Nacional de Biodiversidad y su Plan de acción a corto plazo y para los años 2004 y 2005.




Aspectos relevantes de la Estrategia Nacional de Biodiversidad Plan de acción 2004 para este proyecto:

Asegurar la preservación de especies y del patrimonio genético

- a) Priorización de especies amenazadas: Dictar Reglamento de Clasificación de Especies en Categorías de Conservación, lo que permitirá una categorización oficial del estado de conservación de las especies que sirva de instrumento base para orientar los esfuerzos en conservación.

- d) Conservación ex situ: Establecer un programa de conservación ex situ como herramienta para la recuperación de poblaciones de especies de flora y fauna donde es factible, efectivo y eficiente lograr esta recuperación

Principales compromisos del Plan de Acción que atañen a este proyecto.

En su acción genérica 3 plantea Establecer, Integrar y Coordinar planes para la conservación de especies amenazadas y entre las acciones específicas: 1) constituir un comité operativo para la coordinación interinstitucional para la conservación de la vida silvestre y 2) definir en el nivel regional, especies nativas locales representativas (amenazadas) para elaborar e implementar programas de Conservación de especies de Flora y Fauna

No obstante, haber la voluntad política y el marco legal para la implementación de BRG en Chile, éstos no existen sino en forma de reservorios de distinta magnitud de especímenes biológicos esencialmente por parte de instituciones universitarias como es el caso del Herbario de la Universidad de Concepción que alberga una amplia colección de cerca de 200 mil especímenes, la gran mayoría nativos de Chile.

Por todo ello es necesario el establecimiento de un banco de recursos genéticos animales en Chile y éste pudiera ser el inicio de un movimiento de creación de dichos bancos a nivel nacional.



5.3. Antecedentes del producto y/o tecnología a nivel local

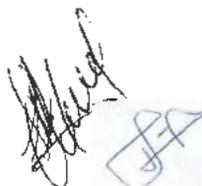
Como se mencionaba en el acápite anterior, en Chile no existen BRG funcionando como tales, pero sí colecciones y repositorios de distintas magnitudes. Concretamente en la VIII región, en la ciudad de Chillán se localiza un banco de semillas de distintas variedades vegetales en el Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA Quilamapu) con el objetivo de preservar semillas de alto valor genético y de servicio a productores interesados en dichas semillas.

En la Universidad de Concepción, en su sede principal, se encuentra el Herbario que alberga una gran variedad de especímenes colectados, pero que tampoco realiza un trabajo de conservación ex situ.

En la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad de Concepción, en el campus de Chillán se ha establecido un banco de embriones y semen congelado de razas bovinas, ovinas y caprinas de alto valor genético. Este laboratorio liderado por el Dr. José Cox, no sólo ha introducido tecnologías de punta en los métodos de conservación y análisis de semen y embriones, sino que ha dado los primeros pasos en el establecimiento de un sistema productivo de alta tecnología basado en la criopreservación de gametos de rumiantes.

Este es un ejemplo de conservación ex situ de recursos genéticos, cuya experiencia ha sido tomada en consideración a la hora de la formulación de este proyecto.

Por otra parte en el Departamento de Ciencias Pecuarias de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad de Concepción, en el campus de Chillán existe experiencia en la conservación y mejoramiento de jabalís y aves como parte de programas de conservación de la fauna silvestre. Siendo este ramo de carácter obligatorio.

De modo que se cuenta con personal formado en la discusión conservacionista y con pensamiento de biología de la conservación, así como con experiencia en la criopreservación de gametos de rumiantes.

Recientemente se introdujo en el mismo departamento la tecnología de criopreservación de células somáticas como parte de un proyecto destinado a la generación de ganado clonado (Hayes y cols 2005a). De este modo, se han obtenido varias líneas celulares de fibroblastos, músculo, granulosa y cúmulo de bovinos, ovinos y caprinos y se ha estudiado el efecto de distintos métodos de congelación sobre la viabilidad de las células somáticas en cultivo y en el proceso de clonación.

Se han establecido metodologías para el análisis de cariotipo de los cultivos primarios, así como su caracterización por técnicas moleculares de citometría de flujo, PCR e hibridación de ácidos nucleicos (Hayes y cols 2005b).

En resumen, en la Facultad de Medicina Veterinaria del campus Chillán, Universidad de Concepción se cuenta tanto con el personal calificado, como con la experiencia para acometer un proyecto encaminado a la creación de un Banco de Recursos Genéticos en criopreservación.



CITAS

Avarbock MR, Brinster CL, Brinster RL. 1996. Reconstitution of spermatogenesis from frozen spermatogonial stem cells. *Nature Medicine* 2: 693-696.

Ballou JD, Lacy RC. 1995. Identifying genetically important individuals for management of genetic diversity in pedigreed populations. Pages 76-111 in Ballou JD, Gilpin M, Foose TJ, eds. *Population management for survival and recovery*. New York: Columbia University Press.

Bartels P, Wildt DE. 1994. *Genome resource banking for conservation in Africa*. Apple Valley (MN): IUCN-World Conservation Union Species Survival Commission's Conservation Breeding Specialist Group.

CAB International

Campbell KHS, McWhir J, Ritchie WA, Wilmut I. 1996. Sheep cloned by nuclear transfer from a cultured cell line. *Nature* 380: 64-66.

CBD, 1992. *Convention on Biological Diversity*.

Clouthier DE, Avarbock MR, Maika SD, Hammer SD, Brinster RL. 1996. Rat spermatogenesis in mouse testis following spermatogonial stem cell transplantation. *Nature* 381: 418-421.

Cofré H., Marquet PA. (1999). Conservation status, rarity, and geographic priorities for conservation of Chilean mammals: an assessment. *Biological Conservation*: 53-68.

Dresser BL, Pope CE, Kramer L, Kuehn G, Dahlhausen RD, Maruska EJ, Reece B, Thomas WD. 1985. Birth of bongo antelope (*Tragelaphus euryceros*)





to eland antelope (*Taurotragus oryx*) and cryo-preservation of bongo embryos. *Theriogenology* 23: 190.

Ellis S, Seal US. 1995. Conservation assessment and management plan workshop reference material packet. Apple Valley (MN): IUCN-World Conservation Union Species Survival Commission's Conservation Breeding Specialist Group.

ERFP, 2003. Guidelines for the Constitution of National Cryopreservation Programmes for Farm Animals. Publication No. 1 of the European Regional Focal Point on Animal Genetic Resources. Hiemstra, S.J.1 (ed), 2003) Generic Database Structure. *Livest. Prod. Sci.*, (in print)

Fuller B, Paynter S. 2004. Fundamentals of cryobiology in reproductive medicine. *Reprod Biomed Online*. Dec;9(6):680-91.

Goodman MM. 1990. Genetic and germplasm stocks worth conserving. *Journal of Heredity* 81: 11-16.

Gosden RB, Baird DT, Wade JC, Webb R. 1994. Restoration of fertility to oophorectomized sheep by ovarian autografts stored at -96 °C. *Human Reproduction* 9: 597-603.

Groenevelde, ER., Yordanova, L., and Hiemstra S.J. 2002: An adaptable management system for national gene bank. 7th World Congr. Appl. Livestock Prod., session 26-11, Montpellier, France

Guérin, B.,1998. Evaluation of the sanitary safety of CBS straws compared to conventional straw. ACSEDIATE Maison-Alfort, France





Gunasena KT, Villines PM, Critser ES, Critser JK. 1997. Live births after autologous transplant of cryopreserved mouse ovaries. *Human Reproduction* 12: 101-106.

Harp R, Leibach J, Black J, Keldahl, Karow A. 1994. Cryopreservation of murine ovarian tissue. *Cryobiology* 31: 336-343.

Hayes, O., Ramos, B., Rodríguez, LL, Aguilar, A., Badía, T., and Castro, F.O. 2005a Confluency is sufficient to induce arrest in G₀/G₁ phase of the cell cycle in bovine granulosa and fibroblast cells. *Anim Reprod Sci.* Jul;87(3-4):181-92.

Hayes, O., Rodríguez, LL., González, A., Falcón, V., Aguilar, A., and Castro F.O. (2005b) Effect of cryopreservation on fusion efficiency and in vitro development into blastocysts of bovine cell lines used in somatic cell cloning. In press. *Zygote*.

IETS Embryo Manual (www.iets.org)

In Cryobanking the Genetic Resource. *Wildlife Conservation*

Johnston LA, Lacy RC. 1991. Utilization of sperm banks to maintain genetic diversity in captive populations of wild cattle. Pages 107-118 in Armstrong DL, Gross TS, eds. *Wild Cattle Symposium Proceedings*. Omaha (NE): Henry Doorly Zoo.

Johnston SD & Holt WV 2001 Germplasm conservation in marsupials. In *Cryobanking the Genetic Resource. Wildlife Conservation*

La Conservación de la Fauna Nativa de Chile. Logros y Perspectivas. CONAF, 1998. Victor Valverde (Ed) páginas 74-82).

Lanza RP, Dresser BL, Damiani P. 2000. Cloning Noah's ark. *Sci Am.* 2000 Nov;283(5):84-9.





Leibo SP. 1994. In vitro fertilization of oocytes by 37-year old cryopreserved bovine spermatozoa. *Theriogenology* 42: 1257-1262.

Libro Rojo de los Vertebrados Terrestres de Chile (A. Glade, Ed. 1993).

Loi P, Clinton M, Barboni B, Fulka J Jr, Cappai P, Feil R, Moor RM, Ptak G. 2002. Nuclei of nonviable ovine somatic cells develop into lambs after nuclear transplantation. *Biol Reprod.* Jul;67(1):126-32.

MASON, I.L., 1996: A World Dictionary of Livestock Breeds, Types and Varieties (4th edition), Wallingford, UK,

Navarro-Costa P, Correia SC, Gouveia-Oliveira A, Negreiro F, Jorge S, Cidadao. AJ, Carvalho MJ, Plancha CE. 2005. Effects of mouse ovarian tissue cryopreservation on granulosa cell-oocyte interaction. *Hum Reprod.* 2005 Jun;20(6):1607-1614. Epub 2005 Mar 10.

O'Brien SJ. 1994a. A role for molecular genetics in biological conservation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 91: 5748-5755.

O'Brien SJ. 1994b. Genetic and phylogenetic analyses of endangered species. *Annual Reviews in Genetics* 28: 467-489.

Resources (IUCN) 2002 IUCN Red List of Threatened Species.

<http://www.redlist.org>. Downloaded on 14 August 2002.

Roelke-Parker M, et al. 1996. A canine distemper virus epidemic in Serengeti lions (*Panthera leo*). *Nature* 379: 441-445.

Seal US, Thorne ET, Bogan MA, Anderson SH, eds. 1988. Conservation biology and the black-footed ferret. New Haven (CT): Yale University Press.



Solberg S, Laerum OD. 2004. Cryobiology-- freeze preservation and storage of living cells and tissues. *Tidsskr Nor Laegeforen*. Oct 21;124(20):2607-9.

Stover J, Evans J. 1984. Interspecies embryo transfer from gaur (*Bos gaurus*) to domestic Holstein cattle (*Bos taurus*) at the New York Zoological Park. Tenth International Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination 2: 243.

Summers PM, Shepard AM, Hodges JK, Kydd J, Boyle MS, Allen WR. 1987. Successful transfer of the embryos of Przewalski's horse (*Equus przewalskii*) and Grant's zebra (*E. burchelli*) to domestic mares (*E. caballus*). *Journal of Reproduction and Fertility* 80: 13-20.

Sutovsky P, Moreno RD, Ramalho-Santos J, Dominko T, Simerly C & Schatten G. 2000 Ubiquitinated sperm mitochondria, selective proteolysis, and the regulation of mitochondrial inheritance in mammalian embryos. *Biology of Reproduction* 63: 582-590.

Tilson RL, Brady G. 1992. Sumatran tiger population and habitat viability analysis report. Apple Valley (MN): IUCN-World Conservation Union Species Survival Com-mission's Conservation Breeding Specialist Group.

Vajta G, Lewis IM, Trunson AO, Purup S, Maddox-Hyttel P, Schmidt M, Pedersen HG, Greve T, Callesen H. (2003). Handmade somatic cell cloning in cattle: analysis of factors contributing to high efficiency in vitro. *Biol Reprod*. 68(2):571-8..

Vajta, G. 2000. Vitrification of the oocytes and embryos of domestic animals. *Animal Reproduction Science* 60-61, 357-365.

Volt, W., Pickard, A and Prather R.. 2004. Wildlife conservation and reproductive cloning *Reproduction* (2004) 127 317-324





Westley F, Vredenburg H. 1997. Interorganizational collaboration and the preservation of global biodiversity. *Organization Science* 8: 381-403.

Wildt DE, Seal US, eds. 1994. *Population biology aspects of genome resource banking*. Apple Valley (MN): IUCN-World Conservation Union Species Survival Commission's Conservation Breeding Specialist Group.

Wildt DE, 1995. Genome resource banking: international experiences. *Proceedings of the Australian Regional Association of Zoological Parks and Aquaria*.

Wolvekamp MCJ, Cleary ML, Cox SL, Shaw JM, Jenkin G & Trounson AO 2001 Follicular development in cryopreserved common wombat ovarian tissue xenografted to nude rats. *Animal Reproduction Science* 65 135–147.

Yu TH, Liu J, Zhou YX. 2005. Selective freezing of target biological tissues after injection of solutions with specific thermal properties. *Cryobiology*. Apr;50(2):174-82.

Zakhartchenko V, Alberio R, Stojkovic M, Prella K, Scherthaner W, Stojkovic P, Wenigerkind H, Wanke R, Döchler M, Steinborn R, Mueller M, Brem G, Wolf E. (1999a) Adult cloning in cattle: potential of nuclei from a permanent cell line and from primary cultures. *Mol Reprod Dev*. 54(3):264-72



SECCIÓN 6 : MARCO GENERAL DEL PROYECTO

El presente proyecto, pese a que se presenta para ser ejecutado en la VIII región, se inserta en el programa nacional de Biodiversidad, que atañe a todas las regiones, aunque con especial énfasis en la zona centro-sur del país, por encontrarse en ésta importantes ecosistemas que albergan a muchas de las especies sujetas a programas de protección en Chile y las cuales se encuentran entre las categorías de críticas o en peligro de extinción.

Dado el creciente deterioro mundial de los ecosistemas, del cual Chile no está exento, los científicos que se encargan de la conservación de especies han tenido que asumir un papel más proactivo en aras de la salvaguarda de los recursos genéticos del país.

El cuadro descrito, sin embargo, presenta una oportunidad y un desafío para revertir esta situación, tal como se ha proclamada en el plan de acción a corto plazo y para los años 2004-2005 elaborado por CONAMA.

Dentro de este marco, la ciencia y la tecnología, en especial la biotecnología y la biología de la conservación proveen de herramientas que permiten aumentar las posibilidades de rescate de especies al borde de la extinción, como es el caso de la creación de un Bancos de Recursos Genéticos, propuesto en este proyecto, que no tendría similares en el país.

Por otra parte el desarrollo de la transferencia nuclear somática interespecífica con métodos simplificados como el propuesto por nosotros, permitiría ensayar la posibilidad real de rescate de genofondos *cuasi* extintos por vías biotecnológicas modernas, con reales posibilidades de expansión a otras áreas.



El BRG no sólo proveerá de valioso material biológico a la ciencia chilena, sino que permitirá su bioprospección para usos comerciales a través de un programa de investigaciones que cumpliría tres propósitos fundamentales:

- Preservar los recursos genéticos de las especies en peligro de extinción
- Criobiología: para refinar la capacidad de proteger y congelar tejidos o células de modo que éstas puedan sobrevivir de modo indefinido y que al descongelarse puedan ser útiles
- Tecnologías de reproducción asistida: incrementar la eficiencia reproductiva de las especies en peligro, mediante el uso de inseminación artificial, la colecta y transferencia de embriones, la transferencia de éstos entre e inter especies, la maduración y fertilización in vitro de ovocitos de estas especies.

Dentro del proyecto se reconoce y se prevé la importancia de un detallado y extenso programa de recolección de datos que pueda ser de utilidad por terceros, especialmente por aquellas instituciones involucradas en programas de conservación.

Alcanzar los objetivos propuestos en este proyecto dotará al país con un conjunto de herramientas modernas capaces de hacer frente a retos impensables hace algunos años en materia de conservación de la diversidad biológica.




SECCIÓN 7 : UBICACIÓN GEOGRÁFICA DEL PROYECTO

(Anexar además un plano o mapa de la ubicación del proyecto)

El proyecto tendrá su base en las dependencias de la Facultad de Medicina Veterinaria del a Universidad de Concepción, sede Chillán, particularmente en el laboratorio de Reproducción Animal y sus oficinas, así como las dependencias asignadas al coordinador del proyecto. Las tomas de las muestras se llevarán a cabo en distintas provincias y regiones del país, según tabla que se adjunta.

Especie a coleccionar	Zona y Región del país
Taruca	Provincia Paranicota, I ^{ra} región
Huemul	Nevados de Chillán, VIII región, X región
Chinchilla	Valle del Elqui, IV Región
Zorro chilote	Isla Chiloé, X ^{ma} Región
Comadreja trompada	Río Cautin, IX y Volcán de Osorno, X ^{ma} regiones
Huiña	Isla Chiloé, X ^{ma} Región
Huillín	Volcán de Osorno, X ^{ma} Región
Picaflor de Juan Fernández	Isla Robinson Crusoe, Archipiélago Juan Fernández





SECCIÓN 8 : OBJETIVOS DEL PROYECTO

8.1. Objetivos Generales

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

Establecer un Banco de Recursos Genéticos criopreservados, a partir de líneas celulares cultivadas in vitro, derivadas de especies animales silvestres nativas y endémicas de Chile en peligro de extinción, que permita dotar al país de una salvaguarda de estos recursos para su uso en programas de rescate de especies y conservación.

8.2. Objetivos Específicos

1. Estandarizar un procedimiento de colecta de biopsias de cada una de las especies descritas en el proyecto, sin que afecte la viabilidad de los animales donantes de las mismas.
2. Estandarizar procedimientos de cultivo que permitan derivar cultivos primarios viables in vitro.
3. Desarrollar metodologías para la crioconservación efectiva, validada y segura de los cultivos primarios obtenidos.
4. Implementar una base de datos que permita el seguimiento y la documentación minuciosa de cada espécimen colectada y congelado.




5. Evaluar factibilidad de producir embriones de huemules clonados a partir de células congeladas de estos animales, empleando como receptores ovocitos de ciervo rojo o bovinos.

6. Establecer un mecanismo de transferencia de los resultados obtenidos hacia el sector académico nacional, para posibilitar un uso más amplio del Banco de Recursos Genéticos y de este modo facilitar la generación del impacto esperado.



SECCIÓN 9 : METODOLOGÍA Y PROCEDIMIENTOS

Los Bancos de Recursos Genéticos, se establecen para facilitar el almacenamiento ex situ de los recursos genéticos en amenaza de extinción en un país o región determinados y en principio el Banco, no es responsable de la colecta de las muestras y del procesamiento inicial de las mismas. Sin embargo en nuestro caso, dada la amplia dispersión geográfica de las especies a muestrear y de la imperiosidad de hacer coincidir la captura de los animales con la colecta inmediata de las muestras, el BRG asumirá la responsabilidad de organizar la captura y colecta de todas las muestras, apoyándose para ello en los contactos que se establezcan con privados o instituciones

Estrategia y secuencia de las actividades del proyecto

La estrategia de implementación del proyecto se basa en el cumplimiento paso a paso de los hitos trazados acorde a los objetivos del trabajo y en consecuencia se diseñó una secuencia de trabajo que responde a esta estrategia, la cual se podría resumir de la siguiente manera:

1. Identificación del problema a resolver (ya cumplimentada con la presentación de este proyecto)
2. Contacto con las entidades o personas que pudieran proporcionar acceso a las especies acorde a la distribución geográfica de las mismas
3. Toma de biopsia de modo no traumático y sin comprometimiento para la vida del animal
4. Crioconservación rápida in situ de los fragmentos de biopsia
5. Derivación de cultivos primarios o líneas celulares en el laboratorio de la Universidad de Concepción, a partir de los tejidos colectados in situ



6. Caracterización fisiológica y molecular de los cultivos
7. Congelación de los cultivos primarios por distintos métodos
8. Descongelación y caracterización de la sobrevida a la descongelación
9. Completamiento de una base de datos funcional con la mayor cantidad de entradas posibles
10. Una vez cumplimentadas las acciones desde la 1 hasta la 8, se evaluará la posibilidad de emplear células de huemules como donantes de núcleo para experimentos de clonación somática con vistas a emplear esta tecnología en el rescate de especies. Se emplearían ovocitos bovinos o de cierva como receptores. Dentro de este punto la secuencia de trabajo sería:
 - 10.1. Evaluación de la capacidad de salida del ciclo celular de los cultivos primarios de huemules
 - 10.2. Establecimiento de las metodologías de maduración in vitro de ovocitos de cierva (ya la de bovinos existe en la Universidad de Concepción)
 - 10.3. Establecimiento de las metodologías de transferencia nuclear somática (clonación) empleando células de huemules
 - 10.4. Evaluación de la capacidad de reprogramación de estas células
 - 10.5. Producir in vitro embriones clonados de huemules
 - 10.6. Evaluar (para un futuro proyecto) la posibilidad de transferir estos embriones a ciervas receptoras
11. Difundir los conocimientos y recursos genéticos conservados entre la comunidad académica del país.



Materiales y métodos

Selección de las especies donantes de tejidos para la criopreservación

Para la selección de aquellas especies de las cuales nos proponemos conservar tejidos y derivar líneas celulares, nos ceñimos a las necesidades de conservación, que se hayan definidas para las especies involucradas, tanto a nivel de la investigación científica nacional chilena, como de las políticas nacionales enmarcadas dentro de la Estrategia Nacional de Biodiversidad y su Plan de Acción.

La primera aproximación al problema fue el estudio del Libro Rojo de los Vertebrados Terrestres de Chile, publicado en 1993 por la Corporación Nacional Forestal. A partir de esta fuente se preseleccionó un espectro de 10 especies, esencialmente de mamíferos y aves. Si bien profundo y conciso, el citado texto, no ofrece un enfoque cuantitativo, ni demográfico de las especies amenazadas. Por ello, se utilizó como fuente definitiva el trabajo de Cofré y Marquet de 1999, en el cual se ofrece una calificación multifactorial y se cuantifica el peligro de extinción de distintas especies de mamíferos de Chile.

Los métodos y procedimientos que se emplearán para la confección de este Banco de Recursos Genómicos (BRG) están formulados acorde a los lineamientos para la constitución de programas nacionales de criopreservación para animales de granja. (ERFP, 2003. Guidelines for the Constitution of National Cryopreservation Programmes for Farm Animals. Publication No. 1 of the European Regional Focal Point on Animal Genetic Resources).



Colecta de los especímenes

Contactos

Se establecerán los contactos pertinentes con autoridades de predios, personas u otras instituciones que posean documentación de la presencia de las especies a muestrear.

Colecta de los especímenes

Como norma general se procederá a la captura por medio de dardos con anestésicos, cuya posología se calculará cuidadosamente para cada especie. En el caso del picaflor de Juan Fernández, se coleccionarán los ejemplares mediante redes ornitológicas, y para la chinchilla y el huillín se emplearán jaulas trampas. Una vez anestesiados los animales (con la excepción del picaflor) se tomará una muesca de la oreja con un ponchador estéril y se procederá según se describe en el acápite 1.5 más adelante en esta misma sección.

En el caso de capturar mamíferos machos, se procederá a obtener muestras de semen por electroeyaculación y se congelarán muestras como se describe más adelante.

Del picaflor se obtendrán varias plumas con el bulbo piloso incluido para obtener las líneas celulares a partir de esta estructura.

Las muestras de biopsia serán tomadas de la piel de los animales, con el fin de obtener cultivos de fibroblastos de piel. El tamaño de la biopsia, no es relevante, no obstante para garantizar el desarrollo ulterior de los cultivos y disponer de abundante tejido a la vez que se preserva la salud del animal, se tomarán muestras de 1cm²., una por animal, de al menos tres animales. En caso de que no se logren capturar tres animales de una misma especie, se realizarán tres muestras del mismo animal



para garantizar la obtención de cultivos. Debido a que las muestras de biopsia serán tomadas *in situ*, se ensayarán distintas condiciones de conservación inicial, lo que incluye: infiltración con concentraciones variables de Dimetil sulfoxido desde 0.1 hasta 1.5 M, las cuales serán ajustadas previamente en el laboratorio con especies silvestres no amenazadas e inmediata inmersión directa en nitrógeno líquido. Una vez ultra enfriadas de este modo, las muestras se colocarán en tubos Falcon de 15 ml en tanques portátiles de nitrógeno que se adquirirán como parte de este proyecto, para su traslado a un laboratorio cercano.

Alternativamente, se colocarán los fragmentos de las biopsias en los medios de cultivo que se describen más adelante o traslado en PBS para el traslado a un laboratorio cercano, estas condiciones también serán ensayadas en animales silvestres.

El primero de los escenarios constituye un reto para la obtención de los cultivos primarios o de las líneas celulares, ya que si bien se ha documentado este procedimiento (Yu y cols 2005; Navarro-Costa y cols 2005; Lanza y cols 2000, Loi y cols 2002), los métodos actuales de derivación de líneas celulares se basan en la desagregación de tejido fresco. No obstante, existen suficientes evidencias científicas que sustentan la posibilidad de derivar líneas celulares a partir de tejido congelado (Fuller y Paynter, 2004; Solberg y Laerum 2004), lo que resultará en un resultado de trascendencia para este proyecto. Es impensable, dada la infraestructura científica del país en materia de biotecnología, disponer de un laboratorio cercano, en cada una de las regiones en las cuales se pretende coleccionar especímenes, por otra parte, dada la complejidad de tareas y equipamiento requerido, no es factible la instalación de laboratorios móviles, como se han implementado para la colecta y congelación de embriones de distintas especies.




Ya en el laboratorio se seguirán procedimientos establecidos y se empelará la infraestructura que se requiere para este tipo de trabajos.

Infraestructura y métodos

1.1. Equipamiento y personal

Si bien la criopreservación no es considerada una alta tecnología que demande equipamiento de alto costo, sí se requiere de personal altamente calificado y que cada paso sea correctamente documentado y llevado a cabo de modo riguroso.

Se emplearán reservorios de nitrógeno líquido a temperatura de -196 grados Celsius, del tipo Dewar Locator con sistema de alarmas. Se requieren dos tanques para las muestras, uno con cajones (gavetas) para la congelación de líneas celulares y otro con recipientes de pajuelas para la congelación de semen y embriones y de fragmentos de tejidos. Adicionalmente se necesitarán tanques para la reposición del nitrógeno líquido (2) y dos tanques de campo de volumen de 5 litros para el trabajo en terreno y la colecta de las muestras.

Se dispondrá de un equipo de congelación con control automático del descenso de la temperatura para la congelación de las muestras de semen, ovocitos, embriones y células.

1.2. Seguridad

Los espermatozoides, óvulos, embriones, células y tejidos criopreservados, son en principio eternos y deben dar lugar a nuevos individuos o cultivos si se les guarda a la temperatura correcta de -196 grados centígrados en nitrógeno líquido, de modo continuo. Dado el carácter irremplazable de la mayor parte del material biológico guardado, los tanques o reservorios de las muestras biológicas, deben estar equipados con un sistema de alarma y el suministro de nitrógeno líquido totalmente



garantizado, así como una fuente de energía de emergencia para casos de cortes eléctricos. Se destinará un local existente en la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad de Concepción como sede física del BRG. Este local estará conectado a una red de energía eléctrica de conexión automática para casos de corte de corriente, con una autonomía de 24 horas, lo que permitirá la toma de decisiones referentes al eventual traslado de los tanques en caso de cortes accidentales o intencionales de electricidad.

1.3. Guardado de las muestras

El semen y los embriones u óvulos pueden ser guardados en pajuelas pequeñas (0.25 ml) o medianas (0.50 ml) de este modo se evita la contaminación y se pueden rotular adecuadamente las muestras, lo cual no es posible por el método de congelación en pellets o pastillas. Para aquellos animales que tengan un estado sanitario malo en el momento de la colecta de las muestras de semen, se emplearán pajuelas CBS™ que ofrecen una garantía sanitaria doble, ya que no permite la contaminación cruzada desde el interior al medio, ni de éste al interior de la pajuela (Guérin,1998). El llenado de las pajuelas con semen se hará de forma semiautomática en el laboratorio existente, con la tecnología que se emplea rutinariamente para estos fines en nuestro grupo de investigación.

Cuando se obtenga material de animales muertos, los testículos serán transportados hasta el laboratorio a 4°C o a temperatura ambiente. Los espermatozoides se obtendrán a partir del epidídimo resuspendiéndolos en una solución salina (PBS con albúmina bovina, o medio de cultivo). En animales vivos, las muestras de semen se obtendrán mediante electroeyaculación bajo anestesia quirúrgica. Se evaluará (en semen fresco y en semen diluido en una solución de Tyrode modificada conteniendo albúmina bovina) la calidad de varios parámetros espermáticos: motilidad, viabilidad, concentración, integridad morfológica, integridad acrosómica y de membranas con una serie de pruebas de laboratorio.



Para la congelación de semen, se empleará el método tradicional o alemán que utiliza un medio que consta de lactosa (11%) y yema de huevo (20%) y envasa las muestras seminales en pajuelas de 0.5 ml a una concentración de alrededor de 5 millones de espermios por 0.5 ml y las somete a un régimen de congelación sobre vapores de nitrógeno líquido para su posterior deposición en nitrógeno líquido a -196 grados centígrados.

Para la congelación de embriones se emplearán pajuelas de 0.25 ml y se utilizará el método de congelación lenta tradicional. En la congelación convencional, los embriones alcanzan su equilibrio osmótico antes de comenzar el descenso de la temperatura y lo mantienen durante el enfriamiento el cual se lleva a cabo lentamente permitiéndole al embrión contraerse y ceder agua, en respuesta al incremento gradual de la concentración de la solución extracelular. La deshidratación parcial de los embriones se logra mediante la adición de un agente crioprotector al medio de congelación. En nuestro caso, preferimos el uso de Etilenglicol por tener menor toxicidad que otros crioprotectores como el DMSO y el propilenglicol. Para ello se empleará 1.4M de etilenglicol en medio 199, los embriones se colocarán en esta solución a temperatura ambiente, mientras que son introducidos en la pajuela de congelación. Una vez en ella, se descenderá la temperatura a razón de 1^oC/minuto, en un criostato hasta alcanzar los -7^oC. En este momento se induce la formación de hielo ("seeding") tocando la pajuela con pinzas hipercongeladas en nitrógeno líquido. A partir de este punto, la temperatura descenderá aún más lentamente a razón de 0.3^oC hasta los -65^oC. Una vez alcanzada esta temperatura, las pajuelas se trasladan directamente a nitrógeno líquido a una temperatura de -196^oC.

Para la congelación de ovocitos se empleará el método de vitrificación (OPS) desarrollado por (Vajta, 2000). Este método consiste en exponer los ovocitos durante




3 minutos a temperatura ambiente a una solución de 10% glicerol, 20% 1,2-propanadiol en PBS (medio de vitrificación intracelular), posteriormente se los pasa por una solución que contiene 5% glicerol y 25% 1,2-propanadiol en PBS (medio de vitrificación extracelular) y se les coloca en una pajuela con la punta estirada, en un volumen no mayor de 1 microlitro y esta punta es inmediatamente sumergida en nitrógeno líquido. Este método permite la vitrificación instantánea de los ovocitos, sin que se formen cristales de hielo intracelular y permite la conservación de estos, teniendo en cuenta que son entidades unicelulares, por lo que la muerte de una célula implica la del ovocito.

Las células que se obtengan a partir de las biopsias, se congelarán por métodos tradicionales de congelación lenta (Hayes y cols 2005b) y se guardarán en viales de congelación de 2.0 ml con rosca externa y amplia superficie de escritura.

Los fragmentos de tejido se guardarán en tubos Falcon de 15 ml.

1.4. Identificación

Debido a que se requiere de una identificación muy clara y precisa de cada muestra, resulta vital el empleo de un método que permita obtener esos resultados. Las pajuelas serán marcadas con plumones para pajuelas. La identificación de las muestras de semen debe incluir, la especie, raza, identificación del animal, país y centro de colección y fecha de congelación.

Las pajuelas con embriones deben registrarse por el código de congelación de la International Embryo Transfer Society (IETS) que incluye, especie, raza, identificación del donante, del padre o semental, estado del desarrollo del embrión.

Para células, los viales deben contener información relevante de la especie, el origen de la biopsia, el número de subcultivos o pases y la fecha de congelación. Los




fragmentos de tejido, se identificarán con los datos de la especie, el órgano del cual se tomó y la fecha.

1.5. Obtención y congelación de células somáticas

Las fuentes de células somáticas pueden ser varias, pero las biopsias de piel y los folículos pilosos, son las más sencillas y asequibles de obtener de virtualmente cualquier mamífero. En el caso de las aves, se propone la biopsia de piel como fuente principal de células somáticas.

Obtención, cultivo y congelación de fibroblastos:

De forma general se obtendrán, mediante biopsia en condiciones estériles, según se describió en el inicio de esta sección, muestras de 1 cm² de piel o de oreja y se evaluarán las condiciones de transporte al laboratorio (medio de cultivo, temperatura de transporte). Estas condiciones de toma de biopsia son válidas tanto para los mamíferos, como para el picaflor de Juan Fernández

Se enjuagará varias veces el ponche tomado en alcohol al 70% y se depositará en buffer fosfato salino (PBS) en un tubo de ensayo estéril, con posterioridad, se depositará en otro tubo de ensayo y se infiltrará con DMSO como se ha descrito previo a la introducción en nitrógeno líquido para su traslado al laboratorio o se colocarán en tubo de cultivo y se trasladarán al laboratorio en medio (DMEM:F12, suplementado con 10 ng/ml de EGF, 10 µg/ml de insulina, 30% de suero fetal bovino inactivado por calor y antibióticos). Una vez en este, se descongelará el fragmento, si se trasladó congelado, en un baño de María a 37 grados y se pasará de nuevo el fragmento por alcohol al 70% para después colocarlo en PBS suplementado con antibióticos y antimicóticos. Las células del animal a clonar, se obtendrán mediante biopsia de la oreja para el aislamiento de fibroblastos. La muestra será lavada extensamente utilizando PBS estéril, cortada en pequeños explantes de



aproximadamente 1 mm, dentro de una campana de flujo laminar. Se colocarán los explantes sobre una placa de Petri plástica estéril de 100 mm, dejando que se adhieran al fondo de la misma, posteriormente se le añadirá medio de cultivo (DMEM:F12, suplementado con 10 ng/ml de EGF, 10 µg/ml de insulina, 30% de suero fetal bovino inactivado por calor y antibióticos). Se emplearán tantas placas como líneas celulares se pretendan establecer, pero nunca menos de cinco.

Los explantes en el medio de cultivo serán colocados en una incubadora con atmósfera y humedad controlada. Los parámetros a controlar serán: humedad 100%, nivel de oxígeno 5%, nivel de CO₂ 5%, nitrógeno 90% temperatura 37-39 grados. En el caso de los explantes de aves, se emplearán condiciones similares, sólo que el nivel de oxígeno se elevará hasta el 10% a expensas de nitrógeno y la temperatura de incubación será de 32 grados centígrados. Se considerará pase cero, al primer grupo de células que alcance la confluencia, definiendo como confluencia, el llenado del fondo de la placa de cultivo por las células en crecimiento. Cada vez que se realice un proceso de tripsinización se considerará un pase (se aceptan también los términos pasajes o subcultivos, significando lo mismo). De este modo se realizarán pases, los que se cultivarán en idénticas condiciones realizando hasta un máximo de 3. Se conservarán alícuotas de fibroblastos mediante congelación o vitrificación (del primer y tercer pases) y se almacenarán en nitrógeno líquido.

El medio de cultivo no será cambiado en dos semanas, transcurrido este tiempo, se retirarán los explantes de tejido adherido a las placas, quedando por debajo de los mismos, una incipiente monocapa de células. Estas se dejarán crecer por hasta que se llene el fondo de la placa, con cambios regulares de medio cada tres días. Después de alcanzada la confluencia, las células serán separadas de la placa mediante un proceso enzimático denominado tripsinización que consiste en romper los enlaces peptídicos entre las células y con el plástico. Para ello, se aspira el medio de cultivo, se lavan las placas con PBS tibio y se aplica 0.08% de una solución de



tripsina tamponada con EDTA. Las células son expandidas en una proporción de alrededor de 3:1 a nuevas placas y cuando se cuente con al menos 2 placas de 100 mm de diámetro llenas, se tripsinizarán de nuevo y las células serán congeladas empleando un método de congelación que permita el descenso de la temperatura a una velocidad de 1 grado por minuto, esto se puede lograr en un equipo de congelación especializado o mediante técnicas más sencillas, como la congelación en cajas de polipropileno (sistema Mr. Frosty de Nalgene Corporation). Brevemente, se prepara un medio de congelación consistente en dimetil sulfóxido (DMSO) al 10% en 80% de suero fetal bovino y 10% de medio de cultivo DMEM:F12 sin suplementos. Este medio de congelación se mantiene frío en hielo, las células tripsinizadas, se centrifugan y se ajusta su concentración a 3-5 millones por ml, el pellet se resuspende en el medio de congelación frío, las células son colocadas en los viales de congelación y éstos en la caja de polipropileno, previamente rellena con isopropil alcohol y congelada a -20 grados. La caja es colocada en un congelador de -86 grados, y gracias al material plástico, al aislante y a las características térmicas del isopropil alcohol, se garantiza un descenso gradual de la temperatura de congelación de un grado por minuto. Esta tasa de descenso es similar a la que se obtiene con equipos programables, con la consiguiente ventaja de ahorro de costos. Nuestro grupo ha empleado exitosamente esta sencilla técnica en la criopreservación de células somáticas empleadas para la clonación de ganado bovino (Hayes y cols, 2005b).

Debido a que nuestro laboratorio cuenta con un equipo programable especializado para la congelación de semen y de embriones, se empleará éste de modo alternativo al método de la caja de polipropileno. Para la congelación en este equipo, el procedimiento tecnológico es el mismo, salvo que el descenso de la temperatura es controlado por un microprocesador que hace que la temperatura del medio externo (metanol) disminuya en una tasa de un grado centígrado por minuto.



1.6. Obtención y almacenamiento de muestras de ADN

En el caso de que se obtengan sólo especímenes muertos, se procederá a cortar un fragmento de oreja o de piel, se lavará en alcohol y PBS y se conservará adecuadamente identificado en freezer de -86 grados en el laboratorio. Con posterioridad se aislará el ADN por técnicas estandarizadas, empleando kits comerciales. También se extraerá ADN de las células vivas que se logren establecer como cultivos primarios, antes de congelar, por el mismo método.

Una vez obtenido el ADN se guardará como material precipitado en etanol a -86 grados para sus usos posteriores.

1.7 Documentación

Dentro del proyecto se reconoce y se prevé la importancia de un detallado y extenso programa de recolección de datos que pueda ser de utilidad por terceros, especialmente por aquellas instituciones involucradas en programas de conservación. Este objetivo se alcanzará mediante la adquisición del software GeneSearch Database, desarrollado por científicos australianos para los mismos objetivos.

El objetivo de esta base de datos es identificar, guardar y reportar sobre el proceso de colecta, conservación y uso de los recursos genéticos colectados de las especies animales. Es de vital importancia la exactitud y profundidad de los datos colectados, ya que ellos servirán de base para futuros proyectos de protección de especies en peligro de extinción.

La funcionalidad del BRG va a depender en gran medida de la documentación que se guarde acerca de los materiales almacenados en él. Es necesario tener en cuenta, que los gobiernos cambian e incluso los países pueden cambiar, pero la información contenida en el BRG debe perdurar y ser asequible a cualquier persona



después incluso de cambios radicales en la dirección de la institución encargada de la custodia del BRG. Por ello, en este proyecto, la documentación del BRG se llevará a cabo mediante la afiliación al sistema CryoIS. Este software fue desarrollado sobre la base del Proyecto Europeo APIIS (Groeneveld 2003) y consiste en un programa abierto, disponible a cualquier país que comience un BRG y que permite tener en cuenta todas las variables posibles de documentación requerida, a la vez que lo hace visible a nivel internacional.

La documentación a coleccionar se puede dividir en las siguientes categorías:

- Animal donante
- Tipo de material físico a guardar
- Localización del material biológico
- Estado sanitario-veterinario del material biológico
- Estado legal del material biológico

Animal donante: Especie, sexo, raza, edad, fecha de colecta. En caso de duda sobre la taxonomía de la especie o en razas particulares, se seguirán las regulaciones de la FAO incluidas en la base de datos DAD-IS y el listado de MASON (1996)

Tipo de material físico a guardar: Semen, embriones, ovocitos, células somáticas, tejidos, sangre, otros (suero, ADN). En el caso del semen, es necesario *indicar si se colecta en pajuela o en pellets*, el volumen congelado (0.25 ó 0.50 ml), la dilución del semen.

En ocasiones se guarda ADN, suero sanguíneo o pelos para diferentes análisis moleculares. En estos casos, también se requiere guardar toda la información importante sobre el animal donante, la colecta, el procesamiento y almacenaje.



Localización del material biológico: Instalación e Institución, dirección postal, refrigerador o criocontenedor, localización (número del laboratorio o cuarto), número del tanque, número del contenedor individual, localización de éste en el tanque de nitrógeno, coordenadas del vial de congelación en la caja, otros datos pertinentes.

Estado sanitario-veterinario del material biológico: Incluye el estado sanitario del animal al momento de la colecta

Estado legal del material biológico: Indicar el estado legal o contractual de cada muestra (pertenece al zoológico, a la reserva de la biosfera, privado, etc.).

1.8 Aspectos legales

Los aspectos legales relacionados con los BRGs son por lo general subestimados. La introducción de material al banco, su uso, conservación y acceso al mismo, generan aspectos legales que deben ser tomados en cuenta para garantizar la conservación exitosa y a largo plazo de un BRG. Los diferentes niveles de implementación legal relevantes a la propiedad y el uso de los recursos genéticos tienen que estar en coincidencia con los intereses a nivel nacional, con los acuerdos y convenciones internacionales que el país haya firmado, con la legislación nacional que cubre los recursos genéticos y con las regulaciones para transferencia de material biológico entre usuarios.

A pesar de que no existe una situación de propiedad intelectual en animales similar a la existente con las variedades de plantas, es de vital importancia mantener una clara política de propiedad sobre los tejidos animales que se conserven. En Chile no se patentan animales en su estado natural, pero sí se pueden presentar patentes sobre células, ADN, y su uso en procesos específicos.



Se elaborará un documento de Acuerdo de Adquisición de Materiales (AAM) para aquellos materiales biológicos que entren al BRG y un Acuerdo de Transferencia de Materiales (ATM) para regular el uso y eliminación de materiales del BRG. Para poner en funcionamiento ambos instrumentos legales, se debe definir dentro de un marco legal, qué usos del material biológico en cuestión son permitidos y cuáles son prohibidos, en qué casos se permitirá la venta del material, quienes serán los beneficiarios, etc. En todo caso, tanto el AAM como el ATM deben reflejar los intereses de los accionistas, los dueños de las instituciones involucradas y de los privados.

Con respecto al planeamiento de las capturas, nuestra posición es que tratándose de especies en riesgo, la toma de muestras debía ser un evento que no agregue riesgo a la condición de la especie por tanto lo hemos contactado a investigadores que ya ostentan permisos para capturas programadas, de modo que nos podamos unir a ellos en dichas capturas y evitar tanto la doble e innecesaria captura y con ello disminuimos el estrés y riesgo para la especie, como la solicitud de nuevos permisos al SAG:

En este sentido hemos estado en contacto con el DEPROREN del SAG y con investigadores. Así, a la fecha, hemos comprometido la participación para las siguientes especies: (1) **Taruca** y **Huemul del sur** con Cristián Bonacic (PUC); (2) **Zorro chilote** con Cristóbal Briceño (Proyecto Zorro Darwin); (3) **Huillín** con Gonzalo Medina (U. Americas); (4) **Gúñia** con Gerardo Acosta (U. Edimburg, UK); Adicionalmente **Huemul del sur** con Oscar Guineo de la XII Región pero falta confirmación. De modo que para las especies mencionadas antes, no necesitaremos permiso. Las restantes que son Chinchilla, Comadreja trompuda y Picaflor de Juan Fernández hasta el momento no hay nadie que vaya a capturar, sólo nos falta una confirmación y para luego entonces solicitar permiso nosotros, cuestión que haremos



con fecha tope del día viernes 18.11.05, los permisos pueden tardar unos 2 meses, por lo que no se prevén retrasos por esa causa.

De modo general, la situación se ve auspiciosa respecto de las capturas ya que logramos reducir el impacto de captura y de las tres especies restantes, ninguna representa un reto técnico muy especial, por lo que estamos muy confiados de cumplir con lo prometido.

1.9 Transferencia al sector profesional y académico

Al final del proyecto, se efectuará un seminario nacional en conservación con sede en Chillán para exponer los resultados obtenidos y evaluar el impacto de las tecnologías adecuadas a los programas de conservación nacional.

1.10 Transferencia nuclear somática (clonación)

1- Obtención de ovocitos

Los ovocitos serán obtenidos de ovarios provenientes de ciervos rojos faenados en la VIII región o, en el caso de no disponer de ciervos, de vacas faenadas en el matadero Carnes Nubes de Chillán. Los ovarios llegarán al laboratorio en un termo de transporte que contiene solución fisiológica a 30°C, luego serán acondicionados para comenzar a puncionar los folículos. El acondicionamiento consiste en eliminar posibles restos de oviducto, ligamentos y lavarlos al menos tres veces en solución fisiológica. La punción de los folículos de 3-6 mm de diámetro se realizará con una aguja de 18G y los ovocitos aspirados empleando 50 mmHg de presión negativa. Los ovocitos obtenidos serán seleccionados bajo lupa conservando aquellos con varias capas compactas de células del cúmulo y estructura homogénea. Para evitar la variabilidad de calidad de los ovocitos procedentes de animales sacrificados, se emplearán de modo opcional, ovocitos de reses localmente mantenidas en las cuadras de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad de Concepción, los





cuales se obtendrán por la técnica de punción folicular asistida por ultrasonido, conocida como OPU por sus siglas en inglés, lo que garantiza estabilidad en la calidad de los ovocitos, por proceder de madres con estatus nutricional conocido y adecuado.

2- Lavado y maduración de los ovocitos

Los ovocitos seleccionados serán lavados tres a cuatro veces en una placa con medio TCM 199 suplementado con HEPES y 10% de suero fetal. La maduración se realizará en grupos de 30 ovocitos en placas Nunc de cuatro pozos con 400 ul de TCM 199 suplementado con bicarbonato, FSH, estradiol 17-beta, LH y antibióticos a 39 grados centígrados en atmósfera de 5% de CO₂ y humedad a saturación, durante 24 horas. Se tomará como criterio de maduración exitosa, la expansión visible del cúmulo en los complejos cúmulo-ovocitos cultivados.

Los ovocitos maduros serán desnudados 18 h después del inicio del cultivo por medio de agitación mecánica (vortex) en medio TCM 199-HEPES en presencia de hialuronidasa y conjuntamente con pipeteo suave. Los ovocitos desnudados serán seleccionados por la presencia de un citoplasma homogéneo así como de un corpúsculo polar extruido. Se colocarán bajo una lupa estereoscópica para su enucleación, mediante sección a mano o "Hand Made Cloning; HMC", según Vajta y cols 2003. Para comprobar la eficiencia de enucleación, ocasionalmente, los ovocitos seleccionados serán incubados en una solución conteniendo un fluorocromo (Hoechst 33342) para la tinción del ADN el cual será excitado al momento de la enucleación para la confirmación del correcto vaciamiento del ovocito.

Una vez disponibles las líneas celulares de los huérfanos seleccionados, serán empleadas en el proceso de clonación. Las células se cultivarán hasta un 85% de confluencia aproximadamente, se tripsinizarán y se emplearán en la reconstrucción de los ovocitos enucleados. Se logrará la adhesión de las células al ovocito

enucleado mediante incubación con 500 $\mu\text{g/ml}$ de fitohemaglutinina. Las parejas reconstruidas serán fundidas en medio Manitol 0.3 M con 0.01mM de calcio, para evitar la activación espontánea y se reprogramarán por al menos dos horas.

La reprogramación es necesaria para lograr el desarrollo de un embrión obtenido por transferencia nuclear y se define como la transformación de los patrones de expresión de los genes, característicos del núcleo donante diferenciado, a uno que es adecuado para el desarrollo temprano de los embriones. Para ello es necesario exponer el núcleo donante una o dos horas a los factores citoplasmáticos del ovocito receptor antes de ser activado. De esa forma se impediría el comienzo de una ronda de división sin que el genoma donante esté "preparado" para soportar el desarrollo embrionario. Los eventos que controlan la reprogramación nuclear, no se conocen aún, como no lo son los criterios de evaluación de una reprogramación exitosa, de modo general se asume que una morfología embrionaria correcta, seguida de una división y desarrollo *in vitro* adecuados, si bien el criterio final sería el nacimiento de crías viables.

Una vez concluida la reprogramación se procederá a la activación química. Para este paso, se empleará 7% de etanol absoluto en medio TCM 199 por 5 minutos, seguido de la incubación por 5 horas en 10 $\mu\text{g/ml}$ cicloheximida en medio de cultivo, para inhibir la síntesis de proteínas y de esta manera disminuir los niveles de MPF intracelular, lo que a su vez conlleva a la activación del ovocito.

Los ovocitos que se funden y sobreviven el proceso de reprogramación, se consideran embriones clonados en estadio unicelular y son sometidos al cultivo *in vitro* o *in vivo* hasta estadios que permitan su transferencia a hembras receptoras sincronizadas. Para este paso, se empleará el medio manufacturado en el laboratorio SOF1aa (siglas en inglés para: Synthetic Oviduct Fluid suplementado con amino ácidos). Este medio es empleado ampliamente por los grupos que trabajan en clonación en todo el mundo y

presenta la ventaja de rendir elevadas tasas de desarrollo a blastocistos, cuando se lo emplea en atmósfera de 5% de oxígeno y 5% de CO₂ (Zakhartchenko 1999a). Los embriones producidos por el método de HMC, no presentan zona pellúcida, por lo tanto, para su desarrollo *in vitro* se implementará el cultivo en micropocillos taladrados en placas de 4 pocillos, conocido como WOW (del inglés Well on the Well; Vajta y cols 2003).

Los embriones destinados al desarrollo in vivo, se cultivarán inicialmente desde el estadio de 4 células (48 horas) hasta el de blastocisto (día 7) en el oviducto de ovejas receptoras. Los embriones se transferirán por vía laparoscópica a ovejas receptoras de donde serán extraídos al 7^{mo} día y evaluada su calidad por métodos de observación microscópica y de tinción por Hoescht 33342. En paralelo a los embriones transferidos a hembras receptoras temporales ovinas, se cultivarán embriones in vitro y se comparará la eficiencia del desarrollo en ambos casos. Los embriones producidos por HMC serán embebidos en bloques de agar al 1%, para compensar la ausencia de zona pellúcida. Con este enfoque, esperamos incrementar la calidad de los embriones, medida en el número de células de los blastocistos y fundamentalmente en un futuro, el número y progreso de las gestaciones.

Organización del proyecto

Organización de los bancos de células

De modo general, como se ha mencionado en otras secciones, existirán tres bancos del material genético, el primero, banco perpetuo, o Master Bank se conservará intocable bajo cualquier circunstancia, ya que constituye el reservorio de la diversidad genética, sólo en casos de contingencia mayor, como puede ser la destrucción de los otros bancos, o la pérdida del material en ellos, se autorizará a la expansión controlada de una ámpula de la especie(s) afectada. En este banco se




conservarán las células en pasajes o subcultivos, lo más cercanos posible al tejido original o "pase cero".

En un segundo nivel de jerarquía se encuentra el banco de trabajo, este banco se nutre de pasajes ulteriores al "pase cero", pero lo más cercano posible a éste, de modo que sirvan para expandir las líneas celulares para usos investigativos, sin tener que recurrir al Banco Maestro. De este modo, si se asume que el banco de trabajo como promedio albergue células entre los pases 3-5. Si se requieren células de una especie (por ejemplo huemules para clonar), se descongelará un vial del banco de trabajo de dicha especie, se expandirán las células, según sus características de crecimiento, entre 1 y 5 veces (o sea un vial de células congeladas, da lugar a 3-5 placas de cultivo) y una vez llenas estas placas de cultivo, se congelarán de nuevo al menos 3 viales en un pase +1 con respecto al pase en el que se encontraban y estos viales retornan al banco de trabajo, el resto de las células se empleará en el banco de investigaciones. De este modo se garantiza una expansión limitada del banco de trabajo, en pases cercanos (no mayores de 5) del Banco Maestro que permitan asegurar una estabilidad genética y celular adecuadas.

El banco de investigaciones, es aquel que se compone de células en uso por los grupos de trabajo y que pueden encontrarse en distintos pases y de los cuales no se requiere rigurosamente conservar ámpulas cercanas a los bancos maestro y de trabajo. No obstante, como estrategia general, no se mantendrán células en cultivo innecesariamente e incluso los bancos de investigaciones, siguen el mismo orden jerárquico que el descrito aquí para este banco de recursos genéticos, lo que implica que el investigador que ocupe las células debe velar por mantener sus propios bancos de investigación funcionales y organizados, para no tener que acceder a muestras de los bancos de trabajo en primer orden y del maestro en segundo.



Personal a cargo y sus funciones

Fidel Ovidio Castro. Tendrá el cargo de Coordinador del proyecto durante su ejecución. Su función será por una parte la de organizar todas las tareas del proyecto, incluyendo la supervisión del mismo desde el punto de vista económico. Será el responsable de elaborar los informes en conjunto con los otros miembros del equipo técnico, de escribir las eventuales publicaciones que se deriven, de la disponibilidad en tiempo de los recursos y del correcto funcionamiento del laboratorio. Por otra parte participará directamente en la toma de las biopsia de las especies y en el proceso de clonación somática. Será el máximo responsable de las actividades de difusión del proyecto.

Oscar Skewes Ramm. Coordinador alterno del proyecto. Sustituirá al coordinador en su ausencia, será el responsable de las coordinaciones con las personas e instituciones que posean las especies a muestrear. Participará en la elaboración de los informes y publicaciones. Participará directamente en la toma de las biopsia de las especies. Participará activamente en las actividades de difusión del proyecto.

Lleretny Rodríguez Álvarez. Miembro del equipo técnico. Será responsable del trabajo directo en el laboratorio para la obtención de las líneas celulares, cultivos primarios y la congelación, descongelación y evaluación de la viabilidad de las mismas. Adicionalmente llevará a cabo la mayor parte de las tareas del proceso de clonación somática. Participará directamente en la toma de las biopsias de las especies. Participará en la confección del banco de datos y en la escritura de los artículos científicos que se deriven.

Pedro Rojas García. Miembro del equipo técnico. Será responsable de la caracterización fisiológica y molecular de las células, tanto para la creación del banco

de recursos genéticos, como para la clonación. Participará en la confección del banco de datos y en la escritura de los artículos científicos.

José Cox Ureta. Participará en la congelación de semen que eventualmente se lleve a cabo cuando se logren tomar muestras de dicho fluido en algunos machos capturados. Será responsable del funcionamiento del laboratorio de reproducción, en el cual se llevará a cabo el proceso de congelación y de clonación. Participará en la discusión de las actividades y en la escritura de los artículos científicos que se deriven.

Técnico de laboratorio. Será responsable de la logística de funcionamiento del Banco de Recursos Genéticos. Sus responsabilidades incluyen, pero no se limitan a: mantener y reponer los niveles adecuados de nitrógeno en los tanques, llevar el control de todas las actividades relacionadas con la deposición o sustracción de muestras del banco, llevará los records adecuados, velará por el mantenimiento en positivo de los stocks de materiales, medios y otros insumos imprescindibles para el trabajo. Preparará las soluciones y medios necesarios.

Auxiliar general. Compartirá tareas con otras funciones inherentes a su contrato con la Universidad de Concepción, en este proyecto garantizará la limpieza y el orden de los locales y oficinas.

Secretaria. De dedicación compartida conjunto con sus tareas como secretaria del departamento, participará en las coordinaciones, escrituras de informes y otras tareas inherentes a su trabajo específico.

Estrategia de continuidad del banco de recursos genéticos de especies nativas

La Universidad de Concepción implementará los procedimientos necesarios para asumir los gastos de mantenimiento del banco de recurso genético de estas y otras

especies nativas que eventualmente se incorporen al mismo y garantizará la salvaguarda en el tiempo de estos recursos. Este trámite está en gestiones en la actualidad y puede tardar varios meses en concretarse, no obstante es la voluntad de la institución hacerse cargo del mismo, sin fines de lucro, lo que no excluye la intensa relación de trabajo con otros organismos públicos, académicos y productores que eventualmente requieran de los servicios de este banco.

No es interés de la Universidad de Concepción de Concepción formar un negocio o empresa al respecto, pues se considera pagada con el hecho de conservar un banco de esta envergadura y el prestigio que le aporta el mismo, no sólo a ella, sino al país.

No obstante, se prevé que las instituciones o empresas que necesiten hacer depósitos en el banco de especies de interés comercial o científico, los realicen a través de un mecanismo de transferencia de materiales descrito anteriormente. Acorde a la experiencia internacional de bancos similares, no se recomienda el cobro de cuotas a privados o instituciones con fines de mantener el banco con dichos recursos, ya que esto implica una gran responsabilidad, susceptible incluso de demandas legales, por lo que los bancos deben ser de carácter no lucrativo, por ello la Universidad de Concepción, no propone acciones comerciales al respecto, sino más bien duplicaría el modelo de gestión existente para el herbario que alberga en estos momentos.

Gestión y transferencia

El sector privado puede generar un modelo de negocio basado en el trabajo científico-técnico que se realice en este proyecto a fin de crear bancos similares con embriones conservados y de semen de especies de importancia pecuaria. Desde el punto de vista de relaciones con los sectores académico y público, se pretende organizar dentro del marco del proyecto un Seminario en el cual se difundan los



resultados del banco y se estimule a la creación de otros y al enriquecimiento de éste con muestras de otras instituciones. Se desplegará una intensa campaña mediática para hacer pública la existencia de este banco.

SECCIÓN 10 : ACTIVIDADES DEL PROYECTO

(Adjuntar Carta Gantt mensual para la totalidad del proyecto)

AÑO 2005

Objetivo Especif. N°	Actividad N°	Descripción	Fecha Inicio	Fecha Término
Todos	1	Organización del equipo de administración y seguimiento del proyecto	15-12-05	31-12-05
Todos	2	Adquisición de equipos, insumos y materiales	15-12-05	1-2-06
Todos	3	Organización y adecuación de laboratorios e instalaciones de terreno	15-12-05	31-12-05
Todos	4	Instalación y puesta en marcha de equipos	1-2-06	15-2-06
Todos	5	Capacitación de personal profesional y técnico en empleo de equipos y procedimientos específicos de laboratorio y de captura de los animales	15-12-05	31-12-05
1		Estandarizar un procedimiento de colecta de biopsias de cada una de las especies descritas en el proyecto, sin que afecte la viabilidad de los animales donantes de las mismas	15-12-05	31-12-06
1	1.1	Analizar estrategias y métodos de captura de cada especie para la colecta de las muestras	15-12-05	15-01-06
1	1.2	Organizar contactos con las autoridades locales de cada región para coordinar viajes, discutir estrategias e implementarlas	15-01-06	30-01-06



AÑO 2006

Objetivo Especif. N°	Actividad N°	Descripción	Fecha Inicio	Fecha Término
1	1.4	Solicitud de autorizaciones	15-1-06	30-1-06
1	1.5	Colecta de biopsias de las especies seleccionadas	1-3-06	31-12-06
2		Estandarizar procedimientos de cultivo que permitan derivar cultivos primarios viables in vitro	15-1-06	31-12-06
2	2.1	Ajuste de condiciones de cultivo primario para cada tipo de biopsia y de especie	15-1-06	31-12-06
2	2.2	Comparación de los métodos empleados para el establecimiento de los cultivos primarios y seleccionar el más efectivo	15-1-06	31-12-06
2	2.3	Evaluación de la viabilidad celular por métodos cuantitativos y cualitativos	1-10-06	31-12-06
4		Implementar una base de datos que permita el seguimiento y la documentación minuciosa de cada espécimen colectada y congelado	1-3-06	1-9-07
4	4.1	Establecimiento de un proceso para la adquisición de los datos	1-3-06	1-5-06
4	4.2	Evaluación de la funcionalidad de la base de datos	1-5-06	1-1-07
5		Evaluar factibilidad de clonar huemules a partir de células congeladas de estos animales, empleando ovocitos de ciervo rojo como receptores	1-10-06	31-12-08
5	5.1	Desarrollo de procedimientos para la maduración in vitro de ovocitos de ciervos rojos y bovinos	1-10-06	31-7-07



AÑO 2007

Objetivo Especif. N°	Actividad N°	Descripción	Fecha Inicio	Fecha Término
3		Desarrollar metodologías para la crioconservación efectiva, validada y segura de los cultivos primarios obtenidos.	1-1-07	31-12-07
3	3.1	Evaluar dos métodos de crioconservación para el establecimiento del banco congelado	1-1-07	1-7-07
3	3.2	Evaluar viabilidad post descongelación de los cultivos primarios por métodos cualitativos y cuantitativos	1-3-07	1-7-07
3	3.3	Validación de los procedimientos generales de seguridad del banco	1-1-07	1-6-07
4	4.3	Compleción de la base de datos con los datos de las muestras congeladas y comprobada viabilidad	1-7-07	1-9-07
5	5.1	Perfeccionamiento de procedimientos para la maduración in vitro de ovocitos de ciervos rojos	1-1-07	1-5-07
5	5.2	Caracterización de ciclo celular y utilidad en el proceso de clonación de células de huemules	1-3-07	1-6-07
5	5.3	Establecimiento de metodologías de clonación somática de células de huemules en ovocitos de ciervo rojo	1-6-07	31-12-07
6		Establecer un mecanismo de transferencia de los resultados obtenidos hacia el sector académico nacional	15-12-07	1-8-08
6	6.1	Taller Nacional de Banco de Recursos Genéticos Aplicados a la Conservación de Especies Endémicas Silvestres en Peligro de Extinción	15-12-07	15-12-07
6	6.2	Establecer un mecanismo de transferencia de los resultados obtenidos hacia el sector académico nacional y a otros eventuales BRGs	15-12-07	31-12-07




AÑO 2008

Objetivo Especif. N°	Actividad N°	Descripción	Fecha Inicio	Fecha Término
5	5.4	Obtención de embriones clonados de huemules	1-1-08	30-11-08
5	5.5	Estudios de reprogramación nuclear de los embriones clonados	1-2-08	15-10-08
5	5.6	Cariotipo de embriones clonados y análisis molecular de su ploidía y calidad para eventual transferencia	1-2-08	30-11-08
5	5.7	Preparación de condiciones para transferencia de los embriones clonados	1-11-08	31-12-08
6	6.3	Preparación de manual de operación del BRG	1-3-08	1-8-08
Todos	6	Preparación de informe final	15-11-08	31-12-08
Se adjunta carta Grantt en páginas siguientes				




SECCIÓN 11: RESULTADOS ESPERADOS E INDICADORES

11.1. Resultados Esperados por Objetivo

RESULTADOS ESPERADOS									
Obj. Esp. N°	Actividad N°	RESULTADO	INDICADOR	Unidad	Situación inicial	Metas			
						Fecha	Fecha	Fecha	Final
						Jul 2006	Ene 2007	Jul 2007	2008-2009
1	1.5	Colecta de biopsias de las especies seleccionadas	Obtención de biopsias no emparentadas y viables de cada especie	N°/especie	0	3			
			Especies colectadas	N°	0		8		
			Completamiento de las biopsias en número de biopsias por especie tomando en cuenta distancia genética o geográfica	N°/especie	0		3		
2	2.1	Técnica de cultivo primario para cada tipo de biopsia y de especie implementada	Éxito de la Técnica	%	0	60	85	100	
			Completamiento de cultivos primarios por especie relacionados con los %s de sobrevida de la fila superior	N°/especie	0	1	3	3-5	
	2.3	Viabilidad celular de los cultivos documentada	Sobrevida en cultivo	%	0	50	85	85	
	3.1	Técnica de criopreservación para el establecimiento del banco congelado implementada	Éxito de la Técnica	%	0		50	100	
			Completamiento de cultivos primarios preservados con éxito por especie relacionados con los %s de sobrevida de la fila superior	N°/especie			3	3-5	
		Viabilidad celular	Sobrevida a la descongelación	%	0		45	70	



[Handwritten signature]

3	3.2	post congelación documentada	Completamiento de cultivos primarios con viabilidad post-congelación documentada (según fila superior) por especie	Nº/especie			3	3-5	
	3.3	Procedimientos generales de seguridad del banco validados	Eventos de emergencia relacionados con el banco	Nº	0		0	0	
4	4.1	Base de datos validada	Instalación de software para la adquisición de datos	Nº	0		1		
			Funcionalidad de la base de datos	%	0		50	100	
			Completamiento con nuevos datos	%	0			100	
5	5.1	Técnica de obtención de ovocitos implementada	Éxito de la técnica	%	0		45	60	
			Obtención de ovocitos	Nº	0		150	225	
	5.2	Ciclo celular de células de huemules caracterizado	Rendimiento de células aptas para clonar	%	0		40	85	
			Células de huemul listas para clonar	Nº de frascos de cultivo con células aptas para ser clonadas	0		10	15	
	5.3	Técnica de clonación somática de células de huemules en ovocitos de ciervo rojo o de bovinos	Éxito de la Técnica	%	0			15	30 (enero 2008)
	5.4		Embriones divididos > 4 células	Nº y % de éxito	0				10 embriones 25% (Nov 2008)
5.5	Obtención de embriones clonados de huemules	Embriones clonados reprogramados	Nº y % de éxito	0				10 embriones 25% (Nov 2008)	



	5.6		Embriones con análisis molecular	Nº y % de éxito	0				10 embriones 25% (Nov 2008)
	5.7	Embriones de huemules clonados viables y transferibles	Embriones de 1 a 2 semanas de vida.	Nº	0				10 embriones (Marzo 2009)
6	6.1	Taller Nacional de Banco de Recursos Genéticos Aplicados a la Conservación de Especies Endémicas Silvestres en Peligro de Extinción	Taller ejecutado con éxito	Nº de personas asistentes	0				100 (enero 2008)
6	6.3	Manual de Operaciones de Banco de Recursos Genéticos	Documento impreso	Nº de ejemplares distribuidos	0				350 (agosto 2008)



11.2. Detalle de los hitos relevantes del proyecto

HITO		FECHA
HITO 1	Disponer de biopsias adecuadamente congeladas, útiles para derivar cultivos primarios del 87.5% de las especies del proyecto	Julio 2006
HITO 2	Disponer de cultivos primarios caracterizados y con una tasa de sobrevivencia de un 75% de las 8 especies objetivo de este proyecto	Junio 2007
HITO 3	Banco de células congeladas y con viabilidad comprobada de al menos un 50% después de la descongelación para las 8 especies objetivo y con una tasa de multiplicación celular superior al 75%.	Diciembre 2007
HITO 4	Establecimiento de metodología que permita generar embriones clonados de hámulo con un eficiencia de al menos un 10% de desarrollo embionario in vitro	Junio 2008
HITO 5	Embriones clonados viables y transferibles a partir de células de huemules usando ovocitos de ciervos o de vaca como receptores	Diciembre 2008




SECCIÓN 12 : IMPACTO DEL PROYECTO

12.1. Económico

El impacto económico de la conservación de especies es difícil de medir y para ello se emplean tres criterios fundamentales: 1) valores de no consumo, 2) valor de opción y 3) valor de existencia.

Los múltiples beneficios que proveen los ecosistemas y la diversidad biológica no constituyen bienes o servicios en el sentido económico clásico y por lo tanto no aparecen en las estadísticas de la economía nacional (indicadores como el PIB). Sin embargo, la economía en muchos casos depende de estos "servicios ecológicos". Por ejemplo, los bosques montañosos previenen la erosión del suelo y las inundaciones que podrían dañar asentamientos humanos y tierras de cultivo que se encuentran en zonas bajas y los estuarios costeros, sin embargo no se valoran estos daños en los cálculos económicos de rentabilidad de un predio. Debido a esto, grupos de ecólogos, economistas y otros profesionales han intentado estimaciones en términos monetarios de estos servicios clave, tanto para el bienestar social como para la protección del ambiente (Daily, G (1997). Nature's Services: Societal Dependence on Ecosystem Services. Island Press, Washington D.C., Estados Unidos.

Los servicios ambientales que no derivan del consumo de productos se denominan también valores de no consumo. Por otra parte, algunas especies que no tienen un valor económico o un beneficio evidente en el presente podrían tenerlo en el futuro. El valor de opción refleja el deseo de la sociedad o los individuos de conservar una especie por su eventual beneficio futuro (El valor de la diversidad biológica. En : Fundamentos de conservación biológica. Perspectivas latinoamericanas. R. Primack, R. Roíz, P. Freinsinger, R. Dirzo, F. Massardo (Eds). Fondo de Cultura México, 2001. pag 255-310).





Aunque a la mayoría de las especies no se les ha asignado un valor económico directo o indirecto, muchas personas desean fervientemente que éstas continúen existiendo, independientemente de su uso. A este aprecio o respeto por la vida de otros seres vivos se les denomina valor de existencia. Este valor adquiere una expresión económica a través de las donaciones realizadas por personas o instituciones para contribuir a la protección de especies particulares.

El almacenamiento congelado del material genético puede proveer de una política de seguro para futuras pérdidas de la biodiversidad o la posible extinción de una especie determinada (Wildt et al., 1992). Desde el punto de vista estrictamente económico, lo ideal sería poder asignarle algún valor de seguro a la preservación de las especies que se pretenden proteger en el marco de este proyecto, sin embargo, dada la diversidad de animales que se pretende proteger y su escaso valor comercial, esta tarea se convierte en algo menos que imposible y por ello es el impacto del valor de existencia o social el que debe primar.

12.2. Social

Derivado del incremento de la actividad de protección descrita en el marco del proyecto, se puede prever una mayor atención de organismos gubernamentales y privados hacia la conservación de especies en extinción o a la salvaguarda de recursos genéticos valiosos en las distintas ramas de la ganadería, lo que tendrá un impacto social importante, fundamentalmente por la creación de nuevos empleos directos, así como aquellos creados por el desarrollo de actividades derivadas de la introducción de estas especies en el ámbito eco-turístico. Por el hecho de ser una actividad nueva en las regiones que se realizará, promoverá la especialización y aumento de la calificación de los trabajadores y consecuentemente de sus ingresos.





Indudablemente, en el plano nacional e internacional, la credibilidad de Chile y de sus proyectos conservacionistas se verá realizada por este proyecto, lo que constituye un valor intangible pero altamente apreciado, colocando al país en la vanguardia de tecnologías conservacionistas entre los países en desarrollo, a la par de sus homólogos en el mundo industrializado.

Visto desde el punto de vista de la infraestructura que se montará en función del proyecto, otros ramos de la agricultura, la selvicultura y la ganadería se verán beneficiados, pues podrán mediante convenios acceder tanto a los recursos genéticos conservados, como a programas para proteger otros recursos genéticos no contemplados en este proyecto.

12.3. Otros

(Legal, gestión, administración, organizacionales, etc.)

Con la ayuda de este proyecto, se plantea la creación de un centro de salvaguarda de recursos genéticos animales de Chile, concretado en un Banco de Recursos Genéticos localizado en la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad de Concepción, en el Campus Chillán. Su objetivo primordial es el de salvar las especies animales, para las futuras generaciones. Igualmente el papel del Banco, se basaría en aplicar la experiencia y la tecnología existentes para ayudar a la preservación de especies únicas de Chile. Chile es hogar para una diversidad única de hermosos ejemplares de peces, aves y mamíferos, cuya función no es meramente decorativa, sino que cumplen un importante papel en el funcionamiento del ecosistema.

Las futuras generaciones de chilenos estarán agradecidas si por medio de este proyecto se logran salvaguardar especies que se encuentran al filo de la extinción hoy día y que constituyen un invaluable patrimonio nacional.





GOBIERNO DE CHILE
FUNDACIÓN PARA LA
INNOVACIÓN AGRARIA

El BRG puede contribuir a programas de conservación animal, mediante el desarrollo y la aplicación de herramientas modernas de la biología reproductiva, entre las que se incluyen los avances en la embriología, criobiología, la biología celular y molecular. Como parte importante de este proyecto, han de crearse los vínculos necesarios entre entidades que tengan experiencia en los campos de conservación y con programas internacionales en dicha área.

El foco de este programa se centrará en:

- Expandir el conocimiento existente sobre el ciclo reproductivo de las especies a proteger
- Desarrollar procedimientos para coleccionar y salvaguardar los recursos reproductivos de estas especies (semen, embriones, ovocitos y tejidos)
- Adaptar o utilizar las biotecnologías de desarrollo reciente, para asistir a la reproducción y la crianza de especies en peligro de extinción, tanto cautivas como en su ambiente natural.

Desde el punto de vista legal, se preservarán recursos de patrimonio público nacional y se contará con un repositorio de material biológico congelado que podrá ser utilizado por el país en su política medio ambiental, siguiendo las pautas de propiedad sobre los recursos genéticos trazadas por el gobierno de Chile.



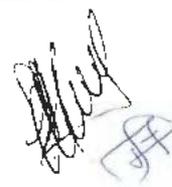
SECCIÓN 13 : EFECTOS AMBIENTALES

13.1. Descripción

Este proyecto está dirigido a salvaguardar los recursos genéticos de 7 especies de mamíferos y una de aves, endémicos de Chile y que se encuentran en peligro de extinción.

Si bien el hecho de crear un Banco de Recursos Genéticos no impacta positivamente de modo directo sobre el medio ambiente a mediano o corto plazos, sí lo hace positivamente en el largo plazo, ya que preserva para futuras generaciones la diversidad biológica de Chile y facilita el rescate de especies al borde de la desaparición, precisamente por efectos adversos sobre el medio ambiente ejercidos por el hombre. De este modo, este proyecto actúa contrarrestando los efectos antrópicos sobre el medio ambiente, generando una modesta pero palpable contribución a la restauración de ecosistemas altamente dañados.

El proyecto *per se* no genera efectos adversos sobre el medio ambiente, ya que las tecnologías que se emplearán no son contaminantes.



SECCIÓN 14 : COSTOS TOTALES DEL PROYECTO: CUADRO RESUMEN

(Resultado de la sumatoria de los cuadros 15.1 y 15.3)

COSTOS TOTALES POR AÑO

ITEM	2005	2006	2007	2008	2009	TOTAL
1. RECURSOS HUMANOS	1.853.044	24.676.528	24.586.528	24.586.528	3.706.088	79.408.716
2. EQUIPAMIENTO						
2.1 . Adquisición de bienes de capital	0	20.642.303	0	0	0	20.642.303
2.2.1. Uso de equipos de cómputo	22.123	245.352	255.168	265.476	44.246	832.365
2.2.2 Uso de equipos de campo	0	1.809.600	1.902.996	1.982.724	0	5.695.320
2.2.3. Uso de equipos de laboratorio	0	3.000.000	4.200.000	4.200.000	0	11.400.000
2.2.4. Otros	0	0	0	0	0	0
Subtotal equipamiento	22.123	25.697.255	6.358.164	6.448.200	44.246	38.569.988
3. INFRAESTRUCTURA						
3.1. Uso de infraestructura	200.000	3.600.000	3.600.000	3.729.996	400.000	11.529.996
3.2. Otros (usos de bienes de capital)	25.703	500.003	500.008	500.022	51.406	1.577.142
Subtotal uso de infraestructura	225.703	4.100.003	4.100.008	4.230.018	451.406	13.107.138
4. MOVILIZACION, VIATICOS, COMBUSTIBLE						
4.1. Viáticos nacionales, alojamiento, comida	0	6.507.000	0	0	0	6.507.000
4.2. Viáticos internacionales, alojamiento, comida	0	0	0	0	0	0
4.3. Arriendo vehículos	0	2.200.000	0	0	0	2.200.000
4.4. Pasajes	0	2.042.300	0	0	0	2.042.300
4.5. Combustibles	0	327.900	0	0	0	327.900
4.6. Peajes	0	330.000	0	0	0	330.000
Subtotal viáticos, viajes, combustibles	0	11.407.200	0	0	0	11.407.200





GOBIERNO DE CHILE
FUNDACIÓN PARA LA
INNOVACIÓN AGRARIA

5. MATERIALES E INSUMOS

5.2. Insumos de laboratorio	1.844.045	3.258.135	1.920.000	1.079.000	0	8.101.180
5.3. Insumos de campo	0	0	0	0	0	0
5.4. Accesorios para capturas	0	2.734.000	0	0	0	2.734.000
5.5. Otros insumos de laboratorio (gases)	0	300.000	300.000	300.000	0	900.000
Subtotal materiales e insumos	1.844.045	6.292.135	2.220.000	1.379.000	0	11.735.180

7. DIFUSION

7.1. Días de campo	0	0	0	0	0	0
7.2. Talleres	0	0	0	0	0	0
7.3. Cursos de capacitación	0	0	0	0	0	0
7.4. Seminarios	0	0	1.974.000	0	0	1.974.000
7.5. Boletines	0	0	0	0	0	0
7.6. Manuales	0	0	0	500.000	0	500.000
7.7. Otros	0	0	0	0	0	0
Subtotal difusión	0	0	1.974.000	500.000	0	2.474.000

8. GASTOS GENERALES

8.1. Consumos básicos	0	0	0	0	0	0
8.2. Fotocopias	0	0	0	0	0	0
8.3. Materiales de oficina	8.750	35.000	35.000	35.000	0	113.750
8.4. Materiales audiovisuales	0	0	0	0	0	0
8.5. Mantenimiento de equipos	0	100.000	100.000	100.000	0	300.000
Subtotal gastos generales	8.750	135.000	135.000	135.000	0	413.750

9. IMPREVISTOS

9. IMPREVISTOS	0	1.177.357	1.177.357	1.177.357	0	3.532.071
TOTAL (\$)	3.953.665	73.485.478	40.551.057	38.456.103	4.201.740	160.648.043



15.1. Aportes de Contraparte: Cuadro Resumen

APORTES UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN POR AÑO

ITEM	2005	2006	2007	2008	2009	TOTAL
1. RECURSOS HUMANOS						
1.1. PROFESIONALES						
Lleretny Rodríguez	0	0	0	0	0	0
Fidel Ovidio Castro	305.644	3.667.728	3.667.728	3.667.728	611.288	11.920.116
Pedro Rojas García	90.000	1.080.000	1.080.000	1.080.000	180.000	3.510.000
Oscar Skewes Ramm	134.800	1.617.600	1.617.600	1.617.600	269.600	5.257.200
José Cox Ureta	122.800	1.473.600	1.473.600	1.473.600	245.600	4.789.200
1.2. TECNICOS						
1.2.1 Técnico 1	0	0	0	0	0	0
1.3. CONSULTORES	0	0	0	0	0	0
1.4. ASESOR CONTABLE	28.800	345.600	345.600	345.600	57.600	1.123.200
1.5 MANO DE OBRA	0	0	0	0	0	0
José Garcés	21.000	252.000	252.000	252.000	42.000	819.000
Subtotal Recursos Humanos	703.044	8.436.528	8.436.528	8.436.528	1.406.088	27.418.716
2. EQUIPAMIENTO						
2.1 . Adquisición de bienes de capital	0	0	0	0	0	0
2.2.1. Uso de equipos de cómputo	22.123	245.352	255.168	265.476	44.246	832.365
2.2.2 Uso de equipos de campo	0	1.809.600	1.902.996	1.982.724	0	5.695.320
2.2.3. Uso de equipos de laboratorio	0	3.000.000	4.200.000	4.200.000	0	11.400.000
2.2.4. Otros	0	0	0	0	0	0
Subtotal equipamiento	22.123	5.054.952	6.358.164	6.448.200	44.246	17.927.685
3. INFRAESTRUCTURA						
3.1. Uso de infraestructura	200.000	3.600.000	3.600.000	3.729.996	400.000	11.529.996
3.2. Otros (usos de bienes de capital)	25.703	500.003	500.008	500.022	51.406	1.577.142
Subtotal uso de infraestructura	225.703	4.100.003	4.100.008	4.230.018	451.406	13.107.138
TOTAL (\$)	950.870	17.591.483	18.894.700	19.114.746	1.901.740	58.453.539



15.2. Aportes de Contraparte: Criterios y Métodos de Valoración

Aportes de contraparte Universidad de Concepción

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

Coordinador General (Fidel .O. Castro) : El señor Castro será contratado por la Universidad de Concepción. El aporte de la Universidad consiste en que el señor Castro dedicará parte de su jornada laboral al proyecto en calidad de Coordinador General durante todo el tiempo que dura el proyecto, a un valor de \$15.228,22 la hora; $5.049 \times 200 \times 0.1 = \305.644 mensuales x 39 meses del proyecto = \$11.920.116

Coordinador Alterno (Oscar Skewes): Aporte de la Universidad de Concepción consiste en permitir un 10% de dedicación del tiempo contratado del personal al proyecto durante todo el tiempo que dura el proyecto, ó $1.348.000 / 200 = 6740$; $6740 \times 200 \times 0.1 = \134.800 mensuales x 39 meses del proyecto = \$5.257.200

Especialista en Reproducción (José Cox): Aporte de la Universidad de Concepción consiste en permitir un 10% de dedicación del tiempo contratado del personal al proyecto durante todo el tiempo que dura el proyecto, ó $1.228.000 / 200 = 6140$; $6140 \times 200 \times 0.1 = \122.800 mensuales x 39 meses del proyecto = \$4.789.200

Especialista en endocrinología molecular (Pedro Rojas): Aporte de la Universidad de Concepción consiste en permitir un 10% de dedicación del tiempo contratado del personal al proyecto durante todo el tiempo que dura el proyecto, ó $900.000 / 200 = 4500$; $4500 \times 200 \times 0.1 = \90.000 mensuales x 39 meses del proyecto = \$3.510.000





Secretaria: Dedicación de 8 horas mensuales = $270.000 / 200 \times 8 = 10.800$ mensuales
x 39 meses del proyecto = \$421.200

Personal Administrativo y Contable: Dedicación de 8 horas mensuales = $450.000 / 200 \times 8 = 18.000$ mensuales x 39 meses del proyecto = \$702.000

Auxiliar limpieza laboratorio: Dedicación de 28 horas mensuales: $150.000 / 200 \times 28 = 21.000$ x 39 meses del proyecto = \$819.000

2. Valorización de uso de equipos

	Imputable proyecto mensual	Año 2005	Año 2006	Año 2007	Año 2008	Año 2009	Total imputable al proyecto
2.1.Equipos computacionales	22.123	22.123	245.352	255.168	265.476	44.246	832.365
2.2.Equipos de Campo		0	1.809.600	1.902.996	1.982.724	0	5.695.320

Uso equipamiento laboratorio clonación y producción de embriones: Consiste en el costo alternativo de arrendar el equipamiento del laboratorio, el cual ha sido fijado por la Universidad de Concepción en \$ 250.000 mensuales

Oficina coordinador general y de los otros tres (3) académicos de la Universidad de Concepción, involucrados en el proyecto: Es el costo alternativo de arrendar una oficina para ser ocupada por los susodichos académicos, considerando que no se puede subdividir su uso. Corresponde a \$ 40.000 por cada oficina ó \$ 160.000 mensuales

Oficina secretaria y personal administrativo 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 el quirófano (para las transferencias de los



[Handwritten signature]



embriones a las ciervas), considerando que el equipamiento que contiene, está instalado y funcionando y no puede ser retirado en los momentos en que el laboratorio no se ocupa. Corresponde a \$ 200.000 mensuales.

Corrales para hembras receptoras de ovocitos: Corresponde a los corrales que posee la Facultad de Medicina Veterinaria, en la cual se alojarían las ciervas a las cuales se les transferirán los embriones clonados. Dado su alto grado de especialización e infraestructura se arrienda en \$ 25.000 por mes de uso en el período que dura la actividad de transferencia de los embriones (4 meses). Corresponde a \$ 100.000.

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.

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

Envío de documentos a FIA: Se estima un gasto de \$ 3.000 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%).



15.3. Financiamiento Solicitado a FIA: Cuadro Resumen

APORTES FIA POR AÑO

ITEM	2005	2006	2007	2008	2009	TOTAL
1. RECURSOS HUMANOS						
1.1. PROFESIONALES						
Llrethny Rodríguez	700.000	10.840.000	10.750.000	10.750.000	1.400.000	34.440.000
Fidel Ovidio Castro	250.000	3.000.000	3.000.000	3.000.000	500.000	9.750.000
Pedro Rojas García	0	0	0	0	0	0
Oscar Skewes Ramm	0	0	0	0	0	0
José Cox Ureta	0	0	0	0	0	0
1.2. TECNICOS	0	0	0	0	0	0
1.2.1 Técnico 1	200.000	2.400.000	2.400.000	2.400.000	400.000	7.800.000
1.3. CONSULTORES	0	0	0	0	0	0
1.4. ASESOR CONTABLE	0	0	0	0	0	0
1.5 MANO DE OBRA	0	0	0	0	0	0
José Garcés	0	0	0	0	0	0
Subtotal Recursos Humanos	1.150.000	16.240.000	16.150.000	16.150.000	2.300.000	51.990.000
2. EQUIPAMIENTO						
2.1. Adquisición de bienes de capital	0	20.642.303	0	0	0	20.642.303
2.2.1. Uso de equipos de cómputo	0	0	0	0	0	0
2.2.2. Uso de equipos de campo	0	0	0	0	0	0
2.2.3. Uso de equipos de laboratorio	0	0	0	0	0	0
2.2.4. Otros	0	0	0	0	0	0
Subtotal equipamiento	0	20.642.303	0	0	0	20.642.303



3. INFRAESTRUCTURA

3.1. Uso de infraestructura	0	0	0	0	0	0
3.2. Otros (usos de bienes de capital)	0	0	0	0	0	0
Subtotal uso de infraestructura	0	0	0	0	0	0

4. MOVILIZACION, VIATICOS, COMBUSTIBLE

4.1. Viáticos nacionales, alojamiento, comida	0	6.507.000	0	0	0	6.507.000
4.2. Viáticos internacionales, alojamiento, comida	0	0	0	0	0	0
4.3. Arriendo vehiculos	0	2.200.000	0	0	0	2.200.000
4.4. Pasajes	0	2.042.300	0	0	0	2.042.300
4.5. Combustibles	0	327.900	0	0	0	327.900
4.6. Peajes	0	330.000	0	0	0	330.000
Subtotal viáticos, viajes, combustibles	0	11.407.200	0	0	0	11.407.200

5. MATERIALES E INSUMOS

5.2. Insumos de laboratorio	1.844.045	3.258.135	1.920.000	1.079.000	0	8.101.180
5.3. Insumos de campo	0	0	0	0	0	0
5.4. Accesorios para capturas	0	2.734.000	0	0	0	2.734.000
5.5. Otros insumos de laboratorio (gases)	0	300.000	300.000	300.000	0	900.000
Subtotal materiales e insumos	1.844.045	6.292.135	2.220.000	1.379.000	0	11.735.180

6. SERVICIO DE TERCEROS

6.1. Análisis de laboratorio	0	0	0	0	0	0
6.2. Diseño	0	0	0	0	0	0
6.3. Otros servicios	0	0	0	0	0	0
Subtotal servicio de terceros	0	0	0	0	0	0



7. DIFUSION

7.1. Días de campo	0	0	0	0	0	0
7.2. Talleres	0	0	0	0	0	0
7.3. Cursos de capacitación	0	0	0	0	0	0
7.4. Seminarios	0	0	1.974.000	0	0	1.974.000
7.5. Boletines	0	0	0	0	0	0
7.6. Manuales	0	0	0	500.000	0	500.000
7.7. Otros	0	0	0	0	0	0
Subtotal difusión	0	0	1.974.000	500.000	0	2.474.000

8. GASTOS GENERALES

8.1. Consumos básicos	0	0	0	0	0	0
8.2. Fotocopias	0	0	0	0	0	0
8.3. Materiales de oficina	8.750	35.000	35.000	35.000	0	113.750
8.4. Materiales audiovisuales	0	0	0	0	0	0
8.5. Mantención de equipos	0	100.000	100.000	100.000	0	300.000
Subtotal gastos generales	8.750	135.000	135.000	135.000	0	413.750

9. IMPREVISTOS

9. IMPREVISTOS	0	1.177.357	1.177.357	1.177.357	0	3.532.071
TOTAL (\$)	3.002.795	55.893.995	21.656.357	19.341.357	2.300.000	102.194.504



15.4. Financiamiento Solicitado a FIA: Criterios y Métodos de Valoración

Recursos humanos

Contratación de personal especialista. Licenciado en biología, especialidad en cultivo celular, manejo de células, técnicas moleculares *in vitro*, criopreservación. Se calculó con dedicación total de 200 horas mensuales a razón de \$4415 la hora, durante los 39 meses de duración del proyecto.

Contratación de técnico de laboratorio. Para el mantenimiento del banco, conservación de las muestras, llenado de datos y rótulos, etiquetado, abastecimiento de nitrógeno líquido, control de los stocks. Se calculó con dedicación total de 200 horas mensuales a razón de \$1000 la hora, durante los 39 meses de duración del proyecto.

El profesional, señor Fidel Castro, además de ser Coordinador General del proyecto gracias a los aportes de la Universidad de Concepción, dispondrá parte de su jornada laboral para trabajar como Jefe Técnico del proyecto. Para cumplir esta segunda función se le pagarán honorarios por \$250.000 mensuales por los 39 meses que dura el proyecto.

Equipamiento

Adquisición de equipo de cómputo. PC tipo Pentium IV con impresora láser jet, para el control de la base de datos del banco. Se consideró el precio promedio de las ofertas recibidas en el Departamento durante el año 2005. Se adjuntan cotizaciones.

Se consideró la **adquisición de un sistema de tanque de nitrógeno líquido** con alarma y reservorios para la reposición del mismo. Este equipo conjuntamente con el congelador de -86 grados Celsius, es el corazón del proyecto, pues en ambos se





guardarán las muestras de células de las especies a conservar. Se incluyeron accesorios como ruedas para hacer móvil, libro de trabajo, cajas y viales de congelación, marcadores resistentes al nitrógeno líquido. Se adjunta cotización.

Se consideró la **adquisición de un freezer o congelador de -86 grados Celsius** y sus accesorios para las etapas intermedias de la congelación: . Se adjunta cotización

Es vital para el proyecto un **gabinete de flujo laminar vertical** que permita el trabajo con muestras, sin peligro de contaminarlas o de ser contaminados. . Se adjunta cotización.

Se requiere una incubadora de CO₂ para el establecimiento de los cultivos primarios a partir de las biopsias de los animales, así como para el cultivo de los embriones clonados. . Se adjunta cotización.

Mobilización, viáticos y alojamiento

Se asumió que todos los movimientos del personal involucrado en el proyecto se llevarán a cabo en el primer año de ejecución. La siguiente tabla recoge el desglose de los gastos y debajo de ella se muestra la base de cálculo empleada.



Rubro de costo / Especie	Taruca	Huemul	Huillín	Comadreja	Huiña	Zorro Darwin	Chinchilla	Picaflor JF
pasajes terrestre	30.000	30.000	28.000	60.000	175.800	94.500	48.000	30.000
pasajes aéreos	362.000	374.000	0	0	0	0	0	810.000
arriendo camioneta	280.000	280.000	120.000	280.000	560.000	120.000	560.000	0
peajes	42.000	42.000	18.000	42.000	84.000	18.000	84.000	0
combustible	40.000	40.000	24.750	40.000	79.200	24.750	79.200	0
viáticos	943.000	943.000	943.000	943.000	943.000	472.000	660.000	660.000
Subtotal movilización	1.697.000	1.709.000	1.133.750	1.365.000	1.842.000	729.250	1.431.200	1.500.000
								Σ: 11.407.200
accesorios de captura (rifle)	300.000	300.000	0	0	0	0	0	0
dardos biopsias	225.000	225.000	0	0	0	0	0	0
accesorios	150.000	150.000	0	202.500	121.500	0	0	0
trampas	0	0	0	210.000	140.000	0	150.000	0
cebos	0	0	0	10.000	20.000	15.000	15.000	0
fármacos	100.000	100.000	200.000	0	0	100.000	0	0
Subtotal accesorios captura	775.000	775.000	200.000	422.500	281.500	115.000	165.000	0
								Σ: 2.734.000
TOTAL	2.472.000	2.484.000	1.333.750	1.787.500	2.123.500	844.250	1.596.200	1.500.000
								Σ: 14.141.200
sitio captura	Arica	Coihaique	Valdivia	Osorno	8, 10 regiones	Chiloé	R.N. Las Chinchillas	isla JF
pasajes	3 pasajes aéreos	3 pasajes aéreos	2 pasaje bus	3 pasaje bus	3 pasajes bus	3 pasajes bus	3 pasajes bus	3 pasajes aéreos
viáticos días x personas	10 d x 3p	10 d x 3p	15d x 2pp	10 d x 3p	10 d x 3p	5d x 3p	7d x 3pp	7d x 3pp



Bases de cálculo:

viático UdeC al 09-11-03 = \$ 31.414/día

Arriendo cta: \$ 40.000 /día

Kilometraje: 10 km por litro

Combustible: 495 pesos por litro de diesel

Peajes: 4 peajes por día de uso, por 1.500 pesos cada uno

pasajes : ver cada caso

Viaje a la I Región: Para muestreo de Taruca. Se trasladarán 3 personas en bus de Chillán a Santiago, a razón de \$5.000 en cada dirección, según tarifas de Tur-Bus. Pasaje aéreo Santiago- Arica y retorno a un costo de \$120.666, según ofertas online de Lan Chile. Se calcularon viáticos para 30 personas/días. La movilización hasta las zonas de muestreo se prevé mediante el arriendo de una camioneta diesel.

Viaje a Isla Robinson Crusoe en archipiélago Juan Fernández. Para muestreo de Picaflor de Juan Fernández. Se trasladarán 3 personas en bus de Chillán a Santiago, cálculo de \$5.000 en cada dirección, según tarifas de Tur-Bus. Pasaje aéreo Santiago- Juan Fernández y retorno a un costo de \$270.000, según ofertas online de Lassa. Se calcularon viáticos para el equivalente a 21 días-hombre (o 7 días 3 personas).

Viaje a Chiloe, X^{ma} región. Para muestreo de Zorro de Darwin o chilote y de la Huiña o Güiña. Se trasladarán 3 personas en bus de Chillán a Chiloe, cálculo de \$10.000 en cada dirección, según tarifas de Tur-Bus. Se calcularon viáticos para un equivalente de 45 días-hombre. Se prevén dos viajes de captura, uno para cada especie, para no sobrecargar la estancia y espaciar las mismas. La movilización hasta las zonas de muestreo se prevé mediante el arriendo de una camioneta diesel.





GOBIERNO DE CHILE
FUNDACIÓN PARA LA
INNOVACIÓN AGRARIA

Viaje a IX y X^{ma} regiones, Zona del río Cautín (IX) y Volcán de Osorno (X). Para muestreo de Comadreja trompuda y Huillín. Se trasladarán 3 personas en bus de Chillán a Osorno. Se calcularon viáticos para 60 días-hombre. Se realizarán dos viajes, para no simultanear las capturas, sobre todo teniendo en cuenta que la captura de huillín se prevé como la más compleja y es la única calendariada para finales del 2006. La movilización hasta las zonas de muestreo se prevé mediante el arriendo de una camioneta (ver más adelante).

Viaje a la IV región. Para muestreo de Chinchilla. Se trasladarán 3 personas en bus de Chillán a La Serena y de ahí en camioneta arrendada a la Reserva Nacional de Las Chinchillas en la Cuarta Región. Se calcularon viáticos para 21 días-hombre. La movilización hasta las zonas de muestreo se prevé mediante el arriendo de una camioneta diesel.

Muestreos de huemules en la X región. Se calculó el pasaje de 3 personas por Tur-Bus de Chillán a Santiago con una tarifa de \$10.000 por persona el viaje de ida y vuelta y 3 pasajes aéreos a Balmaceda (Coihaique), con un coste de \$124.666 cada uno.

Los implementos de captura (trampas, jaulas y cebos), así como los medicamentos que se emplearán en los animales, se calcularon según los datos enviados por los líderes de la temática por cada especie, sobre la base de sus experiencias previas.

Insumos de laboratorio

Se trazó una estrategia de adquisición secuencial de los **insumos** acorde a los objetivos, las actividades y los hitos propuestos. Esencialmente se trata de material desechable para el cultivo de tejidos, medios, suero y enzimas, así como reactivos para el trabajo de clonación de células de huemules. El cálculo se hizo sobre la base



[Handwritten signature]
JFA



de las cotizaciones del año 2005 para trabajos e insumos similares que se ocupan en el Departamento.

Para los **gases de laboratorio**, tales como CO₂, O₂, y nitrógeno se calculó sobre la base de los gastos actuales del laboratorio de fertilización in vitro y clonación del Departamento a razón de \$ 300.000 por año.

Difusión

Se prevé la realización de un **seminario de difusión** de los resultados del banco de recursos genéticos con un costo de \$1.974.000, tomando como modelo un seminario similar para 40 personas organizado por el laboratorio en 2005.

Manual de Banco de Recursos Genéticos: Costo de diagramación, impresión del manual. Distribución gratis, para un total de \$500.000 según el seminario mencionado en el párrafo anterior.

Generales

Material de oficina (resmas, scotch tape, repuestos para desk jet, disquetes y otros, de difícil cálculo) Se estimó \$8.750 por trimestre

Mantenimiento de equipos y compra de piezas de repuesto. Se calcularon \$100.000 anuales sobre la base de la experiencia de proyectos del Departamento.

Imprevistos

A razón de un 5% anual, contando previamente con la aprobación de FIA.



SECCIÓN 16 : ANÁLISIS ECONÓMICO DEL PROYECTO

16.1. Criterios y Supuestos Utilizados en el Análisis

Como se ha destacado en acápite anteriores, es muy difícil valorar económicamente el valor de que una especie no se extinga o que se rescate alguna extinta o prácticamente extinta. Es por ello que en la sección de impactos del proyecto se incluyó toda una descripción de la literatura internacional relacionada con la forma de valorar económicamente un proyecto de esta naturaleza. El valor del rescate genético de especies es intangible y constituye patrimonio y orgullo nacional, por lo que es inadecuado calcular el mismo.

Un análisis muy elemental daría como resultado que el costo de establecer varias líneas celulares que garanticen biodiversidad a nivel de recursos de bancos genéticos y eventualmente el rescate de especies en grave peligro de extinción sería el producto de la división del costo total del proyecto entre el número de líneas celulares que se deriven, al menos 8, en caso del aislamiento exitoso de sólo una línea por especie a salvaguardar y por lo menos 40 en el escenario exitoso de que se obtengan 5 líneas por especie, dichos cálculos arrojarían los siguientes valores

Escenario 1 (subóptimo; una línea por especie u 8 líneas totales)

\$1.766.939

Escenario 2 (medianamente exitoso; 3 líneas por especie ó 24 líneas totales)

\$588.979

Escenario 3 (altamente exitoso; 5 líneas por especie; ó 40 líneas totales)

\$353.387



En cualquiera de los tres escenarios, pero sobre todo en los dos últimos es obvio que el costo de elaboración y conservación de las líneas celulares que eventualmente

permitirían su salvaguarda para el patrimonio de biodiversidad nacional, es bajo, si se lo compara con el impacto social, económico (si bien no cuantificado) y ambiental que tendría.

Es indudable que a los efectos de cualquier valoración de competitividad de este proyecto con respecto a otros que tengan un retorno cuantificable, la ausencia de marcadores de valorización objetiva del valor de las especies, lo pone en desventaja. De ahí la importancia de entender el impacto científico, social y también económico de este proyecto.

Alternativamente, se podría valorar la posibilidad de ofrecer un servicio de clonación para rescatar animales de alto valor genético y multiplicarlos, como donadores de semen para programas de mejora genética mediante inseminación artificial u otros usos. Se analizó que en ganado bovino este servicio se puede ofrecer con eficiencia similar a la de otros grupos en el mundo, tomando en cuenta la eficiencia histórica en clonación del colectivo de este proyecto. No obstante, en la actualidad, la producción de animales clonados con fines productivos, no es un negocio lucrativo a corto plazo, debido a la ineficiencia de la tecnología en su estado actual para generar animales clonados de manera efectiva. Se prevé que en un plazo de un año, desde el momento de la colecta de la biopsia del animal a clonar se produzcan de promedio 4 clones de un animal determinado. Se llevó a cabo análisis económico privado a 10 años plazo a fin de evaluar su rentabilidad.

La evaluación económica del presente servicio reviste cierta complejidad debido a que el principal impacto de la tecnología a desarrollar se refleja en un gasto significativo que sería necesario para iniciar el servicio con un adecuado nivel de eficiencia desde el principio. Por lo tanto el productor individual que desee la multiplicación de un animal elite, preferentemente un toro macho, dado el nivel de desarrollo de la clonación en dicha especie y para poder propagar su valor mediante



inseminación artificial, deberá estar conciente del nivel de egresos que presupone el inicio del servicio.

Por lo anterior, no se puede plantear una evaluación económica incremental en la cual la situación sin proyecto que sería deseable utilizar no existe en la práctica, puesto que no es práctica habitual iniciar un proceso de mejora genética erogando la totalidad de la suma a pagar por un futuro semental, antes de que éste exista. Se ha debido entonces emplear un escenario sin proyecto realista, en el cual se adquiere la mejor genética posible de encontrar a nivel internacional, con lo cual la comparación resultará altamente favorable a la situación con proyecto. En este sentido, conviene recalcar el gran impacto que el logro de los objetivos del proyecto tendrá al permitir la existencia de varias copias del animal elite, de alto nivel productivo, lo cual actualmente aún no ha sido realizado en Chile.

Las formas de solucionar el dilema de los grandes gastos iniciales de completamiento tecnológico y de operación pueden ser dos, a saber: 1) préstamo bancario de consumo, con amortización en cinco años, 2) pago por parte del cliente de una suma alzada previa al inicio del trabajo, la cual sería devuelta en su totalidad, en caso de fracaso de la clonación, ese es el modo de operar de la compañía norteamericana Cyagra con sede en Elizabethtown, Pennsylvania, la única que ofrece un servicio similar al aquí propuesto. En Cyagra, el cliente adelanta la suma a cancelar por los clones (19 mil dólares por el primero y alrededor de 5 mil dólares por los otros que pudieran producirse) y se les descuenta del precio de venta de los clones, en caso de que no se produzcan clones, los clientes reciben su dinero de vuelta. En nuestro análisis, hemos preferido centrarnos en el primer enfoque (préstamo bancario no hipotecario, con un 8% de interés anual) dada la poca cultura de genética de clase que existe en el país y las dificultades que acarrearía el enfoque del pago previo por el cliente. Adicionalmente, ante el fallo eventual de producir clones de un animal determinado, de igual modo habría que recurrir a préstamo




bancario para amortizar las deudas contraídas con el cliente, por todo ello, el análisis se basó en la adquisición de un préstamo por 32 millones de pesos para equipamiento y adecuación de infraestructura y de 50 millones de pesos para gastos operacionales de los años CERO y PRIMERO, se consideró un préstamo a 5 años, con una tasa del 8% de interés anual.

Situación base de la proyección del negocio productivo

Se ha planteado un horizonte de evaluación de 10 años, incluido el año CERO, hasta el año 9. Se han tomado como supuestos, la generación de 4 terneros clonados por cliente y un incremento de la clientela de $n=3$ para los años 0 y 1, $n=4$ para los años 2 y 3, $n=6$ para los años 4 y 5, $n= 8$ para los años 6 y 7 y de $n=10$ para los años 8 y 9. Este número de clientes reflejaría una penetración de mercado mínima, si se tiene en cuenta el número de fundos con ganado élite con que cuenta el país (no contamos con ese dato). En todos los casos, se ha presupuesto la copia de animales de carne del mayor mérito genético integral posible, para su uso como sementales productores de semen, en programas de mejora genética intensiva..

Como se conoce la inversión VNA comienza un período anterior a la fecha del flujo de caja de valor 1 (año 1) y el valor se calcula en base a flujos de caja futuros. En el análisis de VNA realizado, no se incluye el costo inicial de la inversión en la fórmula de cálculo, porque el pago ocurre al principio del primer período, el valor de la inversión inicial (año cero) se le suma en la fórmula de cálculo (ver hojas de cálculo de formato Excel, hoja Cálculos financieros).

Supuestos de la situación sin proyecto.

Existen dos variantes de la situación sin proyecto; en la primera se adquieren cuatro animales de alto valor en el mercado internacional, asumiendo que esa misma cantidad y calidad serían obtenidas a través del servicio de clonación. En la segunda




variante, se importa el semen de un semental selecto, se inseminan vacas de alto mérito y se obtiene descendencia, se pretenden obtener 10 toretes, a partir de los cuales, se seleccionarán los 4 mejores, mediante test de progenie. El test de progenie consiste en estudiar al menos 20 hijos por cada toro y comparar los indicadores productivos relevantes para cada torete en sus progenies. Los datos son analizados a través de estadígrafos específicos, mediante la contratación de consultorías especializadas en el extranjero. De este modo, se obtendrán al final de la prueba los 4 mejores toros, situación equivalente a la variante 1 y a la situación con proyecto.

En el análisis sin proyecto se han considerado los distintos gastos operativos y de capital requeridos, lo mismo se ha realizado para la operación con proyecto.

Supuestos de la situación con proyecto.

En la situación con proyecto, la existencia de la alternativa de disponer de varias copias del mismo animal permite disponer de un número mayor de dosis de semen. La producción se iniciaría con 4 clones por año, lo que permitiría homogenizar el nivel genético de los animales al más alto estándar.

Supuestos del análisis económico

Personal

Dos profesionales y un técnico al 25 % de su tiempo durante los primeros cuatro años del servicio

Un obrero de cuadras a tiempo completo todo el servicio

Dos profesionales y un técnico contratados al 100% del tiempo entre los años 4-9.

Dos obreros a tiempo completo a partir del año 4-9.





Equipamiento

Préstamo (crédito de consumo) de 32 millones de pesos para invertir el primer año, cinco años de amortización al 8% anual.

Infraestructura

Nuevas cuadras para animales a partir del año 4

Materiales e insumos

Se duplican los insumos de laboratorio a partir del año 4

Costo de compra de una vaca receptora de embriones: 300 mil pesos

Se añaden 24 vacas al rebaño al segundo año, en reemplazo de las primeras 24 que se gestaron el primer año. En el tercer año se reincorporan las que parieron el primer año. Se incorporan 56 nuevas vacas en el año 4 para garantizar los incrementos de producción de clones

Alimentación animal: \$700/animal/día

Medicamentos: \$20000/animal/año

Honorarios veterinarios: 2UF/hora (UF calculada a 18.300)

Préstamo (crédito de consumo) de 50 millones de pesos para gastos operacionales, a invertir el primer año, cinco años de amortización al 8% anual.

Precios de venta

Se consideró como base de cálculo 5 millones de peso por animal clonado (según precios de la Universidad de Georgia, Estados Unidos)

Se consideró 200 dólares por embrión clonado

Se valoró el dólar a 535 pesos chilenos



Los supuestos del análisis en la situación sin proyecto se encuentran descritos en la hoja de cálculo siguiente:

	Año Cero
1. Recursos humanos	
Técnico (salario 400.000) x 10 meses	1.000.000
Obrero de cuadras (215 000 x 12 meses)	2.580.000
2. INFRAESTRUCTURA	
Uso de infraestructura	1.679.988
Subtotal uso de infraestructura	1.679.988
TRANSPORTE	
Depreciación vehículo	166.656
ANIMALES Y GASTOS OPERACIONALES	
Costo de un toro élite en el extranjero	12.000.000
Costo de transporte e internalización al país por toro	1.000.000
Costo de importar 4 toros élite	3.500.000
Costo de 4 toros élitos en Chile	51.500.000
Años de servicio	4
Costos fijos y variables anuales mantenimiento toro	595.000
Costos totales de mantenimiento toro vida útil	2.380.000
Costos totales de mantenimiento todos los toros toda la vida útil	9.520.000
Gran total	65.446.644
TOTAL GASTOS DE OBTENCIÓN DE GENÉTICA	65.446.644
NUMERO DE SEMENTALES	4
GASTOS PARA DISPONER DE UN SEMENTAL	16.361.661,00



Supuestos biológicos

Eficiencia de gestación con embriones clonados: 30%

Eficiencia de generación de clones viables: 50% de los animales nacidos ó 15% total

Evaluación económica de la situación con proyecto

Del análisis anterior se puede concluir que el servicio de clonación de animales elites para productores individuales puede ser atractivo para la empresa (Universidad de Concepción) pero el nivel de inversión previo, a través del préstamo bancario es elevado y la amortización de los gastos comienza a ser efectiva sólo a partir del





sexto año de servicio en la variante de menor precio de venta de los clones (ver análisis de sensibilidad) y con altos costos operacionales, lo que implica que es una inversión sobre la cual se precisa cautela.

Cuando se lo compara con la situación sin proyecto, resulta claro que el cliente preferirá la compra de los sementales clonados y no la importación de sementales altamente cotizados en el mercado internacional, mediante los cuales podrá disponer de abundantes dosis de semen, tanto para la venta, como para su propia ganancia genética. En las situaciones sin proyecto, el ganadero tiene que erogar un costo mayor por cada semental que si comprare el animal clonado, por otra parte, la ventaja adicional radica en que al ser copia idéntica del animal de élite, no existe la duda de cómo se diluirá el genofondo a través del pase por la hembra. En otras palabras, el semen de un toro de alto valor, tiene que usarse necesariamente en inseminación artificial y generar hijos que deben ser parecidos al padre, pero el efecto de la madre es un elemento a tener en cuenta en la "dilución" de la calidad genética. Este fenómeno no ocurre en la clonación, ya que se multiplica "asexualmente; sin efecto materno, el animal deseado. Por todo ello, una vez que el servicio funcione de manera eficiente se preferirá pagar por un animal clonado, que por un semental importado o semen de éste.

Una alternativa interesante, de menor costo y de potencial impacto, es la venta de embriones clonados a un precio asequible a muchos ganaderos, de este modo, el ganadero correrá con los gastos inherentes a la transferencia de los embriones clonados, de los vientre receptores y de su manutención y potencialmente obtendrá animales de alto valor. Para la empresa no es atractiva la venta de los embriones per se, ya que su valor es muy inferior al de un animal clonado y como principio sólo vendería embriones de otros animales siempre que exista un pedido para clonar un animal existente.





La importación de semen para obtener 4 animales de élite, tampoco es factible debido a que los costos de los test de progenie, así como el largo intervalo de tiempo asociado a la disponibilidad de toros probados, no lo hace atractivo.

Para el servicio contemplado en el proyecto se requiere de la búsqueda de otras variantes económicas de financiamiento inicial del mismo, las cuales no son analizadas en este análisis, pero que pudieran incluir, los pagos adelantados por parte de los clientes, la alianza estratégica con otros inversionistas potencialmente interesados, la franquicia de alguna compañía internacional que pudiera querer conquistar el mercado chileno. Adicionalmente, el valor de Chile como país sanitariamente privilegiado desde el punto de vista zoo-sanitario puede tener valor agregado para este último caso.

Como alternativa pudieran plantearse otros servicios que estarían directamente vinculados con los costos de la derivación de líneas celulares planteados al inicio de esta sección. Por ejemplo Cyagra ofrece la obtención y preservación de líneas de fibroblastos a partir de biopsias de piel, que contienen el ADN completo de un individuo escogido, lo que permitirá su uso en clonación o testaje genético, lo primero, cuando las tecnologías se abaraten en un futuro mediano. Este servicio puede estar disponible para cualquier especie o raza.

Análisis de sensibilidad

Se ha efectuado un análisis de sensibilidad para las situaciones con proyecto, en cuatro escenarios, en los cuales se mantienen fijos los gastos operaciones y totales y se varía el precio de venta de los animales clonados en función de los precios internacionales y de la realidad chilena. En el primer escenario, los clones son vendidos a un precio de 5 millones de pesos cada uno (alrededor de 10 mil dólares, que es el precio que cobra por ejemplo la Universidad de Georgia en Estados



Unidos; Steven Stice, comunicación personal). En los restantes escenarios, los precios de venta se incrementan en 500 mil pesos por animal desde los 6 hasta los 7 millones de pesos (unos 13 mil dólares). El escenario 2= precio de venta 6 millones; escenario 3= precio de venta 6.5 millones y escenario 4= precio de venta 7 millones de pesos.

Variable escenario	o	Situación con proyecto		Flujos asimilados al (%)
		TIR (%)	VNA (M\$)	
Valor de ventas millones	5	1%	-69,813,938	10
Valor de ventas millones	6	17%	63,303,973	10
Valor de ventas millones	6.5	25%	132,082,037	10
Valor de ventas millones	7	32%	205,298,319	10



Como se puede apreciar del análisis de sensibilidad realizado, la venta de la genética de élite a través de animales clonados, no sería rentable si el precio de venta es de 5 millones de pesos por clón, con las condiciones de financiamiento presupuestadas para este análisis. Sólo a partir de valores de realización de 6, 6.5 ó 7 millones de pesos por cada animal clonado, los indicadores financieros calculados, el TIR y el VNA con flujos asimilados al 10% son atractivos.. Los indicadores de rentabilidad expresados en TIR y VNA son mejores cuando los valores de venta son de 7 millones de pesos. Este precio es superior al que ofrece Cyagra por ejemplo, que contemplaría 19000 USD por el primer clón y 5000 por cada uno de los otros tres (15 mil totales+19 mil= 34000 USD ó aproximadamente 18 millones de pesos chilenos. Steve Stice cobra 10000 por clón ó 40000 dólares por los cuatro clones (21 millones de pesos chilenos) y nosotros cobraríamos al menos 26 millones de pesos por la misma cantidad de animales si se vendieran a 6.5 millones la unidad ó 28 millones a 7 millones la unidad. Estas cifras si bien superiores a las de los Estados Unidos, parecen sensatas para el entorno chileno, en donde el nivel de ofrecimiento

tecnológico es menor y los servicios de alta tecnología necesariamente tienen un precio mayor que en otros países.

En el análisis de sensibilidad también se puede apreciar la dinámica de retorno de las ganancias. Se calculó el tiempo requerido para que el TIR superara el 10% o tasa de asimilación de los flujos y en que el VNA fuera positivo, para poder tener idea de la rentabilidad en el tiempo del servicio propuesto. Los resultados se muestran en la siguiente tabla:

Variable escenario	Situación con proyecto		Año	Flujos asimilados al (%)
	TIR (%)	VNA (M\$)		
Valor de ventas 5 millones	1%	-69,813,938	No se obtienen ni TIR >10% ni VNA positivo	10
Valor de ventas 6 millones	13%	19,143,399	Octavo	10
Valor de ventas 6.5 millones	14%	21,532,732.96	Séptimo	10
Valor de ventas 7 millones	17%	29,298,626	Sexto	10

Análisis económico desde el punto de vista del productor.

El análisis económico presentado hasta el momento permite apreciar que la ejecución del proyecto y la obtención de los resultados esperados para escalarlos comercialmente son convenientes a la empresa postulante si se obtiene un préstamo de consumo o si se le efectúan cancelaciones parciales, contra cumplimiento de etapas o hitos. Cabe preguntarse si esta misma percepción se mantiene al analizar el negocio post proyecto desde el punto de vista del productor.




Como se puede apreciar a partir de la situación sin proyecto, en cualquiera de sus dos variantes, el productor se beneficia si cancela el monto solicitado por cada toro clonado y es más atractiva su compra que la importación de un semental o de semen del mismo. De ese modo, si se asume un semental de la mayor calidad posible, el productor debe pagar al menos 12 millones de pesos por la compra, sin incluir los montos de transportación a Chile, permisos, mantenimiento, etc, lo que compilaría un total de 16.3 millones de pesos. Esta suma duplica el costo de la compra de dos copias (clones) de ese mismo animal, incluso si el precio de venta es de 7 millones de pesos.

Puede darse la situación de que el productor desee o esté en condiciones de pagar sólo un clon y no los cuatro que se les ofrece como salida de producto, esta situación favorable para el productor, es desfavorable para el servicio, ya que se vería forzada la empresa a reducir los precios de venta de los clones 2-4, y en ningún caso podría ofrecer el resto de los animales a un valor inferior al costo de producción + el margen de ganancias. De las tablas que siguen se puede apreciar que sólo a partir del sexto año del servicio, con una eficiencia mejorada y un rendimiento anual de 32 clones, la empresa sería capaz de ofrecer el segundo clon y los restantes a un precio ligeramente inferior al de 5 millones de pesos.

En la situación sin proyecto 2, el productor incurre en un gasto de aproximadamente 16.3 millones de pesos para disponer de 4 sementales probados, cuyo valor es muy similar al de la situación sin proyecto 1. El análisis realizado ha tenido en cuenta el valor de la venta de los toros (n=200) una vez terminada la prueba de progenie. Lógicamente la situación sin proyecto 2, es la menos probable de ser asimilada por los productores, ya que el productor incurre en los mismos gastos que si importa los sementales, pero tiene que mantener un sistema complejo de test de progenie y de producción de carne adicionales para paliar los gastos de la compra de animales élite. Esta situación compara de igual modo que en sin proyecto 1, con la compra de





animales clonados y parece ser entonces, que la opción de ofrecer un servicio de clonación de ganado super élite de carne en Chile puede ser tentadora. Pasará indudablemente por una concientización del productor de las ventajas del servicio y una adecuada implementación de la tecnología en el país, tareas ambas que debe asumir la empresa de manera muy seria si se plantea la introducción de un negocio de ese tipo.



VALORACION ECONOMICA DEL SERVICIO DE CLONACION. ESCENARIO VENTA DE ANIMALES CLONADOS A UN PRECIO DE 5 MILLONES DE PESOS POR CADA UNO

	Año 0	Año 1	Año 2	Año 3	Año 4	Año 5	Año 6	Año 7	Año 8	Año 9	TOTAL
1 Recursos humanos											
1.1 PROFESIONALES											
Dos profesionales y un técnico con una dedicación del 25%											
Profesional 1 (salario 1.250.000) x 10 meses	3.125.000	3.125.000	3.125.000	3.125.000	10.000.000	10.000.000	10.000.000	10.000.000	10.000.000	10.000.000	
Profesional 2 (salario 1.250.000) x 10 meses	3.125.000	3.125.000	3.125.000	3.125.000	10.000.000	10.000.000	10.000.000	10.000.000	10.000.000	10.000.000	
Técnico (salario 400.000) x 10 meses	1.000.000	1.000.000	1.000.000	1.000.000	4.000.000	4.000.000	4.000.000	4.000.000	4.000.000	4.000.000	
Obrero de cuadras (215.000 x 12 meses)	2.580.000	2.580.000	2.580.000	2.580.000	5.160.000	5.160.000	5.160.000	5.160.000	5.160.000	5.160.000	
Subtotal Recursos Humanos	9.830.000	9.830.000	9.830.000	9.830.000	29.160.000	29.160.000	29.160.000	29.160.000	29.160.000	29.160.000	
2 Gastos de administración, ventas y comercialización											
2.1 Asesor contable (salario 450.000) 8 horas mensuales	180.000	180.000	180.000	180.000	180.000	180.000	180.000	180.000	180.000	180.000	
2.2 Gastos de venta (anuncios, trámites, legalizaciones, transporte)	0	1.000.000	1.000.000	1.000.000	1.000.000	1.000.000	1.000.000	1.000.000	1.000.000	1.000.000	
Subtotal gastos de administración, ventas y comercialización	180.000	1.180.000	1.180.000	1.180.000	1.180.000	1.180.000	1.180.000	1.180.000	1.180.000	1.180.000	
2 EQUIPAMIENTO											
2.2.1. Uso de equipos de cómputo	54.996	54.997	54.998	54.998	54.998	54.998	54.998	54.998	54.998	54.998	
2.2.2. Uso de equipos de laboratorio	1.258.032	1.258.033	1.258.034	1.258.034	1.258.034	1.258.034	1.258.034	1.258.034	1.258.034	1.258.034	
2.2.4. Adquisición de equipamiento (prestamo 32 millones)	32.000.000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
2.2.3. Pago de interés préstamo (8% anual)	0	2.560.000	2.560.000	2.560.000	2.560.000	0	0	0	0	0	
Subtotal equipamiento	33.313.028	3.873.030	3.873.032	3.873.032	3.873.032	1.313.032	1.313.032	1.313.032	1.313.032	1.313.032	
3 INFRAESTRUCTURA											
3.1 Uso de infraestructura	1.679.988	1.679.988	1.679.988	1.679.988	1.679.988	1.679.988	1.679.988	1.679.988	1.679.988	1.679.988	
3.2 Huecos cuadras para animales	0	0	0	0	5.000.000	5.000.000	5.000.000	5.000.000	5.000.000	5.000.000	
Subtotal uso de infraestructura	1.679.988	1.679.988	1.679.988	1.679.988	6.679.988	2.179.988	2.179.988	2.179.988	2.179.988	2.179.988	
4 TRANSPORTE											
4.1 Depreciación vehículo	166.656	166.656	166.656	166.656	166.656	166.656	166.656	166.656	166.656	166.656	
AMORTIZACION DE EQUIPOS E INMUEBLES	35.159.672	5.719.674	5.719.676	5.719.676	10.719.676	3.659.676	3.659.677	3.659.678	3.659.678	3.659.678	
5 MATERIALES E INSUMOS											
5.2 Insumos de laboratorio	2.353.387	2.353.387	2.353.387	2.353.387	4.706.774	4.706.774	4.706.774	4.706.774	4.706.774	9.412.000	
5.3 Gases (51400 x 5000 de LN2 + 2 cilindros CO2 80000 c/u)	880.000	880.000	880.000	880.000	1.760.000	1.760.000	1.760.000	1.760.000	1.760.000	1.760.000	
5.4 Animales (80 vacas receptoras x 300 mil cada una)	24.000.000	31.200.000	31.200.000	31.200.000	48.000.000	48.000.000	48.000.000	48.000.000	48.000.000	48.000.000	
5.5 Alimentos carne animales (5700 x día)	20.440.000	30.132.000	30.132.000	30.132.000	44.440.000	44.440.000	44.440.000	44.440.000	44.440.000	44.440.000	
5.6 Medicamentos (520000 x animal x año)	1.600.000	2.080.000	2.080.000	2.080.000	3.200.000	3.200.000	3.200.000	3.200.000	3.200.000	3.200.000	
5.7 Honorarios veterinarios (2 UF/hora) 4 h x mcs UF=18.300	1.756.800	2.635.200	2.635.200	2.635.200	3.512.000	3.512.000	3.512.000	3.512.000	3.512.000	3.512.000	
5.8 Combustibles	2.152.000	2.152.000	2.152.000	2.152.000	2.152.000	2.152.000	2.152.000	2.152.000	2.152.000	2.152.000	
5.9 Peajes	96.000	96.000	96.000	96.000	96.000	96.000	96.000	96.000	96.000	96.000	
5.10 Intereses préstamo operación. Años 0-1 (8% de 50 millones)	0	4.000.000	4.000.000	4.000.000	4.000.000	0	0	0	0	0	
Subtotal materiales e insumos	63.278.187	75.528.587	75.528.587	75.528.587	111.866.774	107.866.774	107.866.774	107.866.774	112.572.000	112.572.000	
TOTAL GASTOS DE GENERACIÓN DE CLONES	98.447.859	92.258.261	92.258.263	92.258.263	162.926.450	141.866.450	141.866.451	141.866.452	145.571.678	145.571.678	
NUMERO DE CLONES	12	12	16	16	24	24	32	32	40	40	
GASTOS PARA GENERAR UN CLON	8.203.988	7.688.188	5.766.141	5.766.141	6.371.935	5.911.102	4.433.327	4.433.327	3.664.292	3.664.292	
6 CANTIDAD DE CLIENTES POR AÑO	3	3	4	4	6	6	8	8	10	10	
7 CANTIDAD ANIMALES CLONADOS SOLICITADOS/CLIENTE	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	
8 PRECIO DE VENTA POR ANIMAL CLONADO	0	5.000.000	5.000.000	5.000.000	5.000.000	5.000.000	5.000.000	5.000.000	5.000.000	5.000.000	
9 CANTIDAD DE EMBRIONES CLONADOS SOLICITADOS	0	40	60	60	80	80	100	100	100	100	
10 PRECIO DE VENTA POR EMBRION CLONADO	0	107.000	107.000	107.000	107.000	107.000	107.000	107.000	107.000	107.000	
11. VENTAS POR ANIMALES CLONADOS	0	60.000.000	80.000.000	80.000.000	120.000.000	120.000.000	160.000.000	160.000.000	200.000.000	200.000.000	
12. VENTAS DE EMBRIONES CLONADOS	0	4.280.000	6.420.000	6.420.000	8.560.000	8.560.000	10.700.000	10.700.000	10.700.000	10.700.000	
TOTAL (\$)	-98.447.859	-27.978.261	-6.838.263	-6.838.263	-24.366.450	-13.306.460	26.833.649	26.833.648	64.128.322	64.128.322	10.148.195



VALORACION ECONOMICA DEL SERVICIO DE CLONACION. ESCENARIO VENTA DE ANIMALES CLONADOS A UN PRECIO DE 6 MILLONES DE PESOS POR CADA UNO

	Año 0	Año 1	Año 2	Año 3	Año 4	Año 5	Año 6	Año 7	Año 8	Año 9	TOTAL
1 Recursos humanos											
1.1 PROFESIONALES											
Dos profesionales y un técnico con una dedicación del 25%											
Profesional 1 (salario 1.250.000) x 10 meses	3.125.000	3.125.000	3.125.000	3.125.000	3.125.000	3.125.000	3.125.000	3.125.000	3.125.000	3.125.000	31.250.000
Profesional 2 (salario 1.250.000) x 10 meses	3.125.000	3.125.000	3.125.000	3.125.000	3.125.000	3.125.000	3.125.000	3.125.000	3.125.000	3.125.000	31.250.000
Técnico (salario 400.000) x 10 meses	1.000.000	1.000.000	1.000.000	1.000.000	1.000.000	1.000.000	1.000.000	1.000.000	1.000.000	1.000.000	10.000.000
Obrero de cuadras (215.000 x 12 meses)	2.580.000	2.580.000	2.580.000	2.580.000	2.580.000	2.580.000	2.580.000	2.580.000	2.580.000	2.580.000	25.800.000
Subtotal Recursos Humanos	9.830.000	9.830.000	9.830.000	9.830.000	9.830.000	9.830.000	9.830.000	9.830.000	9.830.000	9.830.000	98.300.000
2 Gastos de administración, ventas y comercialización											
2.1 Asesor contable (salario 450.000) 3 Fojas mensuales	180.000	180.000	180.000	180.000	180.000	180.000	180.000	180.000	180.000	180.000	1.800.000
2.2 Gastos de venta (anuncios, trámites, legalizaciones, transporte)	0	1.000.000	1.000.000	1.000.000	1.000.000	1.000.000	1.000.000	1.000.000	1.000.000	1.000.000	10.000.000
Subtotal gastos de administración, ventas y comercialización	180.000	1.180.000	1.180.000	1.180.000	1.180.000	1.180.000	1.180.000	1.180.000	1.180.000	1.180.000	11.800.000
2 EQUIPAMIENTO											
2.2.1 Uso de equipos de cómputo	54.998	54.997	54.998	54.998	54.998	54.998	54.998	54.998	54.998	54.998	549.981
2.2.2 Uso de equipos de laboratorio	1.258.032	1.258.033	1.258.034	1.258.034	1.258.034	1.258.034	1.258.034	1.258.034	1.258.034	1.258.034	12.580.332
2.2.4 Adquisición de equipamiento (préstamo 32 millones)	32.000.000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	32.000.000
2.2.5 Pago de interés préstamo (8% anual)	0	2.560.000	2.560.000	2.560.000	2.560.000	2.560.000	2.560.000	2.560.000	2.560.000	2.560.000	25.600.000
Subtotal equipamiento	33.313.028	3.873.030	3.873.032	3.873.032	3.873.032	3.873.032	3.873.032	3.873.032	3.873.032	3.873.032	33.313.028
3 INFRAESTRUCTURA											
3.1 Uso de infraestructura	1.679.988	1.679.988	1.679.988	1.679.988	1.679.988	1.679.988	1.679.988	1.679.988	1.679.988	1.679.988	16.799.880
3.2 Nuevas cuadras para animales	0	0	0	0	500.000	500.000	500.000	500.000	500.000	500.000	5.000.000
Subtotal uso de infraestructura	1.679.988	1.679.988	1.679.988	1.679.988	1.679.988	1.679.988	1.679.988	1.679.988	1.679.988	1.679.988	16.799.880
4 TRANSPORTE											
4.1 Depreciación vehículo	166.656	166.656	166.656	166.656	166.656	166.656	166.656	166.656	166.656	166.656	1.666.560
AMORTIZACION DE EQUIPOS E INMUEBLES	35.159.672	5.719.674	5.719.676	5.719.676	5.719.676	5.719.676	5.719.676	5.719.676	5.719.676	5.719.676	57.196.720
5. MATERIALES E INSUMOS											
5.2 Insumos de laboratorio	2.353.387	2.353.387	2.353.387	2.353.387	2.353.387	2.353.387	2.353.387	2.353.387	2.353.387	2.353.387	23.533.870
5.3 Gases (51400 x 500l de LN2 + 2 cilindros CO2 90000 c/u)	890.000	890.000	890.000	890.000	890.000	890.000	890.000	890.000	890.000	890.000	8.900.000
5.4 Animales (80 vacas receptoras x 300 ml cada una)	24.000.000	31.200.000	31.200.000	31.200.000	31.200.000	31.200.000	31.200.000	31.200.000	31.200.000	31.200.000	312.000.000
5.5 Alimentos para animales (5700 x día)	20.440.000	36.132.000	36.132.000	36.132.000	36.132.000	36.132.000	36.132.000	36.132.000	36.132.000	36.132.000	361.320.000
5.6 Medicamentos (520000 x animal x año)	1.600.000	2.080.000	2.080.000	2.080.000	2.080.000	2.080.000	2.080.000	2.080.000	2.080.000	2.080.000	20.800.000
5.7 Honorarios veterinarios (2 UF/hora) 4 h x mes UF=18.300	1.756.800	2.635.200	2.635.200	2.635.200	2.635.200	2.635.200	2.635.200	2.635.200	2.635.200	2.635.200	26.352.000
5.8 Combustibles	2.152.000	2.152.000	2.152.000	2.152.000	2.152.000	2.152.000	2.152.000	2.152.000	2.152.000	2.152.000	21.520.000
5.9 Peajes	96.000	96.000	96.000	96.000	96.000	96.000	96.000	96.000	96.000	96.000	960.000
5.10 Intereses préstamo operacional Años 0-1 (8% de 50 millones)	0	4.000.000	4.000.000	4.000.000	4.000.000	4.000.000	4.000.000	4.000.000	4.000.000	4.000.000	40.000.000
Subtotal materiales e insumos	53.278.187	75.528.587	75.528.587	75.528.587	75.528.587	75.528.587	75.528.587	75.528.587	75.528.587	75.528.587	755.285.870
TOTAL GASTOS DE GENERACION DE CLONES	98.447.859	92.258.261	92.258.263	92.258.263	92.258.263	92.258.263	92.258.263	92.258.263	92.258.263	92.258.263	922.582.630
NUMERO DE CLONES	12	12	16	16	24	24	32	32	40	40	40
GASTOS PARA GENERAR UN CLON	8.203.988	7.688.188	5.766.141	5.766.141	3.843.750	3.843.750	2.882.969	2.882.969	1.912.500	1.912.500	23.064.292
6 CANTIDAD DE CLIENTES POR AÑO	3	3	4	4	6	6	8	8	10	10	10
7 CANTIDAD ANIMALES CLONADOS SOLICITADOS/CLIENTE	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
8 PRECIO DE VENTA POR ANIMAL CLONADO	0	6.000.000	6.000.000	6.000.000	6.000.000	6.000.000	6.000.000	6.000.000	6.000.000	6.000.000	60.000.000
9 CANTIDAD DE EMBRIONES CLONADOS SOLICITADOS	0	40	60	60	80	80	100	100	100	100	100
10 PRECIO DE VENTA POR EMBRION CLONADO	0	107.000	107.000	107.000	107.000	107.000	107.000	107.000	107.000	107.000	1.070.000
11. VENTAS POR ANIMALES CLONADOS	0	72.000.000	96.000.000	96.000.000	96.000.000	144.000.000	144.000.000	192.000.000	192.000.000	240.000.000	240.000.000
12 VENTAS DE EMBRIONES CLONADOS	0	4.280.000	4.280.000	4.280.000	4.280.000	4.280.000	4.280.000	4.280.000	4.280.000	4.280.000	42.800.000
TOTAL (\$)	-98.447.859	-15.978.261	8.021.737	10.161.737	-2.506.450	10.693.550	58.693.549	60.833.548	104.128.322	104.128.322	239.728.195



VALORACION ECONOMICA DEL SERVICIO DE CLONACION. ESCENARIO VENTA DE ANIMALES CLONADOS A UN PRECIO DE 6.5 MILLONES DE PESOS POR CADA UNO

	Año 0	Año 1	Año 2	Año 3	Año 4	Año 5	Año 6	Año 7	Año 8	Año 9	TOTAL
1 Recursos humanos											
1.1. PROFESIONALES											
1.1.1 Dos profesionales y un técnico con una dedicación del 25%											
Profesional 1 (salario 1.250.000) x 10 meses	3.125.000	3.125.000	3.125.000	3.125.000	10.000.000	10.000.000	10.000.000	10.000.000	10.000.000	10.000.000	10.000.000
Profesional 2 (salario 1.250.000) x 10 meses	3.125.000	3.125.000	3.125.000	3.125.000	10.000.000	10.000.000	10.000.000	10.000.000	10.000.000	10.000.000	10.000.000
Técnico (salario 400.000) x 10 meses	1.000.000	1.000.000	1.000.000	1.000.000	4.000.000	4.000.000	4.000.000	4.000.000	4.000.000	4.000.000	4.000.000
Obrero de cuadras (215.000 x 12 meses)	2.580.000	2.580.000	2.580.000	2.580.000	5.160.000	5.160.000	5.160.000	5.160.000	5.160.000	5.160.000	5.160.000
Subtotal Recursos Humanos	9.830.000	9.830.000	9.830.000	9.830.000	29.160.000	29.160.000	29.160.000	29.160.000	29.160.000	29.160.000	29.160.000
2 Gastos de administración, ventas y comercialización											
2.1 Asesor contable (salario 450.000) 8 horas mensuales	180.000	180.000	180.000	180.000	180.000	180.000	180.000	180.000	180.000	180.000	180.000
2.2 Gastos de venta (anuncios, trámites, legalizaciones, transporte)	0	1.000.000	1.000.000	1.000.000	1.000.000	1.000.000	1.000.000	1.000.000	1.000.000	1.000.000	1.000.000
Subtotal gastos de administración, ventas y comercialización	180.000	1.180.000	1.180.000	1.180.000	1.180.000	1.180.000	1.180.000	1.180.000	1.180.000	1.180.000	1.180.000
2 EQUIPAMIENTO											
2.2.1. Uso de equipos de computo	54.998	54.997	54.998	54.998	54.998	54.998	54.998	54.998	54.998	54.998	54.998
2.2.3. Uso de equipos de laboratorio	1.258.032	1.258.033	1.258.034	1.258.034	1.258.034	1.258.034	1.258.034	1.258.034	1.258.034	1.258.034	1.258.034
2.2.4. Adquisición de equipamiento (préstamo 32 millones)	32.000.000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2.2.5. Pago de interés préstamo (8% anual)	0	2.560.000	2.560.000	2.560.000	2.560.000	0	0	0	0	0	0
Subtotal equipamiento	33.313.028	3.873.030	3.873.032	3.873.032	3.873.032	1.313.032	1.313.032	1.313.032	1.313.032	1.313.032	1.313.032
3 INFRAESTRUCTURA											
3.1. Uso de infraestructura	1.679.988	1.679.988	1.679.988	1.679.988	1.679.988	1.679.988	1.679.988	1.679.988	1.679.988	1.679.988	1.679.988
3.2. Nuevas cuadras para animales	0	0	0	0	5.000.000	5.000.000	5.000.000	5.000.000	5.000.000	5.000.000	5.000.000
Subtotal uso de infraestructura	1.679.988	1.679.988	1.679.988	1.679.988	6.679.988	2.179.988	2.179.988	2.179.988	2.179.988	2.179.988	2.179.988
4 TRANSPORTE											
4.1 Depreciación vehículo	166.656	166.656	166.656	166.656	166.656	166.656	166.656	166.656	166.656	166.656	166.656
AMORTIZACION DE EQUIPOS E INMUEBLES	35.159,672	5.719,674	5.719,676	5.719,676	10.719,676	3.659,676	3.659,677	3.659,678	3.659,678	3.659,678	3.659,678
5. MATERIALES E INSUMOS											
5.2. Insumos de laboratorio	2.353.387	2.353.387	2.353.387	2.353.387	4.706.774	4.706.774	4.706.774	4.706.774	9.412.000	9.412.000	9.412.000
5.3. Gases (51400 x 500) de LN2 + 2 cilindros CO2 90000 c/di	880.000	880.000	880.000	880.000	1.760.000	1.760.000	1.760.000	1.760.000	1.760.000	1.760.000	1.760.000
5.4. Animales (80 vacas receptoras x 300 mil cada una)	24.000.000	31.200.000	31.200.000	31.200.000	48.000.000	48.000.000	48.000.000	48.000.000	48.000.000	48.000.000	48.000.000
5.5. Alimentos para animales (\$700 x día)	20.440.000	30.132.000	30.132.000	30.132.000	44.440.000	44.440.000	44.440.000	44.440.000	44.440.000	44.440.000	44.440.000
5.6. Medicamentos (\$20000 x animal x año)	1.800.000	2.080.000	2.080.000	2.080.000	3.200.000	3.200.000	3.200.000	3.200.000	3.200.000	3.200.000	3.200.000
5.7. Honorarios veterinarios (2 UF/hora) 4 h x mes UF=18.300	1.756.800	2.635.200	2.635.200	2.635.200	3.512.000	3.512.000	3.512.000	3.512.000	3.512.000	3.512.000	3.512.000
5.8. Combustibles	2.152.000	2.152.000	2.152.000	2.152.000	2.152.000	2.152.000	2.152.000	2.152.000	2.152.000	2.152.000	2.152.000
5.9. Peajes	96.000	96.000	96.000	96.000	96.000	96.000	96.000	96.000	96.000	96.000	96.000
5.10. Intereses préstamo operacional Años 0-1 (8% de 50 millones)	0	4.000.000	4.000.000	4.000.000	4.000.000	0	0	0	0	0	0
Subtotal materiales e insumos	53.278.187	75.528.587	75.528.587	75.528.587	111.866.774	107.866.774	107.866.774	107.866.774	112.572.000	112.572.000	112.572.000
TOTAL GASTOS DE GENERACIÓN DE CLONES	98.447,859	92.258,261	92.258,263	92.258,263	152.926,450	141.666,450	141.666,451	141.666,452	146.571,678	146.571,678	146.571,678
NUMERO DE CLONES	12	12	16	16	24	24	32	32	40	40	40
GASTOS PARA GENERAR UN CLON	8.203,988	7.688,188	5.766,141	5.766,141	6.371,935	5.911,102	4.433,327	4.433,327	3.664,292	3.664,292	3.664,292
6 CANTIDAD DE CLIENTES POR AÑO	3	3	4	4	6	6	8	8	10	10	10
7. CANTIDAD ANIMALES CLONADOS SOLICITADOS/CLIENTE	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
8. PRECIO DE VENTA POR ANIMAL CLONADO	0	6.500.000	6.500.000	6.500.000	6.500.000	6.500.000	6.500.000	6.500.000	6.500.000	6.500.000	6.500.000
9. CANTIDAD DE EMBRIONES CLONADOS SOLICITADOS	0	40	60	60	80	80	100	100	100	100	100
10. PRECIO DE VENTA POR EMBRION CLONADO	0	107.300	107.000								
11. VENTAS POR ANIMALES CLONADOS	0	78.000.000	104.000.000	104.000.000	156.000.000	156.000.000	208.000.000	208.000.000	260.000.000	260.000.000	260.000.000
12. VENTAS DE EMBRIONES CLONADOS	0	4.280.000	4.280.000	6.420.000	6.420.000	8.560.000	8.560.000	10.700.000	10.700.000	10.700.000	10.700.000
TOTAL (\$)	-98.447,859	-9.978,261	16.021,737	18.161,737	9.493,550	22.693,550	74.683,548	76.833,548	124.128,322	124.128,322	357.728,195



VALORACION ECONOMICA DEL SERVICIO DE CLONACION. ESCENARIO VENTA DE ANIMALES CLONADOS A UN PRECIO DE 7 MILLONES DE PESOS POR CADA UNO

	Año 0	Año 1	Año 2	Año 3	Año 4	Año 5	Año 6	Año 7	Año 8	Año 9	TOTAL
1 Recursos humanos											
1.1 PROFESIONALES											
Dos profesionales y un técnico con una dedicación del 25%											
Profesional 1 (salario 1.250.000) x 10 meses	3.125.000	3.125.000	3.125.000	3.125.000	3.125.000	3.125.000	3.125.000	3.125.000	3.125.000	3.125.000	31.250.000
Profesional 2 (salario 1.250.000) x 10 meses	3.125.000	3.125.000	3.125.000	3.125.000	3.125.000	3.125.000	3.125.000	3.125.000	3.125.000	3.125.000	31.250.000
Técnico (sa año 400.000) x 10 meses	1.000.000	1.000.000	1.000.000	1.000.000	1.000.000	1.000.000	1.000.000	1.000.000	1.000.000	1.000.000	10.000.000
Obrero de cuadras (215.000 x 12 meses)	2.580.000	2.580.000	2.580.000	2.580.000	2.580.000	2.580.000	2.580.000	2.580.000	2.580.000	2.580.000	25.800.000
Subtotal Recursos Humanos	9.830.000	9.830.000	9.830.000	9.830.000	9.830.000	9.830.000	9.830.000	9.830.000	9.830.000	9.830.000	98.300.000
2 Gastos de administración, ventas y comercialización											
2.1 Asesor contable (salario 450.000) 8 horas mensuales	180.000	180.000	180.000	180.000	180.000	180.000	180.000	180.000	180.000	180.000	1.800.000
2.2 Gastos de venta (anuncios, trámites legalizaciones, transporte)	0	1.000.000	1.000.000	1.000.000	1.000.000	1.000.000	1.000.000	1.000.000	1.000.000	1.000.000	10.000.000
Subtotal gastos de administración, ventas y comercialización	180.000	1.180.000	1.180.000	1.180.000	1.180.000	1.180.000	1.180.000	1.180.000	1.180.000	1.180.000	11.800.000
2. EQUIPAMIENTO											
2.2 Uso de equipos de cómputo	54.998	54.997	54.998	54.998	54.998	54.998	54.998	54.998	54.998	54.998	549.982
2.2.3 Uso de equipos de laboratorio	1.258.034	1.258.034	1.258.034	1.258.034	1.258.034	1.258.034	1.258.034	1.258.034	1.258.034	1.258.034	12.580.340
2.2.4 Adquisición de equipamiento (préstamo 32 millones)	32.000.000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	32.000.000
2.2.5 Pago de intereses préstamo (8% anual)	0	2.560.000	2.560.000	2.560.000	2.560.000	2.560.000	2.560.000	2.560.000	2.560.000	2.560.000	25.600.000
Subtotal equipamiento	33.313.028	3.873.030	3.873.032	3.873.032	3.873.032	3.873.032	3.873.032	3.873.032	3.873.032	3.873.032	33.313.028
3 INFRAESTRUCTURA											
3.1 Uso de infraestructura	1.679.988	1.679.988	1.679.988	1.679.988	1.679.988	1.679.988	1.679.988	1.679.988	1.679.988	1.679.988	16.799.880
3.2 Nuevas cuadras para animal es	0	0	0	0	500.000	500.000	500.000	500.000	500.000	500.000	5.000.000
Subtotal uso de infraestructura	1.679.988	1.679.988	1.679.988	1.679.988	6.679.988	2.179.988	2.179.988	2.179.988	2.179.988	2.179.988	21.799.868
4 TRANSPORTE											
4.1 Depreciación vehículo	166.656	166.656	166.656	166.656	166.656	166.656	166.656	166.656	166.656	166.656	1.666.560
AMORTIZACION DE EQUIPOS E INMUEBLES	36.159,672	5.719,674	5.719,676	5.719,676	10.719,676	3.659,676	3.659,677	3.659,678	3.659,678	3.659,678	36.599,678
5. MATERIALES E INSUMOS											
5.2 Insumos de laboratorio	2.353.387	2.353.387	2.353.387	2.353.387	4.706.774	4.706.774	4.706.774	4.706.774	9.412.000	9.412.000	47.067.740
5.3 Gases (S14CO x 500l de LN2 + 2 cilindros CO2 90000 cil)	880.000	880.000	880.000	880.000	1.760.000	1.760.000	1.760.000	1.760.000	1.760.000	1.760.000	17.600.000
5.4 Animales (80 vacas receptoras x 300 mil cada una)	24.000.000	31.200.000	31.200.000	31.200.000	48.000.000	48.000.000	48.000.000	48.000.000	48.000.000	48.000.000	480.000.000
5.5 Alimentos para animales (S700 x día)	20.440.000	30.132.000	30.132.000	30.132.000	44.440.000	44.440.000	44.440.000	44.440.000	44.440.000	44.440.000	444.400.000
5.6 Medicamentos (S20000 x animal x año)	1.600.000	2.080.000	2.080.000	2.080.000	3.200.000	3.200.000	3.200.000	3.200.000	3.200.000	3.200.000	32.000.000
5.7 Honorarios veterinarios (2 UF/hora) 4 h x mes UF=18.300	1.756.800	2.635.200	2.635.200	2.635.200	3.512.000	3.512.000	3.512.000	3.512.000	3.512.000	3.512.000	35.120.000
5.8 Combustibles	2.152.000	2.152.000	2.152.000	2.152.000	2.152.000	2.152.000	2.152.000	2.152.000	2.152.000	2.152.000	21.520.000
5.9 Peajes	96.000	96.000	96.000	96.000	96.000	96.000	96.000	96.000	96.000	96.000	960.000
5.10 Intereses préstamo operacional Años 0-1 (8% de 50 millones)	0	4.000.000	4.000.000	4.000.000	4.000.000	0	0	0	0	0	40.000.000
Subtotal materiales e insumos	53.278.187	75.528.587	75.528.587	75.528.587	111.866.774	107.866.774	107.866.774	107.866.774	112.572.000	112.572.000	1.118.666.774
TOTAL GASTOS DE GENERACION DE CLONES	98.447,859	92.258,261	92.258,263	92.258,263	152.926,450	141.866,450	141.866,451	141,866,452	146,571,678	146,571,678	1.465.716,778
NUMERO DE CLONES	12	12	16	16	24	24	32	32	40	40	144
GASTOS PARA GENERAR UN CLON	8.203,998	7.688,186	5.766,141	5.766,141	6.371,935	5.911,102	4.433,327	4.433,327	3.664,292	3.664,292	10.163,600
6 CANTIDAD DE CLIENTES POR AÑO	3	3	4	4	6	6	8	8	10	10	40
7 CANTIDAD ANIMALES CLONADOS SOLICITADOS/CLIENTE	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	16
8 PRECIO DE VENTA POR ANIMAL CLONADO	0	7.000,000	7.000,000	7.000,000	7.000,000	7.000,000	7.000,000	7.000,000	7.000,000	7.000,000	70.000,000
9 CANTIDAD DE EMBRIONES CLONADOS SOLICITADOS	20	40	60	60	80	80	100	100	100	100	400
10 PRECIO DE VENTA POR EMBRION CLONADO	0	107,000	107,000	107,000	107,000	107,000	107,000	107,000	107,000	107,000	4.280,000
11. VENTAS POR ANIMALES CLONADOS	0	84,000,000	112,000,000	112,000,000	168,000,000	168,000,000	224,000,000	224,000,000	280,000,000	280,000,000	2.240,000,000
12. VENTAS DE EMBRIONES CLONADOS	0	4,280,000	6,420,000	6,420,000	8,560,000	8,560,000	10,700,000	10,700,000	10,700,000	10,700,000	85,260,000
TOTAL (\$)	-88.447,859	-3.978,261	26.161,737	26.161,737	23.633,550	34,693,550	92,833,549	92,833,548	144,128,322	144,128,322	482.148.195



VALORACION ECONOMICA DE LA SITUACION SIN PROYECTO 1. IMPORTACION DE 4 SEMENTALES DE ELITE

	Año Cero
1. Recursos humanos	
Técnico (salario 400.000) x 10 meses	1,000,000
Obrero de cuadras (215.000 x 12 meses)	2,580,000
2. INFRAESTRUCTURA	
Uso de infraestructura	1,679.988
Subtotal uso de infraestructura	1,679,988
TRANSPORTE	
Depreciación vehículo	166,656
ANIMALES Y GASTOS OPERACIONALES	
Costo de un toro élite en el extranjero	12,000,000
Costo de transporte e internalización al país por toro	1,000,000
Costo de importar 4 toros élite	3,500,000
Costo de 4 toros élites en Chile	51,500,000
Años de servicio	4
Costos fijos y variables anuales mantenimiento toro	595,000
Costos totales de mantenimiento toro vida útil	2,380,000
Costos totales de mantenimiento todos los toros toda la vida útil	9,520,000
Gran total	65,446,644
TOTAL GASTOS DE OBTENCION DE GENETICA	65,446,644
NUMERO DE SEMENTALES	4
GASTOS PARA DISPONER DE UN SEMENTAL	16,361,661.00






VALORACION ECONÓMICA DE LA SITUACION SIN PROYECTO 2. IMPORTACION DE SEMEN DE SEMENTAL ELITE, REPRODUCCION LOCAL Y SELECCIÓN A TRAVES DE TEST DE PROGENIE DE 4 TOROS SEMENTALES

	Año Cero
1 Recursos humanos	
Técnico (salario 400 000) x 10 meses	1,000,000
Obrero de cuadras (215 000 x 12 meses)	2,580,000
Asesor contable (salario 450 000) 8 horas mensuales	180,000
TOTAL RECURSOS HUMANOS	3,760,000
2 INFRAESTRUCTURA	
Uso de infraestructura	1,679,958
Subtotal uso de infraestructura	1,679,988
TRANSPORTE	
Depreciación vehículo	166,656
TOTAL AMORTIZACION RECURSOS E INMUEBLES	1,846,644
ANIMALES Y GASTOS OPERACIONALES	
Precio de una dosis de semen de toro elite (70 USD)	37,450
Número de dosis de semen por inseminación	2,5
Costo de servicio de inseminación por animal	12,000
Costos totales inseminación por animal	123,625
Costos totales de inseminación todos los animales	2,472,500
Total de hembras a inseminar para tener 10 toros	70
Costo hembras receptoras (20 x 300 mil)	6,000,000
Alimentación (\$700/animal/día)	5,110,000
Medicamentos (\$20000 x animal x año)	400,000
Honorarios veterinarios (2 UF/hora) 4 h x mes UF=18.300	1,456,800
Costos fijos y variables anuales mantenimiento de un toro	595,000
Años antes de entrar a tests de progenies	2
Costos totales de mantenimiento 10 toros vida útil	11,900,000
Test de progenie de los 10 toros (para seleccionar 4)	
1 Número de crías requeridas por toro	40
2 Número de machos requeridos por toro	20
3 Total animales a ensayos	200
4 Duración del ensayo (meses)	1,5
5 Costo de mantención de los animales en ensayo	63,000,000
6 Costos adicionales (medicamentos servicios vet)	6,000,000
7 Costos de infraestructura adicional para 200 toros	7,000,000
8 Contratación de test de progenie a consultores	5,000,000
Costos anuales totales de mantenimiento 4 toros seleccionados	2,380,000
TOTAL ANIMALES Y GASTOS OPERACIONALES	111,019,300
Gran total	116,625,944
VALOR DE VENTA DE UN TOROS DE 15 MESES (300 Kgs)	250,000,000
REALIZACIÓN COMERCIAL DE LOS 200 TOROS DEL ENSAYO	50,000,000,000
TOTAL GASTOS DE OBTENCIÓN DE GENÉTICA	86,625,944
NUMERO DE SEMENTALES	4
GASTOS PARA DISPONER DE UN SEMENTAL	16,656,400,000



[Handwritten signature]

ANÁLISIS DE SENSIBILIDAD CON CÁLCULO DE TIR Y VNA DEL SERVICIO DE CLONACIÓN TENIENDO EN CUENTA LOS INCREMENTOS DE PRECIO DE VENTA

Análisis con valor de venta 5 millones

Datos	Descripción		
	10% Tasa anual de descuento		
	-98.447.859 00 Costo inicial de la inversión		
	-27.978.261 00 Rendimiento del primer año		
	-5.838.263 00 Rendimiento del segundo año		
	-5.838.263 00 Rendimiento del tercer año		
	-24.366.450 00 Rendimiento del cuarto año		
	-13.306.450 00 Rendimiento del quinto año		
	28.833.548 00 Rendimiento del sexto año		
	28.833.548 00 Rendimiento del séptimo año		
	64.128.322 00 Rendimiento del octavo año		
	64.128.322 00 Rendimiento del noveno año		
TIR		1%	-20% En ningún año se obtienen TIR > 10%
VNA c/valor de la inversión		-\$ 69.813.938	En ningún año se obtiene VNA +

Análisis con valor de venta 6 millones

Datos	Descripción		
	10% Tasa anual de descuento		
	-98.447.859 00 Costo inicial de la inversión		
	-15.878.261 00 Rendimiento del primer año		
	8.021.737 00 Rendimiento del segundo año		
	10.161.737 00 Rendimiento del tercer año		
	-2.506.450 00 Rendimiento del cuarto año		
	10.693.550 00 Rendimiento del quinto año		
	55.693.549 00 Rendimiento del sexto año		
	60.833.548 00 Rendimiento del séptimo año		
	104.128.322 00 Rendimiento del octavo año		
	104.128.322 00 Rendimiento del noveno año		
TIR		17%	13% Año Octavo en que el TIR es > 10%
VNA c/valor de la inversión		\$ 63.303.973	\$ 19.143.399 Año Octavo en que el VNA es +

Análisis con valor de venta 6,5 millones

Datos	Descripción		
	10% Tasa anual de descuento		
	-98.447.859 00 Costo inicial de la inversión		
	-9.978.261 00 Rendimiento del primer año		
	16.021.737 00 Rendimiento del segundo año		
	18.161.737 00 Rendimiento del tercer año		
	9.493.550 00 Rendimiento del cuarto año		
	22.693.550 00 Rendimiento del quinto año		
	74.693.549 00 Rendimiento del sexto año		
	76.833.548 00 Rendimiento del séptimo año		
	124.128.322 00 Rendimiento del octavo año		
	124.128.322 00 Rendimiento del noveno año		
TIR		25%	14% Año Séptimo en que el TIR es > 10%
VNA c/valor de la inversión		132.062.036 99	21.532.732 96 Año Séptimo en que el VNA es +

Análisis con valor de venta 7 millones

Datos	Descripción		
	10% Tasa anual de descuento		
	-98.447.859 00 Costo inicial de la inversión		
	-3.978.261 00 Rendimiento del primer año		
	26.161.737 00 Rendimiento del segundo año		
	26.161.737 00 Rendimiento del tercer año		
	23.633.550 00 Rendimiento del cuarto año		
	34.693.550 00 Rendimiento del quinto año		
	92.833.549 00 Rendimiento del sexto año		
	92.833.548 00 Rendimiento del séptimo año		
	144.128.322 00 Rendimiento del octavo año		
	144.128.322 00 Rendimiento del noveno año		
TIR		32%	17% Año Sexto en que el TIR es > 10%
VNA c/valor de la inversión		\$ 205.298.319	\$ 29.298.626 Año Sexto en que el VNA es +



[Handwritten signature]

SECCIÓN 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 o minimizar el efecto negativo de la eventual ocurrencia de los mismos.

Excesiva endogamia de las especies a colectar: Está definida por un excesivo parentesco de las especies a capturar, dada por su escasa presencia en la naturaleza. Debido a su propia naturaleza *cuasi* extinta o en peligro de extinción, los ejemplares que se pueden capturar son muy limitados, lo que eleva la posibilidad de que pertenezcan a una misma familia. Esto pudiera tener un efecto negativo en las estrategias ulteriores de conservación. La situación es harto más complicada por cuanto no existen métodos validados para determinar la cercanía genética (emparentamiento) entre individuos de estas especies, por lo que no se podrá saber al momento de la captura si son relacionados o no.

La acción de solución propuesta se establece en dos direcciones: 1) tratar de abrir el diapasón en términos geográficos de captura, a pesar de que están confinados a un mismo nicho ecológico, por lo general, es posible hallar representantes de las especies en otros sitios. Como por ejemplo el huemul de Chillán y de la IX-X regiones, las Tarucas de Parinacota y las que se hallan en cautiverio. Las chinchillas de cautiverio, con un alto nivel de endogamia y las de la IV Región. De este modo, se trazará una estrategia de captura coherente con esta posibilidad, 2) tratar de capturar el mayor número posible de ejemplares. Esto se puede lograr mediante una mayor duración de las expediciones o mediante la captura en distintas épocas del año.




Como línea de desarrollo, nos proponemos investigar las relaciones filogenéticas en las especies capturadas, con vistas a poder individualizar eventuales programas ulteriores de recuperación de las especies. Si bien hoy en día, la endogamia es un problema para la preservación de las especies, más aún lo es la desaparición de éstas, por lo que se impone conservar las mismas a pesar de estas limitaciones. Eventualmente en un futuro podrán desarrollarse técnicas para variar la endogamia *in vitro*, para lo cual de igual modo se requerirá el contar con las células criopreservadas.

Inadecuada sobrevida de las muestras al transporte hasta el laboratorio: Se define como la incapacidad de las muestras de tejido tomadas en el campo para generar cultivos celulares. Este proyecto presenta una complejidad biológica adicional relacionada con los sitios de toma de las muestras, los cuales inevitablemente serán en condiciones de campo y lo más probable que sean sitios lejanos de cualquier laboratorio de cultivo celular. Por ello se requiere de la optimización de protocolos tanto para la toma, como para el transporte de las muestras, lo que puede influir negativamente sobre la calidad de los cultivos. No obstante, existen diferentes comunicaciones de la literatura en las cuales se discuten alternativas biológicas exitosas para las tomas de muestras en condiciones de campo, incluso para animales de la fauna silvestre. Se prevé la caracterización y el desarrollo de protocolos *in vitro* en condiciones controladas de laboratorio para optimizar los métodos de transporte, antes de la toma de las biopsias de las especies de interés. Alternativamente se harán las coordinaciones con Universidades y Centros de Investigación cercanos a los sitios de tomas de muestras para su eventual uso en caso de necesidad.

Inadecuada generación de cultivos primarios Está definida por una producción inadecuada de los cultivos primarios. El proceso de obtención de cultivos primarios o






líneas celulares *in vitro* no es sencillo, especialmente si se tiene en cuenta que las tomas de muestra no serán en condiciones óptimas de laboratorio, sino en condiciones de campo. 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 son básicamente establecidos, debiendo optimizarse y adecuarse a las necesidades de economía. La selección de biopsias de calidad, la desagregación correcta de las células, su tiempo de doblaje y calidad microbiológica son procedimientos aislables, evaluables en forma individual y corregibles sin mayores problemas dentro del plazo que se ha estipulado para estas actividades.

Sobrevivencia a la descongelación inadecuada. La congelación de los cultivos primarios es vital para la creación del banco de recursos genéticos. Mientras se corrigen protocolos de congelación hasta alcanzar estándares similares a los de las líneas celulares comerciales, se trabajará en la creación de un banco con los estándares posibles para cultivos tan disímiles como fibroblastos de aves, marsupiales o cérvidos. Como control funcional de la sobrevivencia post congelación se usará la tasa de sobrevida superior al 85%.

Producción de embriones clonados inadecuada. El proceso de clonación es muy complejo y aún no es totalmente dominado incluso en especies de laboratorio o de mayor historial de conocimiento de su biología reproductiva. No obstante todos los pasos involucrados en la producción de embriones clonados, concretamente, la maduración de los ovocitos, la fusión, reprogramación nuclear y desarrollo embrionario, son procesos controlables y para los cuales se cuenta en el laboratorio con las tecnologías en bovino que se realizan en paralelo y mediante ellas se podrán establecer los estándares pertinentes. Se tomará como tasa exitosa un 60% de maduración ovocitaria, un 25% de reprogramación y un 25% de división a más de 4 células. Se hace difícil prever la eficiencia del desarrollo a blastocistos, pero se

podiera aspirar a un 5% de blastocistos de calidad transferible. Para minimizar la influencia negativa que pudiera tener el uso de ovarios de matadero como fuente de ovocitos para la clonación, se prevé el uso de OPU como fuente de ovocitos de calidad a partir de huemules de adecuado estado nutricional

17.2. Económicos

Desde el punto de vista económico, los riesgos del proyecto se derivan de que no se logren los resultados esperados dentro del presupuesto destinado al proyecto. 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 de otras especies por parte del equipo técnico del proyecto que han arrojado procesos individuales exitosos, iguales a los planteados en este proyecto, lo que indica que es factible hacerse con otras especies.

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.

De especial relevancia se prevé la gestión posterior a la finalización del financiamiento aportado por FIA. La Universidad de Concepción, asumirá la gestión del BRG ulterior a la conclusión del financiamiento por parte de FIA, de igual modo como se hace para el Herbario de la Universidad de Concepción, que es el mayor del país y que es mantenido por esta institución. No obstante se estudian iniciativas para vincular a privados en la gestión del Banco. Estas incluyen la oferta de espacio de congelación en el banco para gametos de especies de interés zootécnico y productivo, la apertura del banco a otras instituciones, que sobre la base del pago de





una tuición puedan depositar en este, así como la colaboración internacional. Todas estas posibilidades se exploran en la actualidad y se prevé que se obtenga respuesta antes del término del primer año del proyecto.

17.4. Otros

Existe la posibilidad de no encontrar ejemplares de alguna de las especies que se pretende conservar, lo que implicaría una mayor búsqueda de ejemplares en ese caso en colecciones privadas o zoológicas. No se detectan mayores riesgos de los ya mencionados.

17.5. Nivel de Riesgo y Acciones Correctivas

Riesgo identificado	Nivel esperado	Acciones propuestas
Excesiva endogamia de las especies a colectar	Alto	Ampliar diapasón de toma de muestras. Extender los tiempos de captura. Capturara la mayor cantidad posible de ejemplares por especie
Inadecuada sobrevida de las muestras al transporte hasta el laboratorio	Moderado	Aplicación de métodos publicados, desarrollo de nuevos protocolos, coordinación con Universidades para uso de instalaciones
Inadecuada generación de cultivos primarios	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
Producción de embriones clonados inadecuada	Alto	Establecimiento de metodologías alternativas utilizadas en bovino, comparación y adecuación de las tecnologías



[Handwritten signature]
[Handwritten initials]

Incumplimiento del presupuesto	Bajo	Antecedentes indican que es asequible la derivación y congelación de líneas celulares prácticamente de cualquier especie
No disponibilidad de especímenes biológicos	Moderado	Búsqueda intensa en otras condiciones de entorno
Problemas de gestión una vez concluida la etapa financiada por FIA	Moderado	Compromiso de la Universidad de Concepción como el gestor y financista del BRG, ofertar sobre bases de servicio, capacidades de congelación de gametos de animales de granja, cooperación internacional, vínculos con otras instituciones




SECCIÓN 18: ESTRATEGIA DE TRANSFERENCIA DE RESULTADOS

Debido al alcance nacional del proyecto, uno de sus objetivos específicos es efectuar la transferencia de los resultados al sector académico nacional y al resto de los sectores científicos y docentes del país, así como la extensión de la experiencia a otros centros. Para ello se ha considerado una estrategia de actividades de extensión, tales como la realización de un Taller Nacional para discutir los resultados del proyecto y la impresión de un manual referente a la operación de un banco de recursos genéticos.



SECCIÓN 19 : CAPACIDAD DE EJECUCIÓN DEL PROYECTO

19.1. Antecedentes y Experiencia del Agente Postulante y Agentes Asociados (Adjuntar en Anexo 8 el Perfil Institucional y documentación que indique la naturaleza jurídica del agente postulante)

Agente postulante

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

19.2. Instalaciones Físicas, Administrativas y Contables

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

La Institución postulante (Universidad de Concepción) cuenta con la infraestructura necesaria para la ejecución del proyecto. Se proveerá mayor detalle de ser solicitado expresamente por FIA.

2. Capacidad de gestión administrativo-contable

La Universidad de Concepción cuenta con la capacidad administrativa y contable necesaria. Se proveerá mayor detalle de ser solicitado expresamente por FIA.




SECCIÓN 20 : OBSERVACIÓN SOBRE POSIBLES EVALUADORES

(Identificar a el o los especialistas que usted estime inconveniente que evalúen su propuesta y justifique las razones.)

Nombre	Institución	Cargo	Observaciones

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




ANEXO 1

FICHAS DATOS PERSONALES Y DATOS DE ORGANIZACIONES

ANEXO 1.1 : FICHA DATOS PERSONALES

Ficha Representante(s) Legal(es)

(Esta ficha debe ser llenada tanto por el Representante Legal del Agente postulante o Ejecutor como por el Representante Legal del Agente Asociado)

Tipo de actor en el Proyecto (A)	Representante legal		
Nombres	Pedro Alejandro		
Apellido Paterno	Santamaría		
Apellido Materno	Sanzana		
RUT Personal			
Nombre de la Organización o Institución donde trabaja	Universidad de Concepción.		
RUT de la Organización	81.494.400-K		
Tipo de Organización	Pública	<input type="checkbox"/> Privada	<input checked="" type="checkbox"/>
Cargo o actividad que desarrolla en ella	Decano Facultad de Medicina Veterinaria		
Dirección (laboral)	Avenida Vicente Méndez 595		
País	Chile		
Región	VIII		
Ciudad o Comuna	Chillán		
Fono	42-208786		
Fax	42-275302		
Celular	093194391		
Email	asantamaria@udec.cl		
Web	http://www.veterinariaudec.cl/		
Género	Masculino	<input checked="" type="checkbox"/>	Femenino
Etnia (B)	Sin clasificar		
Tipo (C)	Profesional		

Ficha Coordinadores y Equipo Técnico

(Esta ficha debe ser llenada tanto por el Coordinador Principal, Coordinador Alterno y cada uno de los integrantes del Equipo Técnico)

Tipo de actor en el Proyecto (A)	Coordinador principal y Jefe Técnico y Asesor
Nombres	Fidel Ovidio
Apellido Paterno	Castro





Apellido Materno	Reboredo		
RUT Personal			
Nombre de la Organización o Institución donde trabaja	Universidad de Concepción		
RUT de la Organización	81.494.400-K		
Tipo de Organización	<input type="checkbox"/> Pública	<input type="checkbox"/> Privada	<input checked="" type="checkbox"/>
Cargo o actividad que desarrolla en ella	Colaborador Académico		
Profesión	Ingeniero Zootecnista		
Especialidad	Biología celular y molecular. Reproducción animal		
Dirección (laboral)	Avenida Vicente Méndez 595		
País	Chile		
Región	VIII		
Ciudad o Comuna	Chillán		
Fono	42-208979		
Fax	42-270212		
Celular	085269954		
Email	fidcastro@udec.cl		
Web	http://www.veterinariaudec.cl/		
Género	<input checked="" type="checkbox"/> Masculino	<input type="checkbox"/> Femenino	
Etnia (B)	Sin clasificar		
Tipo (C)	Profesional		

Ficha Coordinadores y Equipo Técnico

Tipo de actor en el Proyecto (A)	COORDINADOR ALTERNO		
Nombres	OSCAR ENRIQUE		
Apellido Paterno	SKEWES		
Apellido Materno	RAMM		
RUT Personal			
Nombre de la Organización o Institución donde trabaja	UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN		
RUT de la Organización	81.494.400-K		
Tipo de Organización	<input type="checkbox"/> Pública	<input type="checkbox"/> Privada	<input checked="" type="checkbox"/>
Cargo o actividad que desarrolla en ella	PROFESOR ASOCIADO		
Profesión	MEDICO VETERINARIO/ DR. FOREST		
Especialidad	GESTIÓN Y CONSERVACIÓN DE FAUNA		
Dirección (laboral)	Avda. Vicente Méndez 595/Chillán		
País	CHILE		
Región	VIII		
Ciudad o Comuna	CHILLÁN		
Fono	56-42-208834		



[Handwritten signature and initials]



Fax	56-42-270212		
Celular			
Email	oskewes@udec.cl		
Web	www.udec.cl		
Género	Masculino	<input checked="" type="checkbox"/> X	Femenino
Etnia (B)			
Tipo (C)			

Tipo de actor en el Proyecto (A)	Equipo técnico		
Nombres	Lleretny		
Apellido Paterno	Rodríguez		
Apellido Materno	Álvarez		
RUT Personal			
Nombre de la Organización o Institución donde trabaja	Universidad de Concepción		
RUT de la Organización	81.494.400-K		
Tipo de Organización	Pública	<input type="checkbox"/>	Privada
Cargo o actividad que desarrolla en ella	Profesor Visitante		
Profesión	Biólogo		
Especialidad	Cultivo celular, biología celular, clonación somática		
Dirección (laboral)	Avda. Vicente Méndez 595/Chillán		
País	CHILE		
Región	VIII		
Ciudad o Comuna	CHILLÁN		
Fono	56-42-208834		
Fax	56-42-270212		
Celular	096216337		
Email	lleryrod@yahoo.com		
Web			
Género	Masculino	<input type="checkbox"/>	Femenino <input checked="" type="checkbox"/> X
Etnia (B)	Sin clasificar		
Tipo (C)	Profesional		





Tipo de actor en el Proyecto (A)	Equipo técnico		
Nombres	Pedro Pablo		
Apellido Paterno	Rojas		
Apellido Materno	García		
RUT Personal			
Nombre de la Organización o Institución donde trabaja	Universidad de Concepción		
RUT de la Organización	81.494.400-K		
Tipo de Organización	<input type="checkbox"/> Pública	<input type="checkbox"/> Privada	<input checked="" type="checkbox"/> X
Cargo o actividad que desarrolla en ella	Colaborador Académico		
Profesión	Médico Veterinario		
Especialidad	Fisiología		
Dirección (laboral)	Avenida Vicente Méndez 595		
País	Chile		
Región	VIII		
Ciudad o Comuna	Chillán		
Fono	42-208741		
Fax	42-270212		
Celular	099699043		
Email	projasg@udec.cl		
Web	http://www.veterinariaudec.cl/		
Género	<input checked="" type="checkbox"/> Masculino	<input type="checkbox"/> X	<input type="checkbox"/> Femenino
Etnia (B)	Sin clasificar		
Tipo (C)	Profesional		





Tipo de actor en el Proyecto (A)	Equipo técnico		
Nombres	José Francisco		
Apellido Paterno	Cox		
Apellido Materno	Ureta		
RUT Personal			
Nombre de la Organización o Institución donde trabaja	Universidad de Concepción		
RUT de la Organización	81.494.400-K		
Tipo de Organización	<input type="checkbox"/> Pública	<input type="checkbox"/> Privada	<input checked="" type="checkbox"/> X
Cargo o actividad que desarrolla en ella	Profesor Asociado Facultad de Medicina Veterinaria		
Profesión	Médico Veterinario		
Especialidad	Reproducción animal		
Dirección (laboral)	Avenida Vicente Méndez 595		
País	Chile		
Región	VIII		
Ciudad o Comuna	Chillán		
Fono	42-208973		
Fax	42-270212		
Celular	094526945		
Email	jcox@udec.cl		
Web	http://www.veterinariaudec.cl/		
Género	<input checked="" type="checkbox"/> Masculino	<input type="checkbox"/> Femenino	
Etnia (B)	Sin clasificar		
Tipo (C)	Profesional		





ANEXO 1.2 : FICHA DATOS ORGANIZACIÓN

Ficha Agentes Postulantes y Asociados

(Esta ficha debe ser llenada tanto por el Agente Postulante o Ejecutor, como por cada uno de los Agentes Asociados al proyecto)

Tipo de actor en el Proyecto (D)	Agente postulante		
Nombre de la organización, institución o empresa	Universidad de Concepción		
RUT de la Organización	81.494.400-K		
Tipo de Organización	<input type="checkbox"/> Pública	<input type="checkbox"/> Privada	<input checked="" type="checkbox"/> X
Dirección	Avenida Vicente Méndez 595		
País	Chile		
Región	VIII		
Ciudad o Comuna	Chillán		
Fono	42-208786		
Fax	42-275302		
Email	asantamaria@udec.cl		
Web	http://www.veterinariaudec.cl/		
Tipo entidad (E)	Universidades Nacionales		



ANEXO 2
**CURRICULUM VITAE DEL EQUIPO DE COORDINACIÓN Y
EQUIPO TÉCNICO DEL PROYECTO**



DATOS CURRICULARES DEL COORDINADOR GENERAL DEL PROYECTO

1. Antecedentes personales

Nombre completo : Fidel Ovidio Castro Reboredo
 Fecha nacimiento : 10 de enero de 1961
 Nacionalidad : cubana
 Jearquía académica : Colaborador Académico

2. Títulos, Grados y Perfeccionamiento Académico y Profesional

1984- Ingeniero Zootecnista. Graduado en la Academia Agrícola de Bielorusia, Gorki, Unión Soviética. Tesis de grado: "Efecto de la alimentación limitada en la productividad de las gallinas ponedoras White Legorn"

1986- Grado de Master en Ciencias Agrícolas en la misma Academia. Especialidad en fisiología de la nutrición de gallinas ponedoras y de aves de engorde

1993- Doctor en Ciencias Veterinarias (Ph.D). en el Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, La Habana, Cuba. Tesis de doctorado: "Manipulación genética de gametos animales como vías de transgénesis.

1997-1998. Post doctorado. Becario del DAAD. Clinic for Tumor Biology. Cancer Research Institute, Freiburg, Alemania. Investigaciones en Traducción de señales en la regulación de la expresión de los genes de la leche.

2001. Post doctorado. Becario de la Royal Society. Department of Pathology, Division of Cellular Biology and Physiology, Mammary Apoptosis and Development Group. University of Cambridge. Reino Unido.

Investigaciones en Expresión de genes supresores de la expresión génica en células epiteliales mamarias y glándula mamaria de ratonas.






GOBIERNO DE CHILE
FUNDACIÓN PARA LA
INNOVACIÓN AGRARIA

Experiencia profesional completa

Agosto 1984-Junio 1986

Ubicado como recién graduado en el Instituto de Investigaciones Avícolas, Cacahual, La Habana. Premiado con Diploma Rojo y matriculado como aspirante por vía directa y estudiante de Doctorado en la Academia Agrícola de Bielorusia, Gorki, URSS.

Julio 1986- Noviembre 1991

Aspirante a investigador (según la escala de calificación científica vigente en Cuba). Jefe del Grupo de Modelos Animales y Director del Bioterio Experimental del Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, La Habana, Cuba.

Noviembre 1991-1995

Investigador Agregado (según la escala de calificación científica vigente en Cuba). Jefe del Departamento de Transgénesis y Segundo jefe de la División de Genética de Células de Mamíferos. Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, La Habana, Cuba.

Noviembre 1995-1999

Investigador Auxiliar (según la escala de calificación científica vigente en Cuba). Jefe del Departamento de Transgénesis y Segundo jefe de la División de Genética de Células de Mamíferos. Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, La Habana, Cuba

Julio 1999- Agosto 2004

Investigador Titular según la escala de calificación científica vigente en Cuba, esta es la máxima calificación y equivale a **Señor Scientist**).

Jefe de la División de Genética de Células de Mamíferos (Biotecnología Animal) y Subdirector de Investigaciones Agropecuarias. CIGB. Jefe del Departamento de Transgénesis y Clonación. Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, La Habana, Cuba

Julio 2000-hasta la fecha.

Profesor Titular Adjunto. Facultad de Biología. Universidad de La Habana. Cátedra de Biología del Desarrollo.

Octubre 2004- hasta la fecha

Colaborador académico. Facultad de Medicina Veterinaria. Universidad de Concepción, Campus Chillán.



[Handwritten signature]



Períodos de trabajo y estudio en el extranjero

Julio-Agosto 1987

Becario a corto tiempo de United Nations Development Program Fellowship (UNDP). Commonwealth Scientific Industrial Research Organization (CSIRO). División de Biotecnología Animal. Blacktown, Sidney, Australia.

Entrenamiento en Micromanipulación de embriones de mamíferos.

Tutores: Dr. James Murray y Kevin Ward (CSIRO, Australia).

Agosto 20, 1987-October 25, 1987

Becario a corto tiempo de United Nations Development Program Fellowship (UNDP). Institut fur Tierzucht und Tierverhalten, Mariensee, Neustadt am Rubemberge 1, FRG.

Entrenamiento en técnicas modernas de reproducción animal.

Tutor: Dr.dr.habil. Heiner Niemann, Director of Animal Biotechnology Department, Institut fur Tierzucht und Tierverhalten, Mariensee, Neustadt am Rubemberge 1, FRG.

Institute of Animal Husbandry, Ludwig-Maximilians University, Munich, FRG.

Entrenamiento en transferencia de genes en animales.

Becario a corto tiempo de United Nations Development Program Fellowship (UNDP).

Tutor: Prof. Dr.Dr. Gotfried Brem, Director Department of Molecular Animal Breeding, LMU, Veterinar strasse 13, D-8000 Munchen 22, FRG

1993-Curso Internacional de postgrado: "Imaging the cell in reproduction and development". Coquimbo, Chile, auspiciado por la Universidad de Wisconsin-Madison, ICRO y la UNESCO.

Tutor: Dr. Gerald Schatten University of Wisconsin-Madison, USA

1997-1998-

Becario del DAAD.

Posición Postdoctoral temporal: Clinic for Tumor Biology, Cancer Research Institute, Freiburg, Alemania.

Investigaciones en Traducción de señales en la regulación de la expresión de los genes de la leche.

Supervisor: Dr. Bernd Groner, Director del centro.

2001.

Becario de la Royal Society

Posición postdoctoral temporal: Department of Pathology, Division of Cellular Biology and Physiology, Mammary Apoptosis and Development Group. University of Cambridge. Reino Unido.





GOBIERNO DE CHILE
FUNDACIÓN PARA LA
INNOVACIÓN AGRARIA

Investigaciones en Expresión de genes supresores de la expresión génica en células epiteliales mamarias y glándula mamaria de ratonas.

Supervisor: Dra. Christine J. Watson. Jefa del Grupo

2001.- Beca de visita académica corta DAAD. George Speyer Haus Foundation. Universidad de Frankfurt, Alemania, Investigaciones en Traducción de señales en la regulación de la expresión de los genes de la leche.

Supervisor: Dr. Bernd Groner, Director del centro

3.. Principales proyectos de investigación financiados.

Proyectos terminados

- Título: Establecimiento de las metodologías de transgénesis en mamíferos de laboratorio y de animales de granja, mediante microinyección pronuclear
Agencia financiadora: Consejo de Estado de la República de Cuba
Años 1987-1991.
Líder del proyecto: Ing. Fidel Ovidio Castro (CIGB, La Habana, Cuba)
- Título: Evaluación en modelos animales de una vacuna recombinante contra la Hepatitis B.
Agencia financiadora: Consejo de Estado de la República de Cuba
Años: 1988-1991
Líder del proyecto: Dr. Luis Herrera Martínez (CIGB, La Habana, Cuba)
- Título: Evaluación preclínica de drogas recombinantes
Agencia financiadora: Consejo de Estado de la República de Cuba
Años: 1988-1991
Líder del proyecto: Ing. Fidel Ovidio Castro (CIGB, La Habana, Cuba)
- Título: Obtención de vacas transgénicas mediante la microinyección directa de ADN clonado en ovocitos producidos in vitro.
Agencia financiadora: Ministerio de Agricultura
Años: 1988-1993
Líder del proyecto: Dr. Fidel Ovidio Castro (CIGB, La Habana, Cuba)
- Título: Empleo de cromosomas artificiales de levaduras (YACs) y de bacterias (BACs) como vectores para la expresión de proteínas recombinantes en la leche de animales transgénicos.
Agencia financiadora: Agencia Española de Cooperación con Iberoamérica (AECI) y Comunidad Autónoma de Madrid



[Handwritten signature]



Años: 1999-2001.

Líder del proyecto: Dr. Lluís Montoliu (Centro Nacional de Biotecnología, Madrid, España) y Dr. Fidel Ovidio Castro (CIGB, La Habana, Cuba)

- Título: Biotecnologías reproductivas y clonación en el ganado bovino..
 Agencia financiadora: Fondo Argentino de Cooperación Horizontal.
 Año: 2001.
 Líder del proyecto: Dr. Gustavo Palma (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, INTA, Mar del Plata, Argentina) y Dr. Fidel Ovidio Castro (CIGB, La Habana, Cuba)

Proyectos en curso con financiamiento nacional o extranjero:

- Título: Expresión de proteínas recombinantes en la leche de animales transgénicos
 Agencia financiadora: Consejo de Estado de la República de Cuba
 85 000 USD for tres años. Duración: 2002-2005
 Líder del proyecto: Dr.. Fidel Ovidio Castro (CIGB, La Habana, Cuba)
- Título: Clonación en el ganado bovino..
 Agencia financiadora: Consejo de Estado de la República de Cuba
 90 000 USD por tres años. Duración 2002-2005
 Líder del proyecto: Dr.. Fidel Ovidio Castro (CIGB, La Habana, Cuba)
- Título: Unravelling the mechanisms of glycosilation of recombinant proteins expressed in the milk of non transgenic animals.
 Agencia financiadora: The Mizutani Foundation, Japón
 18 500 USD por un año. Duración 2003-2004.
 Líder del proyecto: Dr. José Cremata y Fidel Ovidio Castro. (CIGB, La Habana, Cuba)
- Título: Expression of recombinant proteins in the egg yolk of hens.
 Agencia financiadora: Internacional Centre for Genetic Engineering and Biotechnology, Trieste, Italia.
 60 000 USD por tres años. Duración 2005-2007.
 Líder del proyecto: Fidel Ovidio Castro. (CIGB, La Habana, Cuba)



[Handwritten signature]

4. Antecedentes de relevancia académica

Sociedades y otros méritos

- Sociedad Iberolatinoamericana para las investigaciones con interferón
- Vicepresidente del Comité Cubano de la Ciencia del Animal de Laboratorio (1989-1992), adjunto al ICLAS (International Council on Laboratory Animal Science)
- Miembro fundador de la Sociedad Cubana de Toxicología
- Miembro del Comité Asesor para Reproducción Animal de la Academia de Ciencias de Cuba
- Representante cubano ante COBIOTECH, 1989-1991 (Comitee on Biotechnology of UNESCO).
- Miembro de la Sociedad de Biología del Desarrollo (Society for Developmental Biology)
- Miembro del Consejo Científico y de Dirección del CIGB
- Fundador de la Biotecnología Cubana
- Editor de la Revista Biotecnología Aplicada
- Profesor Titular Adjunto. Facultad de Biología. Universidad de la Habana
- Investigador Titular
- Miembro del Tribunal Permanente de Grado Científico de la Facultad de Biología de la Universidad de La Habana
- Miembro del Tribunal Permanente de Grado Científico de Veterinaria de la Universidad Agraria de La Habana

Miembro de los comités organizadores de los siguientes eventos internacionales:

- III Simposio Cubano e Internacional sobre Interferón y Biotecnología. La Habana, Cuba Abril 12-16, 1989.
- II Congreso Latino-Americano de Biotecnología. La Habana, Cuba, Agosto 7-11, 1990.
- I Scientific Meeting for Latin America and the Caribbean of the ICLAS. Havana, November 1990.
- Biotecnología Habana-92. La Habana, Cuba, Junio 8-12, 1992
- Biotecnología Habana-95, La Habana, Cuba, Noviembre 18-23, 1995
- Biotecnología Habana-98, La Habana, Cuba, Noviembre 16-21, 1998
- Biotecnología Habana-2002, La Habana Cuba, Noviembre 24-29, 2002

Honores

- ◆ Medalla de Oro al mejor estudiante de la graduación de 1984 en la Academia Agrícola de Bielorusia, Gorki, URSS. Otorgó: Rectorado Academia





- ◆ Beca de Premio Diploma Rojo para doctorado por vía directa en la URSS. Otorgó: Ministerio de Educación Superior de Cuba.
- ◆ Laureado con los siguientes premios anuales y/o quinquenales de la Academia de Ciencias de Cuba:
 - Establecimiento de un sistema para la producción de proteínas recombinantes en la leche de animales transgénicos (Logro Anual 1990).
 - Desarrollo, producción y evaluación de una vacuna recombinante derivada de levaduras, contra el virus de la hepatitis B (Logro Quinquenal 1986-1991).
 - Establecimiento de metodologías para la maduración y fertilización in vitro de ovocitos de vaca de razas tropicales y no tropicales (Logro Anual 1992).
 - Estudio de un brote de neuropatía epidémica en Cuba (Logro Anual 1993).
 - Secreción de anticuerpos recombinantes biológicamente activos en la leche de ratones y conejos transgénicos (Logro Anual 1995).
- ◆ Laureado con los siguientes logros anuales del Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología:
 - Expresión de proteínas recombinantes en la leche de conejas transgénicas (Logro Anual 1992).
 - Obtención de peces transgénicos por microinyección de ADN (Logro Anual 1993)

Patentes y certificados de autoría

Certificados de autoría, ya que la legislación cubana no concede patentes sobre animales:

1. Ratones transgénicos que expresan el activador tisular del plasminógeno humano en la leche de las hembras. Número de solicitud en Cuba: 8/91. Fecha de solicitud: 26.01.91.
2. Conejos transgénicos que expresan el activador tisular del plasminógeno humano en la leche de las hembras. Número de solicitud en Cuba: 3/92. Fecha de solicitud: 20.01.92.



3. Conejos transgénicos que expresan la hormona de crecimiento humana en la leche de las hembras. Número de solicitud en Cuba: 60/92. Fecha de solicitud: 01.06.92.
4. Ratones transgénicos que expresan eritropoietina humana en la leche de las hembras. Número de solicitud en Cuba: 124/92. Fecha de solicitud: 12.12.92.
5. Ratones transgénicos que expresan anticuerpos recombinantes en la leche de las hembras y las preparaciones farmacológicas que de ellos se deriven. Número de solicitud en Cuba: 118/96. Fecha de solicitud: 12.06.96.

Patentes solicitadas

6. Formulación para la transferencia de ácidos nucleicos. Número de solicitud en Cuba: 53/97. Fecha de solicitud: 05.19.97.
7. Método para la producción de proteínas recombinantes en la glándula mamaria de mamíferos no transgénicos CU 2002/0235. Fecha de prioridad, 21 de Octubre del 2002. Publicada con búsqueda internacional en PCT documento: WO 2004034780 A2

Congresos, reuniones, conferencias relevantes

- Reunión de la Red Latinoamericana de Biotecnología para la evaluación de proyectos de investigación en el campo de la biotecnología aplicada a la reproducción animal. Montevideo, Uruguay, Junio de 1988.
- Conferencista invitado al Taller Internacional: "Biotechnology on the thresholds of the XXI Century". Moscú y Kiev, URSS, Septiembre de 1989.
- Profesor en el Curso Regional de la FAO sobre Transferencia de Embriones para Países Latinoamericanos, La Habana, Abril de 1989.
- Presentación de póster en el congreso Biotechnology in the USA. Washington DC, Diciembre de 1990
- Conferencista invitado al IX Congreso Panamericano de Veterinaria. La Habana, Cuba, Julio de 1991.
- Presentación de póster en Annual Meeting of the International Embryo Transfer Society. Baton Rouge, Louisiana, USA, Enero 1992
- Presentación de póster en Annual Meeting of the International Embryo Transfer Society. Melbourne, Australia, Enero 1994
- Conferencista invitado al III Congreso Internacional de la Sociedad Española para el cuidado y uso de los animales de laboratorio. Granada, España, Noviembre 1994.




- Conferencista invitado durante visita de trabajo a la compañía holandesa Gene Pharming. Noviembre de 1994
- Presidente de las sesiones del congreso internacional Biotecnología Habana-95, La Habana, Cuba, Noviembre de 1995
- Presentación de póster en Annual Meeting of the International Embryo Transfer Society. Calgary, Canada, Enero de 1995
- Presentación de póster en Annual Meeting of the International Embryo Transfer Society. Salt Lake City, Utah, USA, Enero de 1996.
- COST Meeting on JAK\STAT function. Freiburg, Alemania, Octubre de 1997. Presentación de cartel.
- Conferencista invitado a la Jornada Científica Anual del Centro Nacional de Biotecnología, Madrid, España, Diciembre de 1997
- Conferencista invitado en el AI Virtanen Institute of Biotechnology, Kuopio, Finlandia, Enero de 1998
- Presidente de las sesiones del congreso internacional Biotecnología Habana-98, La Habana, Cuba, Noviembre de 1998
- Conferencias sobre clonación somática en CIGB (1997), Facultad de Biología, Universidad de La Habana (1997), CENSA (1999), Facultad de Química (1999).
- Conferencista invitado XVI Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias. PANVET. La Habana, Cuba, Noviembre de 2002
- Presidente de las sesiones del congreso internacional Biotecnología Habana-2002, La Habana, Cuba, Diciembre de 2002
- Conferencista Invitado. XXXIX Congreso de la Asociación Colombiana de Ciencias Biológicas. Ibagué, Colombia, Octubre 2004.

Otras estancias en el extranjero relacionadas con la trayectoria laboral:

- UNDP\FAO Formulación de proyectos en Biotecnología Animal. Montevideo, Uruguay, 1988
- Visitas a la Unidad Toxicológica de la Agencia de Control de Fármacos y Drogas de la URSS. Moscú, Marzo, Abril y Septiembre de
- Visita de trabajo por invitación a la compañía de producción de animales transgénicos Gene Pharming BV, Leiden, Holanda. Septiembre de 1994
- Visita de trabajo para evaluar instalaciones de transferencia de embriones en Brasil. Marzo-Abril de 1995
- Profesor del curso Internacional de Postgrado: Fertilización in vitro y clonación en el ganado bovino. Universidad Central de Venezuela. Febrero 14-29, 2000




5. Experiencia docente

Tesis de Doctorado Supervisadas

- Título: *Efecto de la temperatura sobre el procesamiento de intrones en vectores quiméricos para la producción de peces transgénicos.*
Doctorante: Oscar Hernández Betancourt
Instituto Superior de Ciencias Médicas. Centro de Inmunología y Biológicos. CENIB, Camaguey. Año 2001.
- Título: *Efecto sobre el crecimiento de la hormona de crecimiento exógena de tilapia suplementada a peces.*
Doctorante: Amilcar Arenal Cruz
Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología. Camaguey, Cuba.
Año 2002.

Tesis de Doctorado en Curso

- Título: *Expresión de variantes de STAT5 en ratones transgénicos. Implicaciones en la transformación tumoral de la glándula mamaria*
Doctorante: Nahomi Castro-Palomino
Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología. La Habana, Cuba y Universidad de Frankfurt, Alemania
Inicio 2002.: Propuesta para finalizar en: 2005
- Título: *Vectores adenovirales para la expresión de proteínas recombinantes en la leche de animales no transgénicos.*
Doctorante: Jorge Roberto Toledo Alonso
Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología.
Inicio 2003: Propuesta para finalizar en: 2006
- Título: *Vectores adenovirales dependientes de auxiliares para la expresión de proteínas recombinantes en la leche de animales no transgénicos.*
Doctorante: Oliberto Sánchez Ramos
Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología.
Inicio 2003: Propuesta para finalizar en: 2006
- Título: *Expresión de anticuerpos recombinantes en la leche de animales transgénicos y no transgénicos instilados con adenovirus.*
Doctorante: Elaine Santana
Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología.
Inicio 2004: Propuesta para finalizar en: 2007




Tesis de grado dirigidas

- Título: *Transferencia de genes mediada por espermatozoides*
Estudiante: Alina Aguirre, Facultad de Biología. Universidad de la Habana. Cuba
Año: 1991.
- Título: *Congelación de embriones micromanipulador de conejos y de ratón.*
Estudiante: Alexis Barrios. Facultad de Veterinaria. Universidad de la Habana. Cuba
Año: 1994.
- Título: *Micromanipulación de embriones bovinos*
Estudiante: Dalyé Rodríguez. Facultad de Biología. Universidad de la Habana. Cuba
Año: 1996.
- Título: *Expresión de eritropietina humana transgénica y de WAP endógeno en la glándula mamaria de conejas transgénicas.*
Estudiante: Nahomi Castro-Palomino. Facultad de Biología. Universidad de la Habana. Cuba
Año: 1996
- Título: *Optimización de la transfección de células epiteliales mamarias con ADN*
Estudiante: Yangtsé Portelles. Facultad de Biología. Universidad de la Habana. Cuba
Año: 1996
- Título: *Evidencias de transfección cutánea in vivo en modelos animales, empleando PEI como vector.*
Estudiante: Claudia González. Facultad de Biología. Universidad de la Habana. Cuba
Año: 1997
- Título: *Recombinación de homólogos mediada por el sistema Cre-lox P en embriones y células murinas.*
Estudiante: Oliberto Sánchez. Facultad de Biología. Universidad de la Habana. Cuba
Año: 1999
- Título: *Uso de la proteína fluorescente verde (GFP) como reportera en experimentos de clonación somática.*






Estudiante: Ivis Acosta. Facultad de Biología. Universidad de la Habana. Cuba
Año: 1999

Es miembro permanente de los tribunales de grado científico de Biología y de Veterinaria. Ha sido miembro de tribunales para la defensa de tesis de grado, tanto en la Universidad de La Habana, como en la Universidad Agraria de la Habana, así como oponente de numerosos trabajos de tesis de grado, doctorado, pregrado y de investigación.

Es profesor de postgrado del Colegio de Graduados de la Universidad de Concepción, Chile.

6. Lista de publicaciones en revistas arbitradas y en libros

1. Castro, F.O. and de la Fuente J (1988). Transgenic Animals. Biotechnological Perspectives. Interferón y Biotecnología Vol 5: 12-18.
2. Castro, F.O. and Aguilar A (1989). Microinjection, culture, and transfer of one cell mouse embryos. I- Obtention of one cell embryos and its culture. Interferón y Biotecnología Vol 6: 65-70.
3. Castro, F.O. and Aguilar A (1989). Microinjection, culture and transfer of one cell mouse embryos. II-Microinjection, culture and transfer of one cell mouse embryos (in Spanish). Interferón y Biotecnología. Vol 6: 172-174.
4. Castro, F.O., Pérez A, Aguilar A, de la Riva G, Martínez R, de la Fuente J and Herrera L (1989). Hepatitis B surface antigene expression in transgenic mice. Interferón y Biotecnología **6**: 251-257.
5. Castro, F.O., Hernández O, Uliver C, Solano R, Milanés C, Aguilar A, Pérez A, de Armas R, Herrera L and de la Fuente J (1990). Introduction of foreign DNA into sperm cells of farm animals. Theriogenology **34**: 1099-1110.
6. Hernández O, Castro, F.O., Aguilar A, Pérez A, Herrera L and de la Fuente J (1990). High efficiency of integration of human growth hormone gene in transgenic mice. Biotecnología Aplicada **8**: 8-20.
7. Hernández O, Castro, F.O., Aguilar A, Pérez A, Lleonart R, Herrera L and de la Fuente J (1991). Gene transfer in common carp (*Cyprinus carpio*) by direct microinjection into the germinal disc. Theriogenology **35**: 623-630.



8. Pérez A, Solano R, Castro, F.O., Leonart R, de Armas R, Martínez R, Aguilar A, Herrera L and de la Fuente J. (1991). Sperm cells mediated gene transfer in cattle. *Biotecnología Aplicada* Vol 8: 90-95.
9. Pérez A, Riego E, Martínez R, Castro, F.O., Leonart R and de la Fuente J. Presence of mRNAs homologous to IFN alpha but not to IFN beta in preimplantation mouse embryos. *J. Interferon Research*. Vol 11 Suppl 1, November 1991.
10. Alfaro A, Herrera O, Castro, F.O. and Cosme K (1991). Use of first generation hybrids OFBALB(F1) for the production of ascitic fluid rich in monoclonal antibodies. *Biotecnología Aplicada* Vol 8: 108-112.
11. de la Fuente J, Hernández O, Guillén I, Castro FO, Aguilar A, Herrera L, Uliver C, Pérez A (1991). Transgenesis in fish. Applications to Biotechnology. *Biotecnología Aplicada* Vol 8: 123-139.
12. Martínez R, Pérez A, Castro, F.O., Leonart R, Castro O, García R, Aguilar A, Herrera L and de la Fuente J (1992). Conditions for Southern blot analysis for the detection of single copy genes: application to the screening for transgenic chickens. *Biotecnología Aplicada* Vol 9: 83-87.
13. Pérez A, Riego E, Martínez R, Castro, F.O., Leonart R and de la Fuente J (1992). Constitutive expression of interferon α , but not of interferon β genes occur in early mouse embryos. *Translational Control* (abstracts of papers presented at the 1992 meeting on translational control). Arranged by M.Mathews and A.Hinnebusch. Cold Spring Harbor, New York. p.197 (1992).
14. de Armas R, Solano R, Castro, F.O., Pupo CA, Aguilar A and Riego E (1992). Production of bovine embryos by in vitro fertilization. *Rev. Cub. Cienc. Vet* 23: 109-112.
15. Castro FO and Aguilar A (1992). Effect of the number of transferred embryos microinjected or non-manipulated on the pregnancy rate and litter size in B6D2F1 mice. *Theriogenology* 1992 36:105.
16. Pérez A, Riego E, Martínez R, Castro, F.O., Leonart R and de la Fuente J (1992). Complementary DNA cloning of constitutively expressed interferon alpha genes from undifferentiated murine embryonal carcinoma P19 cells. 1991 Fellowship Research Report (Ed. by The Matsumae International Foundation, Tokyo, Japan): 397-409.






17. Rodríguez A, Limonta J, Castro, F.O., de Armas R, Aguilar A, Ramos B, Riego E, Pérez P, Solano R, Pérez A, Leonart R and de la Fuente J (1993). Expression of recombinant proteins in the milk of transgenic mammals. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas* 24: 92 (CBT-5).
18. Riego E, Limonta J, de Armas R, Pérez A, Aguilar A, Solano R, Ramos B, Castro, F.O. and de la Fuente J (1993). Production of transgenic mice and rabbits that carry and express the human tissue plasminogen cDNA under the control of a bovine α S1 casein promoter. *Theriogenology* 39: 1173-1185.
19. Berlanga J, Infante J, Capó V, de la Fuente J and Castro FO (1993). Characterization of transgenic mice lineages. I. Overexpression of hGH causes the formation of liver intranuclear pseudo-inclusion bodies and renal and hepatic injury. *Acta Biotechnologica Berlin* 13 (4): 361-371.
20. Pérez A, Castro, F.O., Martínez R, Falcón V, Baranovsky N, Berlanga J, Aguirre J, Infante J, Guillén I, Aguilar A and de la Fuente J (1993). Characterization of transgenic mice lineages. II. Transgenic mice expressing HBsAg particles and showing female sterility. *Acta Biotechnologica Berlin* 13 (4): 372-381.
21. Falcón V, Baranosky N, Castro, F.O., Montero C, González M, Hayes O, Ancheta O, Gra B and Mandado S (1993). Ultrastructural and immunocytochemical characteristics of hepatocytes from hepatitis B infected chimpanzees. *Tissue and Cell* 25 (6): 865-873.
22. Leonart R, Martínez R, García del Barco D, Hernández O, Castro, F.O. and de la Fuente J (1994). Reporter genes for in vivo transient gene expression studies in tilapia (*Oreochromis aureus*) and common carp (*Cyprinus carpio*) one celled embryos. *Theriogenology* 41:240.
23. de Armas R, Solano R, Pupo CA, Aguilar A, Aguirre A, Riego E and Castro, F.O. (1994). Effect of the donor oocyte breed on in vitro fertilization results in cattle. *Theriogenology* 41:186.
24. Solano R, de Armas R, Pupo CA and Castro, F.O. (1994). Short term preservation of intrafollicular oocytes at 4°C. *Theriogenology* 41:299.
25. Ramos B, de Armas R, de la Fuente J and Castro FO (1994). Activity of simian virus 40 early promoter in rabbit embryos. *Theriogenology* 41:281.
26. de Armas R, Solano R, Riego E, Pupo CA, Aguilar A, Ramos B, Aguirre A, de la Fuente J and Castro, F.O. (1994). Use of F1 progeny of Holstein x Zebu as





oocyte donors for in vitro embryo production and gene microinjection. *Theriogenology* 42: 977-985.

27. Castro, F.O., Berlanga J, Sabatier CA, Rodríguez P, Hechevarría M, Hayes O, Pérez M, Pichardo D, Pérez R, Dorta I López E, López MC, Herrera L and de la Fuente J (1994). Assessment in animal models of the neurovirulence of strains isolated from patients with epidemic neuropathy. *Biotecnología Aplicada* 11: 138-145.
28. Aguirre A, Dueñas M, Falcón V, Baranovsky N, Gavilondo J, de la Fuente and Castro, F.O. (1995). Fate of the heterologous DNA transferred by spermatozoa to murine myeloma-spermatozoa hybrids and to mouse embryos. *Transgenics* 1: 541-552.
29. Riego E, Pérez A, Martínez R, Castro, F.O., LLeonart R and de la Fuente J (1995). Differential constitutive expression of interferon genes in preimplantation mouse embryos. *Mol Reprod Develop* 41: 157-166.
30. Castro, F.O., Aguirre A, Fuentes P, Ramos B, Rodríguez D and de la Fuente J (1995). Secretion of human erythropoietin by mammary gland explants from lactating transgenic rabbits. *Theriogenology* 43: 185.
31. Limonta JM, Castro, F.O., Martínez R, Puentes P, Ramos B, Aguirre A, Lleonart R and de la Fuente J (1995). Transgenic rabbits as bioreactors for the production of hGH (1995). *Journal of Biotechnology* 40: 49-58.
32. de Armas R, Barrios A, Castro, F.O. and Solano R (1995). In vitro survival of micromanipulated rabbit embryos frozen in two different cryoprotectants. *Theriogenology* 43: 192.
33. Limonta JM, Pedraza A, Rodríguez A, Freire F, Barral A, Castro, F.O., Lleonart R, García C, Gavilondo J and de la Fuente J (1995). Production of active anti-CD6 mouse/human chimeric antibodies in the milk of transgenic mice. *Immunotechnology* 1: 107-113.
34. Rodríguez A, Castro, F.O., Aguilar A, Ramos B, García del Barco D, Lleonart R and de la Fuente J (1995). Expression of active human erythropoietin in the mammary gland of lactating transgenic mice and rabbits. *Biol. Research* 28: 141-153.
35. Solano R, de Armas R, Castro, F.O. and Chupin D (1995). Effect of raffinose and sucrose as cryoprotectants for mouse embryos. *Rev. Cub. Cienc. Vet* 24: 1-12.



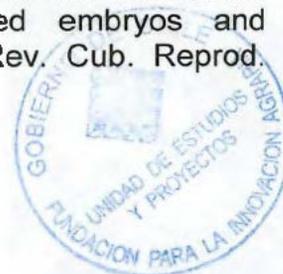


36. Castro, F.O., Limonta J, Gavilondo J and de la Fuente J (1996). Expression of humanized antibodies in transgenic mouse milk and in CHO cells: Implications for biotechnology. *Theriogenology* 45: 340.
37. Ramos B, Pichardo D, Aguilar A, Puentes P and Castro, F.O. (1996). The use of multiparous does as recipients of microinjected embryos improve survival of the litters at weaning. *Theriogenology* 45: 342.
38. de la Fuente J, Rodríguez P, Castro, F.O., Berlanaga J, Riego E, Hayes O, Musacchio A and Leonart R. Koch's postulates and the Epidemic Neuropathy. *Biología Aplicada* 14: 137-141 (1997).
39. Castro, F.O. and Portelles Y. Transfection of DNA into mammalian cells. *Biología Aplicada* 14: 149-161 (1997).
40. de la Fuente J, Riego E, Castro, F.O. and Leonart R. Necessary redundancy: Regulation and role of type I Interferon system during embryogenesis. *Biología Aplicada* 14: 226-232 (1997)
41. Aguirre A, Castro-Palomino N, de la Fuente J and Castro, F.O.. Expression of human erythropoietin transgenes and of the endogenous wap gene in the mammary gland of transgenic rabbits during gestation and lactation. *Transgenic Research* 7(4): 311-317. (1998).
42. Castro, F.O.. Cloning of adult mammals. The road taken. *Biología Aplicada* 14: 275-280 (1998).
43. Castro, F.O.. Regulation of betalactoglobulin and WAP gene expression. In: Castro, F.O. and Janne J eds. *Mammary gland transgenesis. Therapeutic Protein Production*. Springer Verlag, Heidelberg, Berlin and Landes Bioscience, Georgetown TX, USA pp 65-91. (1998).
44. Castro, F.O., Ramos B and Portelles Y. Introducing genetic information into mammalian embryos In: Castro, F.O. and Janne J eds. *Mammary gland transgenesis. Therapeutic Protein Production*. Springer Verlag, Heidelberg, Berlin and Landes Bioscience, Georgetown TX, USA pp 5-18. (1998).
45. Castro, F.O., Rodríguez A, Limonta J, Aguirre A and de la Fuente J. Selection of transgenes for expression in the mammary gland. The case of the human erythropoietin gene. In: Castro, F.O. and Janne J eds. *Mammary gland transgenesis. Therapeutic Protein Production*. Springer Verlag, Heidelberg, Berlin and Landes Bioscience, Georgetown TX, USA pp 91-106. (1998).





46. Brem G, Besenfelder U, Castro, F.O. and Muller M. Transgenic rabbits. In: Castro, F.O. and Janne J eds. Mammary gland transgenesis. Therapeutic Protein Production. Springer Verlag, Heidelberg, Berlin and Landes Bioscience, Georgetown TX, USA pp 107-142. (1998).
47. Castro, F.O. Transgénesis en glándula mamaria: presente y futuro. *Biotecnología Aplicada* 16:1 pp 43-50 (1999).
48. Castro, F.O. Transgénesis en mamíferos de granja. Estado de la técnica y problemática actual. *Biotecnología Aplicada* 16:E pp E15-E20 (1999).
49. Castro, F.O., Limonta J, Rodríguez A, Aguirre A, de la Fuente J, Aguilar A, Ramos B, Hayes O. Transgenic rabbits for the production of biologically-active recombinant proteins in the milk. *Genetic Analysis: Biomolecular Engineering*. 15:179-187 (1999).
50. Berlanga J, Saez V, Santana E, Riego E, Leonart R, Castro, F.O.. Transfection of intact and wounded skin with a DNA/Polyethilenimine complex. *Biotecnología Aplicada* 17: 235-240 (2000).
51. Castro, F.O.. Modificación genética de animales de granja. In: *Biología de la Reproducción*. Pag 345-411. Palma GA (ed). 2001. Ediciones Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Buenos Aires, Argentina (2001)
52. Aguilar, A., Ramos, B., Núñez, I., Ruiz, M., Pérez, R., Riverón, E., Hayes, O. and Castro, F.O. Production of calves from animals slaughtered with poor body condition and from oocytes matured in a bicarbonate-buffered IVM médium, in a portable incubator. *Theriogenology* 57: 655, 2002
53. Castro, F.O., Ramos, B., Aguilar, A., Hayes, O., Mulet, J., Puentes, P. In vitro development and transfer of rabbit cloned embryos produced from fetal fibroblast cells. *Theriogenology* 57: 403, 2002
54. Hayes, O., Badía, T., Ramos, B., Aguilar, A and Castro, F.O. Cell cycle analysis of bovine somatic cells used in nuclear transfer experiments. *Theriogenology* 57: 418, 2002
55. Rodríguez LI, González A, Ramos, B and Castro F.O. Effect of the addition of beta mercaptoethanol on the in vitro development of cloned embryos and parthenogenetically activated cattle oocytes (in spanish). *Rev. Cub. Reprod. Anim.* 29 (2) 299-301, 2003





56. González A, Rodríguez LL and Castro F.O. Comparisson of two different methods for parthenogenetic activation of bovine oocytes (in Spanish). Rev. Cub. Reprod. Anim. 29 (2) 275-288, 2003.
57. Sánchez, O., Toledo, J.R., Rodríguez M.P., and Castro, F.O. Adenoviral vector mediates high expression levels of human growth hormone in the milk of mice and goats. Journal of Biotechnology. 114: 89-97, 2004.
58. Rodríguez, LL., González, A., Hayes, O., Ramos, B., Aguilar, A., Castro, F.O. Clonación en animales mediante transferencia nuclear somática. Efecto de los factores biológicos. Biotecnología Aplicada. 21:137-146, 2004.
59. Hayes, O., Ramos, B., Rodríguez, LL, Aguilar, A., Badía, T., and Castro, F.O. Confluency is sufficient to induce arrest in g0/g1 phase of the cell cycle in bovine granulosa and fibroblast cells. Anim Reprod Sci. 2005 Jul;87(3-4):181-92
60. Hayes, O., Ramos, B., Rodríguez, LL., Rodríguez, MP., González, A., Falcón, V., Aguilar, A., and Castro F.O. Effect of cryopreservation on fusion efficiency and in vitro development into blastocysts of bovine cell lines used in somatic cell cloning. En prensa (Zygote; Vol 5:2, pp??, 2005.

Libros editados:

1. Mammary gland transgenesis. Therapeutic Protein Production. Fidel Ovidio Castro and Juhani Janne editors. Springer Verlag, Heidelberg, Berlin and Landes Bioscience, Georgetown TX, USA
2. Gene Transfer in Aquatic Organsms. José de la Fuente and Fidel Ovidio Castro editors. Springer Verlag, Heidelberg, Berlin and Landes Bioscience, Georgetown TX, USA



[Handwritten signature]
[Handwritten initials]

Dr. Oscar Skewes Ramm. Coordinador Adjunto del Proyecto

ANTECEDENTES PERSONALES

Nombre completo	Skewes Ramm Oscar Enrique
RUT	
Fecha de Nacimiento	15-06-1955
Nacionalidad	Chilena
Jerarquía	Profesor Asociado
Nivel y dedicación	A12,Dedicacion Normal
Departamento	Departamento de Ciencias Pecuarias
Facultad o Unidad	Facultad de Medicina Veterinaria

TÍTULOS , GRADOS Y PERFECCIONAMIENTO ACADÉMICO Y PROFESIONAL

Título Profesional: Médico-Veterinario, U. de Concepción, Chile, Concepción, 12-01-1979

Grado académico: Doctor en Silvicultura, U.de Göttingen, Alemania, 10-12-1990

EXPERIENCIA DOCENTE EN EDUCACIÓN SUPERIOR

Actualmente dicta las siguientes asignaturas en pregrado en la Universidad de Concepción:

- ECOLOGIA AG, Semestral, 2001
- ECOLOGIA, Semestral, 2001
- VIDA SILVESTRE, Semestral, 2001
- VIDA SILVESTRE II, Semestral, 2001



En tanto que en posgrado en programa de doctorado en Ciencias Agropecuarias:

- Manejo para la Conservación de Especies Silvestres, 2004

Dirección de Tesis de Grado, Memorias de Título.

PreGrado.

- Determinación de edad en castores cazados en **Tierra del Fuego**, 1993409189-CLAUDIO A GONZALEZ ROJAS .



- Revisión de la situación taxonómica de la liebre (*Lepus europaeus*) en Chile ,1988255370-PEDRO GON PALACIOS ACHUI .
- Estudio preliminar de líneas incrementales de cemento en las piezas dentarias de **guanaco** para deter ,1994180013-GLORIA AL SASCO HERRERA ,
- Incubación artificial y cría de la perdiz chilena ,1994400222-LORENA MONTOYA CASTILLO .
- Análisi preliminar de cavidades arbóreas usadas por carpintero negro en el P.N. Nahuelbuta ,1991403002-SUSANA PA RODRIGUEZ DONAIRE ,
- Estudio preliminar de equinococosis y helmintiasis gastrointestinal en **zorro gris en Tierra del Fuego** ,1993400291-JUAN CARL AGUILERA FERNANDEZ.
- Estudio del contenido de la ingluvia y estómago muscular en tórtola, codorniz y perdiz, en período estival ,1994406046-JOSE LUIS CRUZATT MOLINA
- Estudio preliminar de parasitismo gastrointestinal de **guanaco en Tierra del Fuego** ,1994406068-VIVIANA A CACERES CHAMIZO.
- Estudio de la regresión cicatricial del cordón umbilical como estimador de la edad en crías de lobo ,1993400866-PATRICIO ARTIGAS BASCUR .
- Estudio morfológico macroscópico y microscópico del hígado de **guanaco** ,1993406173-PILAR DEL FLORES GONZALEZ
- Rendimiento cárnico del **guanaco** ,1994400335-ALEJANDRO HEISINGER ZAPATA
- Anatomía macro y microscopica del sistema olfativo de **guanaco** ,1994404653-RODRIGO A RETAMAL ORTIZ.
- Aspectos reproductivos de treiel (*Vanellus chilensis*) en Ñuble. ,1994401364-JOSE LUIS CABELLO CABALIN.
- Estudio morfológico macroscópico y microscópico de las glandulas salivares de **guanaco** ,1993408429-ELISA ELE FERRADA BLANK.
- Estudio morfológico macroscópico y microscópico del aparato reproductor masculino de **guanaco** ,1995402362-PAOLO ALB CORREA HENRIQUEZ



[Handwritten signature]



- Estudio histopatológico de *Sacocystis* sp. en **zorro chilla de Tierra del Fuego**, Chile ,1993401037-ROMINA AN DONOSO CUBILLOS.
- Aspectos reproductivos y territoriales de chercán (*T. aedon*) en Ñuble ,1990409419-PABLO AND GONZALEZ ZAVALA
- Anatomía macro y microscopica del sistema olfativo de **guanaco** ,1994404653-RODRIGO A RETAMAL ORTIZ
- Calidad forrajera de hábitat de Huemul en RN Ñuble ,1996402304-DANIELA B ARANCIBIA BUSCH.
- Estudio de sarna clínica en **guanaco** en el sector centro-sur de **Tierra del Fuego**.1997405157-LISSY FRA ALVARADO GAMEZ.
- Densidad nidal en colonia de nidificación de *Spheniscus magellanicus* en seno Otway, Chile y su relación con factores abioticos.,1999407094-JOSE CRIS PIZARRO PINOCHET
- Ocupación de casas anideras en huerto orgánico de cerezos ,1999406509-MARCELA A MARTINEZ JAMETT,
- Histopatología de pulmon de **guanacos** (*Lama guanicoe*) ,1996402446-JOHN ALEJ LUARTE CONCHA,
- Condición corporal de **guanacos de Valle Chacabuco**, XI Región,1997403268-XIMENA DE DIAZ CASTRO,
- Caracterización de hábitat urbano de quirópteros en la ciudad de Chillán ,1998402709-IGNACIO A FERNANDEZ LATAPIAT,
- Comparación del rendimiento de canal de jabalí puro y de mestizos bajo iguales condiciones de manejo ,1999400147-PAMELA EU RIQUELME VERDEJO.
- Adaptaciones digestivas según dieta en algunas aves silvestres chilenas ,1998404237-DIEGO ALE VARGAS BRAVO
- Evolución de peso en jabatos desde nacimiento a destete,1998403132-DAYAN MAR CARRASCO MANRIQUEZ.
- Evolución del espesor de grasa dorsal a partir de los 20Kg de PV hasta los 9 meses de edad en jabalí puro y en mestizos,1999408605-LILIBETH ORDENES MUNOZ.





- Efecto del reemplazo de proteína por aceite dietario en la crianza de polluelos de Perdiz Chilena (*Nothoprocta Perdicularia*), 1995404507-VIVIAN RAMOS V.
- Especies y potencial reproductivo de roedores silvestres del Estero Las Toscas de Chillán , 1996403431-PAOLA ARRIAZA ARIAS
- Revisión de la dinámica poblacional del **guanaco** (*Lama guanicoe*), en el sector centro sur de Tierra del Fuego, Chile., 1998405319-RODRIGO A MORALES P.
- Prospección de *Oncifelis guigna* (Felidae, Molina, 1782) en plantaciones forestales de la cordillera de la costa, de la Octava Región del Bio-Bio". 1998403708-CLAUDIO A MORAGA BUSTAMANT.
- Sarcosporidiosis microscópica en muestras de **guanacos** de Valle Chacabuco, XI Región, Chile , 1997402060-ANDREA SO CODDOU ALVAREZ.
- Estudio del parasitismo interno y externo de Caiquén de **Magallanes**, 1997400842-CORITA DE CANDIA LAGOS

Tesis de PostGrado:

Magister en Ciencias Veterinarias con mención en Higiene y tecnología de los alimentos: Tesis titulada : "Comparación de Perfil de ácidos Grasos en Músculo de Jabalí Europeo Puro (Sus scrofa scrofa) 2n=36) y Mestizos (2n=37) sometidos a Identico sistema de Manejo y Alimentación", Rodrigo Morales Pavez.

Supervisión Práctica Profesional

Reserva Ecológica Privada Huilo Huilo/ X región, 01-2003, 02-2003

CONAF VIII Región, R.N. Ñuble, 02-2003, 02-2003



PARTICIPACIÓN EN PROYECTOS

1996-1999. Director Proyecto "**Manejo productivo y sustentable del guanaco en isla Tierra del Fuego.**" fondos FNDR.

1999-2002. Primer Investigador Proyecto FONTEC. "**Cría en semicautividad del jabalí europeo en Magallanes.**"



2000-01. Colaborador Proyecto **"Sistema de gestión ambiental para bosques de lenga de Magallanes"**. Fondos FONDEMA.

2000-01 Director Proyecto Investigación **" Estudio , aprovechamiento y control de castor en isla Tierra del Fuego y Navarino."** fondos FNDR.

2000-02 Colaborador Proyecto FIA sec 97-039 Colaborador. **"Recopilación, análisis y validación de propuestas productivas pecuarias para el secano interior de la 8ª región."**

2000-2004. Director Alterno proyecto FIA **"Cría del Ciervo Rojo en Ambiente de Semicautiverio en la Isla de Tierra del Fuego"** Código proyecto C-00 - 1-P - 045

2000-2005. Director Proyecto FDI-CORFO **"Adaptación y optimización del sistema de producción porcina al aire libre (out door) para la obtención de carne y sus productos elaborados de jabalí orientada a la exportación hacia el mercado de la Comunidad Europea."**

2001-02. Colinvestigador, **"Estudio de prevalencia de enfermedades Zoonóticas de la paloma doméstica (*Columba livia*) en la ciudad de Chillán"**, Diuc-Ordinario.

2002-2005. Primer Investigador en proyecto FONTEC-CORFO titulado **" Manejo productivo y sostenible de guanaco en Valle Chacabuco, XI Región, Chile"**.

2004-2007. Colaborador Proyecto **"Articulación y Mejoramiento de la Educación Técnico Profesional Agropecuaria y Agroindustrial de la Octava Región. Programa de Educación y Capacitación Permanente Chile Califica Ministerio de Educación, Ministerio de Economía y Ministerio del Trabajo y Previsión Social."**

Publicaciones:

Exotisches für die Fleischtheke, Revista: FLEISCHWIRTSCHAFT , 10, Coautor, Págs:32-37, 2003

Anatomical Investigations on Meat Cuts of Guanacos (*Lama guanicoe* Müller, 1776) and Chemical Composition of Selected Muscles, Revista: WIENER TIERARZTLICHE MONATSSCHRIFT , 91, Coautor, Págs:77-84, 2004

Fauna Parasitaria de la Tórtola Común (*Zenaida auriculata*, de Murs 1847) (Columbiformes: Columbidae) en Ñuble, Chile, Revista: Parasitología Latinoamericana, 59, Coautor, Págs:37-41, 2004





First Record of Immature Stages of *Amblyomma tigrinum* (Acari: Ixodidae) on Wild Birds in Chile, Revista: EXPERIMENTAL AND APPLIED ACAROLGY , 33, Coautor, Págs:153-156, 2004

Parásitos Gastrointestinales y Externos de la Paloma Doméstica (*Columba livia*) en la Ciudad de Chillán, Chile, Revista: Agro-Ciencia, 20(2), Coautor, Págs:107-112, 2004

Otros artículos

Desarrollo y evaluación de técnicas de cosecha y captura de guanacos para su aprovechamiento comercial, Actas del Seminario Internacional "Manejo sustentable de la vicuña y el guanaco". Págs.: 117-142, 11-2000

El guanaco y sus posibles productos comerciales, Actas Seminario Internacional "Manejo sustentable de la vicuña y el guanaco." , Págs.: 165-174, 11-2000

Ectoparásitos de la perdiz chilena (*Nothoprocta perdicaria*) en la provincia de Ñuble, Chile., Parasitología Latinoamericana, 58, Págs.: 75-77, 06-2003

Sehnen und bänder an den zehen des guanacos, lama guanicoe (Müller 1776), Lamas, 3, Págs.: 11-13, 09-2003

Exotisches für die Fleischtheke, Fleischwirtschaft., Págs.: 32-37, 10-2003

Sehnen und Bänder an den Zehen des Guanacos , Lama guanicoe (Müller, 1776). , Lamas. Haltung und Zucht, 11, Págs.: 9-13, 10-2003

Guanakofleisch, ein hochwertiges und diätetisches Nahrungsmittel., Lamas. Haltung und Zucht, 11, Págs.: 14-16, 12-2003

Nachhaltige Nutzung von Guanacos auf Feuerland unter Berücksichtigung von Ökologie, Landwirtschaft und Artenschutz, UNI VET WIEN REPORT. In Focus Wissenschaft und Forschung, 2/2004, Págs.: 1-3, 06-2004

Comunicaciones en reuniones de la especialidad.

Taller Mesa de Representantes del rubro camélidos. FIA , Reunión mesa representantes, 03-2000

19. Tagung der Deutschen Gesellschaft für Parasitologie , Ectoparasite fauna of three important wild bird species in Ñuble (Chile)., 04-2000



Taller Mesa de Representantes del rubro camélidos. FIA ,Reunión mesa representantes,06-2000

Seminario-Taller "implementación de la política del Ministerio de Agricultura para el manejo sustent,Técnicas de captura y cosecha de guanaco,07-2000

Seminario-Taller "implementación de la política del Ministerio de Agricultura para el manejo sustent,Relación guanaco-bosque-ganadería,07-2000

Seminario-Taller "implementación de la política del Ministerio de Agricultura para el manejo sustent,El ciclo de la sarcocystosis en guanaco de Tierra del Fuego,07-2000

Seminario-Taller "implementación de la política del Ministerio de Agricultura para el manejo sustent,El mercado de los productos del guanaco,07-2000

Seminario-Taller "implementación de la política del Ministerio de Agricultura para el manejo sustent,Dinámica poblacional y cuotas de extracción de guanaco,07-2000

XI Congreso Nacional de Medicina Veterinaria ,Hallazgo de taenia Echinococcus granulosus en zorro gris de Tierra del Fuego, Chile.,10-2000

Encuentro Universitario sobre Conservación y Manejo de Fauna Silvestre ,Conservación y manejo del guanaco en Chile.,11-2000

Taller Mesa de Representantes del rubro camélidos. FIA ,Reunión mesa representantes,12-2000

4º Reunión Chileno-Argentina sobre estrategias de conservación del Huemul ,s/n-s/p-s/t ,04-2002

XII Congreso Chileno de Medicina Veterinaria ,PARÁMETROS ZOMETRICOS DE CASTOR , Castor canadensis K., DE TIERRA DEL FUEGO, CHILE.,10-2002

XII Congreso Chileno de Medicina Veterinaria ,DENSIDAD Y ESTIMACIÓN DE ABUNDANCIA DE CASTOR, Castor canadensis K., EN ISLAS TIERRA DEL FUEGO Y NA,10-2002

XII Congreso Chileno de Medicina Veterinaria ,Programas de protección y conservación de la fauna silvestre en Chile,10-2002

XII Congreso Chileno de Medicina Veterinaria ,Incubabilidad y mortalidad embrionaria en huevos de gallina araucana (Gallus inauris) en relación al,10-2002






13 Congreso Chileno de Medicina Veterinaria, ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO DE Sarcocystis sp. EN MÚSCULOS DE GUANACOS (Lama guanicoe) DE MAGALLANES Y DE COYHAIQUE, 11-2004

13 Congreso Chileno de Medicina veterinaria, ESTUDIO DEL PARASITISMO INTERNO Y EXTERNO DE CAIQUÉN Chloephaga picta Gmelin, 1789 (AVES, ANATIDAE) EN LA REGIÓN DE MAGALLANES, 11-2004

13 Congreso chileno de Medicina Veterinaria, EFECTO DE LA COBERTURA Y ALTURA DE VEGETACIÓN, PROTECCIÓN CONTRA EL VIENTO Y DISTANCIA AL MAR EN LA DENSIDAD Y DISTRIBUCIÓN NIDAL DE PINGÜINO DE MAGALLANES (SPHENISCUS MAGELLANICUS) EN SENO DE OTWAY. CHILE., 11-2004

13 Congreso chileno de Medicina Veterinaria, ESTUDIO DE DIETA DE ÑANDÚ SILVESTRE EN MAGALLANES, CHILE., 11-2004

13 Congreso chileno de Medicina Veterinaria, EVALUACIÓN DE CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS Y DE LA COMPOSICIÓN NUTRICIONAL DE LA CARNE DE JABALÍ PRODUCIDO EN SISTEMA OUTDOOR., 11-2004

13 Congreso chileno de Medicina Veterinaria, PREVALENCIA DE SARNA CLÍNICA EN GUANACO (Lama guanicoe) DE ISLA TIERRA DEL FUEGO, CHILE, 2003., 11-2004

13 Congreso Chileno de Medicina Veterinaria, RENDIMIENTOS CÁRNICOS DEL GUANACO (LAMA GUANICOE) EN VALLE CHACABUCO, XI REGIÓN., 11-2004

13 Congreso Chileno Medicina Veterinaria, GANANCIA DIARIA DE PESO DE JABALÍ PRODUCIDO EN SISTEMA OUTDOOR, 11-2004

EXTENSIÓN

Proyectos, Actividades.

Conferencias/Charlas, Taller El Jabalí y otras especies silvestres y su rol epidemiológico para la ganadería., Facultad de Medicina Veterinaria/Chillán, 01-2003, 01-2003

Conferencias/Charlas, Principales aspectos de la identificación y descripción de la fauna chilena en la zona centro sur., Facultad de Medicina Veterinaria/Chillán, 05-2003, 05-2003





Conferencias/Charlas, El Guanaco en Magallanes , dinámica poblacional y posibilidades de manejo., Museo de Historia Natural de Santiago, 07-2003, 07-2003

Seminarios, 2° Seminario Internacional de Producción de Jabalí., Hotel Holiday Inn / Temuco / CHILE, 11-2004, 11-2004

Administración académica

Oficiales.

Director de Departamento, Departamento de Ciencias Pecuarias, 01-03-2003, 28-02-2005

Director de Departamento, Departamento de Ciencias Pecuarias, 01-03-2005, 28-02-2007

Participación como experto.

Agrociencia Revista , 01-2000, 12-2000

Fundación Innovación Agraria FIA , 01-2000, 12-2000

Fundación Innovación Agraria FIA Mesa Representantes rubro camélidos , 01-2000, 12-2000

Comisión Científica CITES Unión Europea/Bruselas, 07-2003, 08-2003

FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA FIA, 04-2004, 04-2004

FONDECYT, 08-2004, 08-2004



[Handwritten signature]



Licenciada en Biología Lleretny Rodríguez Alvarez. (Equipo Técnico del Proyecto)

CURRICULUM VITAE

I. Datos personales

Lleretny Rodríguez Alvarez,
Lugar de nacimiento: Pinar del Río, Cuba el 5 de mayo de 1976. Ciudadana cubana.

II. Grados académicos

1999. Licenciada en Microbiología. Facultad de Biología. Universidad de La Habana. Notas sobresalientes (promedio 4.69 según la escala de 5 aplicable en Cuba). Tesis de grado: "Efecto de las bacterias sobre la biolixiviación del petróleo".

III. Estudios de Postgrado

CALIFICACIÓN			FECHA		CENTRO DE ESTUDIO	MATERIAL DE ESTUDIO
Sobre	Nota ble	Apro v	DESDE	HASTA		
X	X		2/1999	5/1999	Fac de Biología	Fisiología Microbiana
X			2/2000	6/2000	Fac de Biología	Estadística y Diseño Experimental
	X		2/2000	6/2000	CIMA	Álgebra Matricial
	X		10/1999	1/2000	Fac de Biología	Genética General
	X		5/2000	7/2000	Fac de Biología	Genética Molecular
X			1/2001	3/2001	CIMA	Biología Molecular Computación

IV. Lenguajes de interés científico (B= bien, A= aceptablemente, C= correctamente)

IDIOMA HABLA LEE ESCRIBE



[Handwritten signature and initials]

Ingés	A	A	C
Francés	C	B	C

Posee certificado de dominio de idioma inglés.

V. Etapas de la educación universitaria y postgraduada

Licenciatura en Microbiología

Septiembre 1994- Julio 1999

Universidad de La Habana, Ciudad de La Habana, Cuba

Principales créditos y asignaturas cursadas: ingeniería genética, biología celular y molecular, biofísica, genética microbiana, bioquímica, bioquímica industrial, fisiología humana y microbiana, microbiología, estadística, otras.

VI. Formación profesional completa

Agosto 1999- Septiembre 2001

Ubicado como recién graduado (reserva científica, según la nomenclatura cubana) en el Centro de Investigaciones para el Mejoramiento Animal. Cotorro, Ciudad Habana.

Septiembre 2001-Agosto 2004

Investigador agregado (según la nomenclatura cubana). Grupo de Fertilización in vitro y clonación. Dirección de Biotecnología Centro de Investigaciones para el Mejoramiento Animal. CIMA, Cotorro, Ciudad Habana, Cuba.

Investigador Asociado del departamento de Transgénesis y Clonación en mamíferos del Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, Ciudad Habana, Cuba.

Colaborador del laboratorio de Reproducción asistida en humanos en el Hospital Clínico Quirúrgico Hermanos Ameijeiras, Ciudad Habana, Cuba.

FECHA		CENTRO DE TRABAJO	PAÍS	ACTIVIDAD REALIZADA
DESDE	HASTA			
9/1999	6/2000	CIMA	Cuba	Genética Poblacional del ganado bovino
6/2000	Hasta la fecha	CIMA	Cuba	Clonación en el ganado bovino






2/2001	5/2001	CIGB (Habana)	Cuba	Entrenamiento en técnicas de microinyección de embriones de ratón
6/2001	12/2001	Agrobiogen	Alemania	Entrenamiento en técnicas de clonación en conejos y bovinos.
6/2001	12/2001	Agrobiogen	Alemania	Diagnóstico molecular de enfermedades del ganado bovino
1/2002	12/2002	CIGB Camagüey	Cuba	Clonación en el ganado bovino
1/2003	7/2004	CIGB Habana	Cuba	Clonación y FIV en el ganado bovino. Sexado de embriones por PCR. Cultivo celular, Clonación y FIV en cerdos. Cultivo celular y clonación en búfalo de Río. Creación de ratones transgénicos por microinyección. Identificación de transgénicos por técnicas de biología molecular.
		Hospital Hermanos Ameijeiras	Cuba	Establecimiento de laboratorio de Reproducción asistida, FIV, ICSI.
8/2004	11/2004	CMEB	México	Profesor visitante de curso avanzado en biotecnología animal. Incluye establecimiento de las técnicas de transferencia nuclear, FIV, cultivo celular para clonación y Transgénesis.



[Handwritten signature]
FD

CIMA: Centro de Investigación para el Mejoramiento Animal
CIGB: Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología.
CMEB: Centro de Multidisciplinario de Estudios Biotecnológicos

VII. Períodos de trabajo y estudio en el extranjero

Junio-Diciembre de 2001

Agrobiogen GmbH and Bayer Research Centre for Biotechnology. Larezhhausen, Baviera, Alemania. Entrenamiento en técnicas avanzadas de transferencia nuclear en bovinos y conejos.

Diagnostico molecular de enfermedades en el ganado bovino.

Tutor: Prof. Dr.Dr. Gotfried Brem.Director.

Agosto-Noviembre de 2004

Centro Multidisciplinario de Estudios Biotecnológicos (CMEB), Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, México. Profesor invitado para establecimiento de técnicas biotecnológicas para la creación de animales transgénicos.

VIII. Principales proyectos de investigación

Proyectos

- Título: Clonación del ganado bovino.
Agencia financiadora: Consejo de Estado de la República de Cuba
Años: 2001-2005
Líder del proyecto: Dr. Fidel Ovidio Castro (CIGB, La Habana, Cuba)
- Título: Mejora reproductiva en búfalas, mediante técnicas modernas de reproducción
Agencia financiadora: Ministerio de la Agricultura. República de Cuba
Años: 2002-2006
Líder del proyecto: Dr. Ramon Denis (CIMA, La Habana, Cuba)
- Título: Punción ovárica en vacas y novillas como fuente de ovocitos para clonación y fertilización in vitro, en el ganado bovino.
Agencia financiadora: Consejo de Estado de la República de Cuba
Años: 2003-2008
Líder del proyecto: Dr. Fidel Ovidio Castro (CIGB, La Habana, Cuba)




IX. Especializaciones

- Genética bovina
- Micromanipulación de embriones:
 - a) microinyección de ADN clonado en ratones, conejos y vacas
 - b) transferencia nuclear en vacas, cerdos y conejos
 - c) fertilización in vitro de ovocitos de ratón y vaca
- Trabajos con ácidos nucleicos y proteínas
- Trabajos con modelos celulares in vitro
- Trabajo con modelos animales in vivo

X. Sociedades y otros méritos

- Graduado de Mérito. Facultad de Biología. Curso 1994-1999. Universidad de La Habana
- ◆ Laureada con los siguientes logros anuales del Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología:
 - Establecimiento de metodologías para la maduración y fertilización in vitro de ovocitos de vaca de razas tropicales y no tropicales (Logro Anual 2002).

XI. Congresos, reuniones, conferencias relevantes



EVENTOS			TIPO DE PARTICIPACION	TITULO DEL TRABAJO
Biología Habana 98	Cuba	11/1998	Delegado	
Congreso Internacional de Mejoramiento Animal.	Cuba	5/2000	Autor Ponente	Factores genéticos y ambientales que afectan el comportamiento de los rasgos de crecimiento en machos de la raza Charolais.
Congreso Internacional de	Cuba	5/2000	Coautor/Poster	Factores genéticos y ambientales que afectan el



Mejoramiento Animal.				comportamiento de los rasgos de crecimiento en machos de la raza Santa Gertrudis.
Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias	Cuba	11/2002	Coautor/Poster	Comparación de dos métodos de activación de ovocitos bovinos
Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias	Cuba	11/2002	Autor/Poster	Efecto beneficioso del co-cultivo con células VERO y de la adición de beta mercaptoetanol sobre el desarrollo in vitro de blastocistos bovinos
Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias	Cuba	11/2002	Coautor	
Biología Habana 2002	Cuba	11/2002	Coautor/Poster	Comparación de dos métodos de activación de ovocitos bovinos.
Biología Habana 2002	Cuba	11/2002	Autor/Poster	Efecto beneficioso del co-cultivo con células VERO y de la adición de beta mercaptoetanol sobre el desarrollo in vitro de blastocistos bovinos
Biología Habana 2002	Cuba	11/2002	Coautor/Poster	Obtención de terneros, empleando ovocitos madurados y fertilizados in vitro, y de gestaciones a partir de embriones clonados.





Evento de Reproducción asistida Cuba/Francia.	Cuba	1/2003	Delegado	Presentación de los resultados del trabajo de clonación bovina
Priemer taller de Reproducción asistida	Cuba	5/2003	Delegado	Presentación de los resultados del trabajo de clonación bovina
Annual meeting of the European Embryo Transfer Association	Alemania	9/2003	Conferencista	Producción de Embriones Bovinos Clonados en las Condiciones del Trópico

Lista de publicaciones en revistas arbitradas

1. **Rodríguez LI**, González A, Ramos, B and Castro F.O. Effect of the addition of beta mercaptoethanol on the in vitro development of cloned embryos and parthenogenetically activated cattle oocytes (in spanish). Rev. Cub. Reprod. Anim. 29 (2) 299-301, 2003
2. González A, **Rodríguez LL** and Castro F.O. Comparisson of two different methods for parthenogenetic activation of bovine oocytes (in Spanish). Rev. Cub. Reprod. Anim. 29 (2) 275-288, 2003
3. **Rodríguez, LL.**, González, A., Hayes, O., Ramos, B., Aguilar, A., Castro, F.O. Clonación en animales mediante transferencia nuclear somática. Efecto de los factores biológicos. Biotecnología Aplicada. Vol. 20 (3), 2004.
4. Hayes, O., **Rodríguez, LL.**, González, A., Falcón, V., Aguilar, A., and Castro F.O. Effect of cryopreservation on fusion efficiency and in vitro development into blastocysts of bovine cell lines used in somatic cell cloning. In press. Zygote.
5. Hayes, O., Ramos, B., **Rodríguez, LL**, Aguilar, A., Badía, T., and Castro, F.O. Confluency is sufficient to induce arrest in g0/g1 phase of the cell cycle in bovine granulosa and fibroblast cells. Anim Reprod Sci. 2005 Jul;87(3-4):181-92.



[Handwritten signature]
FP



Dr. Pedro Rojas García. (Equipo Técnico del Proyecto)

1. ANTECEDENTES PERSONALES

				R.U.T	
APELLIDO PATERNO Rojas		APELLIDO MATERNO García		Nombres Pedro Pablo	
FECHA NAC. 29/06/69	SEXO Masculino	NACIONALIDAD chilena	FONO 042-208741	FAX 42-270212	
DIRECCION PARA ENVIO DE CORRESPONDENCIA (Calle, departamento, número) Av. Vicente Méndez 595, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad de Concepción					
REGION Octava	CIUDAD Chillán	CASILLA 537	TELEX		
TIPO CORREO ELECTRONICO		DIRECCION CORREO ELECTRONICO			
INSTITUCION Universidad de Concepción, Facultad de Medicina Veterinaria, Departamento de Ciencias Pecuarias					

2.- ANTECEDENTES ACADEMICOS

TITULOS Y GRADOS	UNIVERSIDAD	PAIS	AÑO OBTENCION
Títulos			
Médico Veterinario	Universidad de Concepción	Chile	1994
Grados Académicos			
Doctor en Medicina Veterinaria	Ludwig-Maximilians-Universitaet	Alemania	2001



[Handwritten signature and initials]



JERARQUIA ACADEMICA	UNIVERSIDAD	COMPROMISO CONTRACTUAL, con la institución (Nro horas contratadas por semana)
Profesor colaborador	Concepción	44

3.- PARTICIPACION EN OTROS PROYECTOS

AÑO		TITULO Y NUMERO	Nº HORAS dedicación Semanal	FUENTE DE FINANCIAMIENTO
Inicio	Terminar			
1998	2001	"Determinación y función de factores del crecimiento y otros factores locales en la glándula mamaria de rumiantes durante diferentes fases del desarrollo"	Colaborador científico y tesista	Sociedad alemana de investigación (DFG) y DAAD
1999	2000	"Una nueva glutatión peroxidasa (GPx) en el oviducto de porcino y ovino"	Colaborador científico	Sociedad Alemana de Investigación (DFG)
2002	2004	Fondecyt 1020232 " Impacto de la exposición prenatal a andrógenos sobre la función del eje reproductivo y la homeostasis glucídica en borregas: Posibles implicancias en el inicio de la pubertad y en el desarrollo del síndrome de ovario poliquístico"	Colaborador científico	Fondecyt 1020232





4.- PUBLICACIONES IN EXTENSO.

Autores y Titulo	Revista, Volumen, Página inicial, Final, Año
<p>Torres-Farfan C, Richter HG, <u>Rojas-Garcia P</u>, Vergara M, Forcelledo ML, Valladares LE, Torrealba F, Valenzuela GJ, Seron-Ferre M.</p> <p>mt1 Melatonin receptor in the primate adrenal gland: inhibition of adrenocorticotropin-stimulated cortisol production by melatonin"</p>	<p>Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism 88: 450-458. 2003.</p>
<p><u>P Rojas</u>, R. Einspanier. "First characterisation of a new glutathion-peroxidase (GPx) in porcine and bovine oviducts"</p>	<p>Experimental Clinical Endocrinolgy and Diabetes 108 suppl 1: S2. 2000</p>
<p>Torres-Farfan C, Richter HG, Germain AM, Valenzuela GJ, Campino C, <u>Rojas-Garcia P</u>, Forcelledo ML, Torrealba F, Seron-Ferre M. Maternal melatonin selectively inhibits cortisol production in the primate fetal adrenal gland.</p>	<p>Journal of Physiol. 554(Pt 3):841-56. 2004</p>
<p>María Serón-Ferré, Carmen Campino, Hans Richter, Claudia Torres-Farfan, <u>Pedro Rojas-García</u>, Fernando Torrealba. "Ritmos neuroendocrinos y la organización del sistema circadiano".</p>	<p>En: Ulloa-Aguirre A y Larrea F (Eds invitados), Función Neuroendocrina. Cuadernos de Medicina Reproductiva, Pellicer A y Simón C (Eds), España, 2003, Vol 9, pp 33-46. Madrid, Editorial Médica Panamericana S.A. 2003.</p>
<p>Richter HG, Torres-Farfan C, <u>Rojas-García P</u>, Campino C, Torrealba F, Serón-Ferré M. The circadian timing system: making sense of day/night gene expression</p>	<p>Biol Res. 2004;37(1):11-28.</p>



b) Presentaciones a Congresos

TITULO	CONGRESO	LUGAR/FECHA
Pfaffl MW, <u>Rojas P</u> , Meyer HHD & Einspanier R. Comparing different RT-PCR approaches to measure specific cellular transcripts	Gene Quantification Europe Conference	München, Alemania, 13-14 Mayo de 1999
MW Pfaffl, A Dzidic, <u>P. Rojas</u> , R Bruckmaier & D Schams. Effects of an induced mammogenesis and lactogenesis in sheep on the mRNA expression levels of immune globulin receptors (FcRn; pIGR) and zona occludens proteins (ZO1; ZO2; ZO3)	International Animal Agriculture and Food Science Conference Joint Annual Meeting of ADSA, ASAS and PSA and the Reciprocal Meat Conference of the AMSA	Indianapolis, Indiana, USA. July 24-28, 2001
<u>Rojas P.</u> , Germain A., Torres C., Richter H., Campino C., Serón-Ferré M. Expresion del receptor de prolactina (prl) en ovario de mono capuchino. Estudios iniciales.	Sociedad Chilena de Reproducción y Desarrollo	La Serena, Chile. Agosto 2002.
Torres-Farfan C, Richter H, <u>Rojas-García P</u> , Germain A, Valenzuela G, Torrealba F and Serón-Ferré M. Melatonin inhibits ACTH-induced cortisol production by the capuchin monkey fetal adrenal gland	Annual Meeting Fetal and Neonatal Physiological Society	República Checa. 8-11 Septiembre, 2002.
<u>Rojas P</u> , Campino C, Torres C, Richter H, Germain A, Ortiz ME, Serón-Ferré M. El ovario y la prolactina (PRL) al	XIII Congreso Anual de Endocrinología y Metabolismo	Puyehue, Chile. Noviembre 21-23, 2002.



final de la gestación en primates

Rojas P, Campino C, Germain A,
Torres C, Richter H, Ortiz ME,
Serón-Ferré M.

La Relación PRL Plasmática /
mRNA de Receptor de PRL (*R-PRL*)
en el Ovario de Primates (*Cebus*
Apella) en Amenorreas
Fisiológicas

XVIII Reunión Bienal de la Asociación
Latinoamericana de Investigadores en
Reproducción Humana, ALIRH

Varadero, Cuba. Mayo 28-
31, 2003.






Dr. José Cox Ureta. (Equipo Técnico del Proyecto)

1.- ANTECEDENTES PERSONALES

				R.U.T	
APELLIDO PATERNO Cox		APELLIDO MATERNO Ureta		Nombres José Francisco	
FECHA NAC. 10/02/56	SEXO Masculino	NACIONALIDAD chilena		FONO 042-208793	FAX 42-270212
DIRECCION PARA ENVIO DE CORRESPONDENCIA (Calle, departamento, número) Av. Vicente Méndez 595, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad de Concepción					
REGION Octava		CIUDAD Chillán		CASILLA 537	TELEX
TIPO CORREO ELECTRONICO		DIRECCION CORREO ELECTRONICO			
INSTITUCION Universidad de Concepción, Facultad de Medicina Veterinaria, Departamento de Ciencias Pecuarias					

2.- ANTECEDENTES ACADEMICOS

TITULOS Y GRADOS	UNIVERSIDAD	PAIS	AÑO OBTENCION
Titulos			
Médico Veterinario	Universidad Austral de Chile	Chile	1980
Grados Académicos			
Postgrado en Biotecnología de la Reproducción Animal. Universidad de Cambridge, Inglaterra	Universidad de Cambridge	Inglaterra	1990
PhD en Ciencias Veterinarias	Universidad Sueca de Ciencias Agrícolas	Suecia	En curso



[Handwritten signature]



JERARQUIA ACADEMICA	UNIVERSIDAD	COMPROMISO CONTRACTUAL, con la institución (Nro horas contratadas por semana)
Profesor Asociado	Universidad Concepción de	44

3. PARTICIPACION EN OTROS PROYECTOS

AÑO		TITULO Y NUMERO	Nº HORAS dedicación Semanal	FUENTE DE FINANCIAMIENTO
Inicio	Terminar			
1998	2000	Study of sexual cycle and seasonality in creole goats by means of RIA	Coinvestigador	IAEA/FAO, Proyecto N° 4259
1998	2000	Utilización de técnicas radionucleares en el apoyo a programas de mejoramiento del potencial productivo y reproductivo del ganado bovino y ovino de pequeños productores	Investigador principal	AIEA/FAO CHI 05-1998
1985		Inducción de superovulación y recuperación de embriones en cabras.	Investigador principal	Fondecyt N° 85/504
1991		Desarrollo de un test de penetración espermática múltiple de zona pelucida para el estudio de la Reproducción Animal	Investigador principal	Fondecyt N°91/318
1994	1997	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.	Investigador principal	Fondecyt 1940977



[Handwritten signature]
JFA

1997	1998	Implementación de Laboratorio de I&D en la producción de semen y embriones en caprinos	Investigador principal	Fondef D96/F1065
1997	2000	Utilización de GnRH y Prostaglandina F2a en el control del post parto en lecherías de alta producción. Hoechst-IAEA.	Investigador responsable(6 hrs)	(DIUC 95121001-4
1997	2001	Desarrollo de tecnologías competitivas para la producción de embriones bovinos de carne y leche	Investigador responsable	Fondef D97I2037
2002	2005	Producción de mellizos de carne en rebaños Holstein Friesian por medio de transferencia de embriones económicos obtenidos por tecnología in vitro	Investigador responsable	FIA. BIOT-01-P-74.
2002	2005	Introducción y multiplicación de la raza ovina Dorper por medio de tecnología de embriones in vitro	Investigador principal	Innova Bio Bio; Línea A1, 02-A1-080
1984	1986	Transferencia de embriones en caprinos. Efecto de la aplicación de HCG en la respuesta ovulatoria de hembras superovuladas	Coinvestigador	DIUC 24-20-06. 1984-1986
1985		Congelación de semen caprino	Investigador alternativo	DIUC preliminar N° 85-237.
1985		Comparación de dos métodos de recuperación de embriones.		DIUC preliminar N° 85-232.
1986	1987	Congelación y metabolismo espermático en semen equino. Efecto del BSA e hipotaurina sobre la viabilidad espermática.	Investigador alternativo	DIUC 24-20-08.
1987		Sincronización de estros en cabras criollas con una combinación de progesterona y Pg F2a.	Investigador responsable	DIUC preliminar N°87-255.
		Uso de un test de penetración espermática múltiple de zonas pelúcidas para el estudio del transporte espermático y fertilización in vitro en rumiantes	Investigador alternativo	DIUC





4.- PUBLICACIONES IN EXTENSO.

Autores y Titulo	Revista, Volumen, Página inicial, Final, Año
Recabarren, S.E., A Lobos, C Schneider, J Cox, J Parilo. Sensibilidad tisular a la insulina antes, durante y después de un ayuno en ovejas prepúberes.	Arch. Med. Vet. 32:139-146. 2000
Cox, J.F., F. Saravia, O.Torrealba, A. Zavala, A. Lobos, S. Recabarren. 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 N° 26, Vol.2 467-470. 2001
Cox, J.F., F. Saravia, O. Torrealba, A. Zavala, A. Lobos. 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 N° 26, Vol. 2 461-466. 2001
Cox, J.F., A Zavala, F Saravia, C Rivas, P Gallardo, V Alfaro. Differences in sperm migration through cervical mucus in vitro relates to sperm colonization of the oviduct and fertilizing ability in goats.	Theriogenology 58: 9-18. 2002
Cox, J.F., A Zavala, F Saravia, C Rivas, V Alfaro. 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 58: 1-8. 2002
Cox, JF.. Embryo transfer and associated technologies in goats.	En: GR Richards (ed). Animal Health and Production Compendium. CAB International, Wallingford, UK. 2003.
Vilanova LT, M. Rauch, A. Mansilla, A. Zambrano, M. Brito, E. Werner, V Alfaro, JF. Cox and I. Concha. Expression of granulocyte-macrophage colony stimulating factor (GM-CSF) in male germ cells: GM-CSF enhances sperm motility.	Theriogenology, 60:1083-1095. 2003





b) Presentaciones a Congresos

TITULO	CONGRESO	LUGAR/FECHA
Cox, J.F., F. Saravia, A. Zavala, V. Alfaro, C. Rivas y N. Butendieck. Evaluación de la funcionalidad de embriones producidos <i>in vitro</i> 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. 2001
Cox, J.F., F. Saravia, A. Zavala, V. Alfaro, C. Rivas y N. Butendieck.. Producción de embriones <i>in vitro</i> 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. 2001
Cox, J.F., F. Saravia, y J. Cané.. 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. 2001
Cox, J.F., C. Allendes, N. Letelier, O. Torrealba y F. Saravia.. 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. 2001
F. Saravia, J. Cané y J.F. Cox.. Dinámica folicular durante el ciclo estral en caprinos	XXVI Congreso Anual de la Sociedad Chilena de Producción Animal	Santiago, 25-27 de Julio. 2001
Cox, JF.. Avances en la producción de embriones <i>in vitro</i> en bovinos y caprinos	I Reunión de la Sociedad Chilena de Andrología	Temuco, Universidad de la Frontera. 2002



ANEXO 3
**CARTAS DE COMPROMISO DE LAS RESPONSABILIDADES
Y APORTES DE CONTRAPARTE
(AGENTE POSTULANTE Y ASOCIADOS)**



Handwritten signature and initials in black ink, located in the bottom right corner of the page.

CARTA-COMPROMISO

En Chillán a 25 de Mayo de 2005, la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad de Concepción, RUT 81.494.400-K, representada por Don Alejandro Santa María Sanzana, Médico Veterinario, Chileno, casado, cédula de identidad y RUT N° 5.144.003-K, ambos con domicilio en la ciudad de Chillán, en adelante la EMPRESA declara lo siguiente:

Primero: La EMPRESA se encuentra postulando al Concurso Nacional de Proyectos de Desarrollo en Innovación en Biotecnología 2005, de la Fundación para la Innovación Agraria (FIA) del Gobierno de Chile, cuyo título es:

"CONSERVACIÓN DE GENOFONDOS DE ESPECIES ANIMALES SILVESTRES NATIVAS Y ENDÉMICAS EN PELIGRO DE EXTINCIÓN"

Segundo: La EMPRESA participará en este proyecto como Agente Postulante

Tercero: La EMPRESA asumirá el cumplimiento de los compromisos necesarios que se establezcan mediante convenios con los asociados, para la implementación y ejecución del proyecto de acuerdo a las pautas establecidas en las bases del concurso, al momento de la adjudicación del proyecto.

Cuarto: Para tal efecto la EMPRESA, pone a disposición del citado proyecto aportes valorizados tales como: sus profesionales, apoyo administrativo, equipos e infraestructura, tal como se indica en el presente proyecto y se resume en la tabla correspondiente.

Firma del representante legal





ANEXO 4
**CARTAS DE COMPROMISO DE PARTICIPACIÓN
DEL EQUIPO TÉCNICO, DE COORDINACIÓN Y DE
LOS BENEFICIARIOS DIRECTOS**





GOBIERNO DE CHILE
FUNDACIÓN PARA LA
INNOVACIÓN AGRARIA

Chillán, 26 de Mayo de 2005

Sra. Margarita D'Etigny Lira
Directora Ejecutiva
Fundación para la Innovación Agraria
Presente

Estimada Señora D'Etigny:

Quien suscribe, Fidel Ovidio Castro Reboredo, actualmente vinculado a la Universidad de Concepción como Colaborador Académico, me comprometo a participar en el proyecto presentado al concurso nacional de Proyectos Biotecnológicos 2005 de la Fundación Para la Innovación Agraria (FIA) denominado "CONSERVACIÓN DE GENOFONDOS DE ESPECIES ANIMALES SILVESTRES NATIVAS Y ENDÉMICAS EN PELIGRO DE EXTINCIÓN" ejerciendo la función de Coordinador del Proyecto, lo cual implica una dedicación definida durante todo el período de ejecución de la propuesta. Este compromiso se hace en el entendido de que es válido sólo si la propuesta es aprobada para su ejecución.

Sin otro particular y esperando una buena acogida de su Institución para nuestra propuesta, le saluda atentamente a Ud.

Fidel Ovidio Castro Reboredo



Chillán, 26 de Mayo de 2005

Sra. Margarita D'Etigny Lira
Directora Ejecutiva
Fundación para la Innovación Agraria
Presente

Estimada Señora D'Etigny:

Quien suscribe, Oscar Enrique Skewes Ramm, actualmente ejerciendo como Profesor Asociado de la Universidad de Concepción, me comprometo a participar en el proyecto presentado al concurso nacional de Proyectos Biotecnológicos 2005 de la Fundación Para la Innovación Agraria (FIA) denominado "CONSERVACIÓN DE GENOFONDOS DE ESPECIES ANIMALES SILVESTRES NATIVAS Y ENDÉMICAS EN PELIGRO DE EXTINCIÓN" ejerciendo la función de Coordinador Alterno del Proyecto, lo cual implica una dedicación definida durante todo el período de ejecución de la propuesta. Este compromiso se hace en el entendido de que es válido sólo si la propuesta es aprobada para su ejecución.

Sin otro particular y esperando una buena acogida de su Institución para nuestra propuesta, le saluda atentamente a Ud.

Oscar Enrique Skewes Ramm





Chillán, 26 de Mayo de 2005

Sra. Margarita D'Etigny Lira
Directora Ejecutiva
Fundación para la Innovación Agraria
Presente

Estimada Señora D'Etigny:

Quien suscribe, Lleretny Rodríguez Álvarez, actualmente vinculada a la Universidad de Concepción como Profesor Visitante, me comprometo a participar en el proyecto presentado al concurso nacional de Proyectos Biotecnológicos 2005 de la Fundación Para la Innovación Agraria (FIA) denominado "CONSERVACIÓN DE GENOFONDOS DE ESPECIES ANIMALES SILVESTRES NATIVAS Y ENDÉMICAS EN PELIGRO DE EXTINCIÓN" ejerciendo la función de responsable del trabajo experimental directo con las células de las especies a conservar, lo cual implica una dedicación definida durante todo el período de ejecución de la propuesta. Este compromiso se hace en el entendido de que es válido sólo si la propuesta es aprobada para su ejecución.

Sin otro particular y esperando una buena acogida de su Institución para nuestra propuesta, le saluda atentamente a Ud.

Lleretny Rodríguez Álvarez



Chillán, 26 de Mayo de 2005

Sra. Margarita D'Etigny Lira
Directora Ejecutiva
Fundación para la Innovación Agraria
Presente

Estimada Señora D'Etigny:

Quien suscribe, Pedro Pablo Rojas García, actualmente ejerciendo como Colaborador Académico de la Universidad de Concepción, me comprometo a participar en el proyecto presentado al concurso nacional de Proyectos Biotecnológicos 2005 de la Fundación Para la Innovación Agraria (FIA) denominado "CONSERVACIÓN DE GENOFONDOS DE ESPECIES ANIMALES SILVESTRES NATIVAS Y ENDÉMICAS EN PELIGRO DE EXTINCIÓN" ejerciendo la función de responsable de los estudios bioquímicos y fisiológicos de las células en cultivo, dentro del Equipo Técnico, lo cual implica una dedicación definida durante todo el período de ejecución de la propuesta. Este compromiso se hace en el entendido de que es válido sólo si la propuesta es aprobada para su ejecución.

Sin otro particular y esperando una buena acogida de su Institución para nuestra propuesta, le saluda atentamente a Ud.

Pedro Pablo Rojas García



Chillán, 26 de Mayo de 2005

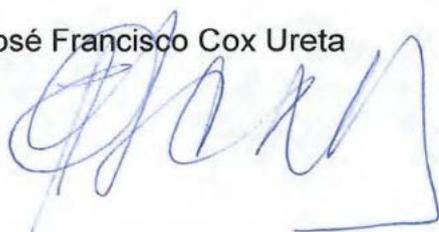
Sra. Margarita D'Etigny Lira
Directora Ejecutiva
Fundación para la Innovación Agraria
Presente

Estimada Señora D'Etigny:

Quien suscribe, José Francisco Cox, actualmente ejerciendo como Profesor Asociado de la Universidad de Concepción, me comprometo a participar en el proyecto presentado al concurso nacional de Proyectos Biotecnológicos 2005 de la Fundación Para la Innovación Agraria (FIA) denominado "CONSERVACIÓN DE GENOFONDOS DE ESPECIES ANIMALES SILVESTRES NATIVAS Y ENDÉMICAS EN PELIGRO DE EXTINCIÓN" ejerciendo la función de participante en el Equipo Técnico, lo cual implica una dedicación definida durante todo el periodo de ejecución de la propuesta. Este compromiso se hace en el entendido de que es válido sólo si la propuesta es aprobada para su ejecución.

Sin otro particular y esperando una buena acogida de su Institución para nuestra propuesta, le saluda atentamente a Ud.

José Francisco Cox Ureta



ANEXO 6 PRECIOS Y VALORIZACIONES

Precios o Valorizaciones de Bienes y Servicios

Se adjuntan fotocopias de las cotizaciones (al menos 3) recibidas para cada bien de capital solicitado



COTIZACION N° 328635

Impresión: 10/04/06 09:05 C:\Ar\11\1

Santiago, Febrero 21 de 2006

Srs Universidad de Concepcion

Campus Chillan

Av. Vicente Mendez 595

Chillan

At.. Sr(a). : Fidel Castro/ 81.494.400-K 01

Ref.: Su N° :

Condiciones : Credito a 30 dias

Piazo Entrega : inmediato (Salvo Venta Previa)

Validez Oferta : 30 dias

ITEM	CODIGO	DESCRIPCION	CALIDAD	MARCA	CANTIDAD	UNIDAD	PRECIO UNIDAD
1	AC2-4A1	<p>=====</p> <p>OFERTA ESPECIAL \$ 10.925.000 MAS IVA</p> <p>=====</p> <p>Campana Bioseguridad Area Trabajo Ancho 1270 x Alto 630mm Clase II A</p> <p>Med Totales: Ancho 1340 x Fondo 769 x Alto 1345mm</p> <p>Med Trabajo: Ancho 1270 x Fondo 540 x Alto 630mm</p> <p>Gabinete BIOSEGURIDAD de superior proteccion para</p> <p>..... MEDIO AMBIENTE por medio de 2</p> <p>.....</p> <p>..... un mado de 2,0mm recubierto de</p> <p>una capa Epoxi-Poliester liso lo cual permite una mejor limpieza.</p> <p>Ventana guillotina de 7mm espesor resist Luz UV</p> <p>Superfice de trabajo en Acero Inox AISI 304 de 4 segmentos independientes.</p> <p>Prefiltro Sint. Lavable atrapa macroparticulas</p> <p>Vol. de Aire Recirculado: 1205 cm/hr</p> <p>Veloc. del Aire promedio: >0.51 m/s</p> <p>Veloc.laminar descendente 0.45±20% sobre superficie</p> <p>Nivel de Ruido: <65 dBA</p> <p>Iluminacion: 1000 LUX</p> <p>Incluye ademas: Lampara UV Germicida, Llave para Gas, enchufe protegido para 220V 50Hz y Luz Fluorecente Sistema Digital Microp. SENTINEL controla los procesos y funciones de la Campana, Alarma</p> <p>Peso 160 Kg Vol. Aire Evacuado 355 m3</p> <p>CUMPLE LAS SIGUIENTES NORMAS INTERNACIONALES</p> <p>NSF49, US FEDERAL STANDARD 209E, EN12469</p> <p>DIN 12950, NF X44-201</p> <p>Consumo: 0367 Kw</p> <p>Tension: 230V 50/Hz una fase.</p> <p>El Gabinete esta rodeado con un Pieno de presion negativa lo que evita en forma total cualquier</p>		ESCO	1	Unidad	\$ 3.890.000



[Handwritten signature]

COTIZACION N° 328635
Santiago, Noviembre 23 de 2005
Srs Universidad de Concepcion
Campus Chillan
Av. Vicente Mendez 595
Chillan
At.. Sr(a). : Fidel Castro/ 81.494.400-K 01

 Ref.: Su N° :
 Condiciones : Credito a 30 dias
 Plazo Entrega : Inmediato (Salvo Venta Previa)
 Validez Oferta : 30 dias

ITEM	CODIGO	DESCRIPCION	CALIDAD	MARCA	CANTIDAD	UNIDAD	PRECIO UNIDAD
		GABINETES DE BIOSEGURIDAD DEBEN REALIZARSE POR EMPRESAS INDEPENDIENTES Y NO POR LA EMPRESA COMERCIALIZADORA DEL PRODUCTO, YA QUE ESTA NO PUEDE SER JUEZ Y PARTE. ARQUIMED S.A. CUMPLE CON ESTA MORMA, LA CERTIFICACION ACA OFRECIDA SERA REALIZADA POR UN SERVICIO EXTERNO DE CERTIFICACION DE CAMPANAS DE FLUJO LAMINAR Y BIOSEGURIDAD.					
5	MDF-U3086S	Refrigerador Congelador Vertical Microp. Cap 301 Lt Temp -86 a -20°C		SANYO	1	Unidad	\$ 5.347.475
6	MCO17AC	Estufa Incubadora CO2 Cap. 164 Lt R Temp. +5 a +50C/CO2 0 a 20%, Sensor Termico		SANYO	1	Unidad	\$ 3.590.000
		=====					
		OFERTA ESPECIAL \$ 10.925.000 MAS IVA					
		=====					

* MAS IVA *

 =====
 AGRADECIENDO SU COTIZACION SALUDA ATTE. A UDS.,
 ARQUIMED S.A.

 =====
 INFORMAMOS A NUESTROS CLIENTES, QUE ARQUIMED S.A.
 ES REPRESENTANTE OFICIAL PARA CHILE DE LA AFAMADA
 MARCA DE ESPECTROFOTOMETROS SPECTRONICS GENESYS




Infoland Chillán
Distribuidora Computacional Ltda.

Giro: Prestación de Servicios, Asesorías.
 Compra Venta de Computadores
 RUT.: 78.833.920-8
 El Roble 845 - A
 Fono/Fax (42) 220178 - 240666
 E-mail: ndagach@infoland.org - ndagach@netline
 Chillán

COTIZACIÓN

Nº 0006961

DIA 28 MES 11 AÑO 05

SEÑOR(ES): U. de Concepción -

DIRECCION: R.U.T.:

COMUNA: FONO:

CIUDAD: FAX/TELEX:

GIRO: M. S. T. I. B. E. L. O. U. I. D. O. U. T. E. A. C. I. O. C. O. D. I. G. O. V. E. N. D. E. D. O. R.:



CANTIDAD	CODIGO	EQUIPO	VALOR UNITARIO	TOTAL
1		Notebook acer T. Mate. - Centrino 2.0 GHz - Intel. Box. - 1 GB. RAM - 6400 100 GB. - pantalla 15.4 G. Ativo - - Wi-Fi - 150000H. - Red - w/100. - Grabador de DVD - cd - full - dual - - t. optica 18 MB RAM - - M. Mouse / teclado - - Gafas directa vista -		
			U ^C /IVA - \$	950.000
1		Pen drive 12 MB		40.000
1		Impresora HP - Laser USB.		110.000
			U ^C /IVA -	
		- Disquetes -		

OBSERVACIONES: Gafas directa vista

NDAGACH

ATENCION SR.:

POR MANO SI NO



Handwritten signature and notes at the bottom right of the document.

ORIGINAL - CLIENTE

W. Reichmann y Cia. Ltda.

SANTIAGO - CHILE
MIGUEL CLARO 987 - CASILLA 18663 - TELEFONO 2369086 - FAX 0058(2) 2351880
web: www.wreichmann.cl email: ventas@wreichmann.cl

CZ-44204-50	c/u	4	Rack para freezer anterior	45.630	\$ 182.520
CZ-03816-50	c/u	8	Cajas de 2" de alto	1.985	\$ 15.880
CZ-03816-82	c/u	8	Divisores para 100 celdas	1.400	\$ 11.200
CZ-06730-43	12/Pk	6	Unidad de filtración, 500 ml, PES. Porosidad: 0.20 um	122.515	\$ 735.090

NOTA: LOS VALORES INDICADOS SON NETOS, NO INCLUYEN IVA.

Nota: El precio de las mercaderías se entiende puesto en nuestras bodegas, nos reservamos el derecho de cobro por los gastos de envío.

CONDICIONES

FORMA DE PAGO: Al contado, 30 días fecha de factura

PLAZO DE ENTREGA: 45 - 90 DÍAS

VALIDEZ DE LA COTIZACION: 20 días

De Uds. muy atentamente
W. REICHMANN Y CIA. LTDA.
[Handwritten Signature]



Talcahuano, 28 de noviembre de 2005

COTIZACIÓN

AT::Sr Fidel Ovidio Castro
Universidad de Concepción

Envío a Ud. Cotización solicita por lo siguiente:

Marca	Sony Vaio
Modelo	Fs730
Procesador	Pentium M de 1.7 Ghz
Ram	512 MB
Disco duro	80 GB
Pantalla	15.4" X-Brite
Unidad	CD-RW DVD-RW
Precio	\$999.990.- IVA incluido



Marca	Lexmark E-230
Precio	\$59.990.- IVA incluido
Marca	Pen driver LG de 512 MB
Precio	\$ 42.990.-IVA incluido

Para cualquier duda o consulta 262460 anexo 2644

Saludo etc. a Ud.



ALMACENES PARIS COMERCIAL S.A.

COTIZACION

A FIDEL OUIDIO RUT _____
 GIRO D. CONCEPCION
 DIRECCION _____ CIUDAD _____
 FECHA 28/11/2005 TELEFONO _____
 FAX _____

Código	Descripción	Cantidad	Valor Unitario	Total
499886	HP PAVILION DU-1335LA			1.199.990
	* INTEL PENTIUM 40 CENTRINO 1,73			
	* 512 MB RAM			
	* 100 GB. DISCO DURO			
	PANTALLA 14"			
	* GRAB. DUD			
477257	IMP. LASER HL-2040 BROTHER			89.900
48158F	PEDRIJE HUBE 512MB			29.990

VENTAS: JOSE SALADA
 tono 204671



ALMACENES PARIS COMERCIAL S.A. Valor Neto _____
 RUT: 81.201.000-K I.V.A. _____
 GIRO: GRANDES TIENDAS Total 1.319.880
 DIRECCION: COYANCURA 2270, PISO 11, PROVIDENCIA, SANTIAGO.
 TELEFONO: 336 6000 CASILLA 786 SANTIAGO
 DIRECCION EN QUILLÁN: EL DOBLE 770 LOCAL 225 FON: 42 204600 FAX: 42 204600

[Handwritten signature]

SEÑORES
UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
 Facultad de Medicina Veterinaria
 Depto. Ciencias Pecuarias
 Fax : 42-270212
CHILLAN

at. Sr. Dr. Fidel Castro

COTIZACION 62352 N. SIGNO:BJ/MV/MTR FECHA: 08.06.2005

Estimados Señores:

Tenemos el agrado de ofrecerles lo

siguiente:

Item	Unidad medida	Ctd	Descripción del Producto	Val. Unit	Total
CZ-05094-50	c/u	1	Sistema criobiológico Locator 8. Volumen: 110 litros.		\$ 3.425.000
CZ-05094-56	c/u	1	Log book para locator 8		\$ 173.600
CZ-05094-52	c/u	1	Carro para locator		\$ 233.120
CZ-06754-52	10/Pk	4	Cajas de almacenamiento Cryobox para 100 viales de 1...2 ml.	75.090	\$ 300.360
CZ-08282-31	200/Pk	22	Etiquetas autoadhesivas Cryoware. 2"W x 1"H Nalgene.	34.920	\$ 768.240
CZ-09964-40	4/Pk	1	Set de lápices para marcar		\$ 14.680
CZ-09113-24	c/u	1	Par de guantes resistentes al agua, Cryo-Gloves, tipo Elbow, Talla L		\$ 125.985
CZ-03773-68			Artículo discontinuado, reemplazo por:		\$ 573.380
CZ-03773-67	c/u	1	Sistema LN ₂ Withdrawal		\$ 426.400
CZ-03773-51	c/u	1	Frasco Dewar, 4 litros		
CZ-26330-05	c/u	1	Campana de flujo laminar Labconco, con gabinete de seguridad clase II, con lámpara UV. Conexión a 230 VAC, 50 Hz.		\$ 8.231.510
CZ-44204-05	c/u	1	Freezer vertical de sobremesa, -86°C. Capacidad: 38 litros. Conexión a 230 VAC, 50 Hz.		\$ 4.680.000



[Handwritten signature]

CIENTEC
INSTRUMENTOS CIENTIFICOS S.A.

OFERTA CINC-LAB 2005/3159

SANTIAGO, Octubre 27 de 2005

Señor(es) : **UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN**
FAC. DE MEDICINA VETERINARIA
Departamento : **DEPTO. DE CIENCIAS PECUARIAS**
Atención : **DR. FIDEL CASTRO**
Dirección/Ciudad : **CHILLAN**
E-mail : **fidcastro@udec.cl**
Ref. : **SU SOLICITUD DE COTIZACIÓN**

En atención a lo solicitado, tenemos el agrado de ofrecer lo siguiente:

ITEM	Cantidad	Descripción	Valor
1	01	Tanque criogénico (Sistema de conservación en nitrógeno líquido LOCATOR 8 Plus). Para envío y conservación de muestras de construcción robusta y durable, ideal para transportes de espermios, células, etc. Capacidad de nitrógeno líquido 121 lt. Thermolyne (U.S.A.) CY50945-70	\$ 1.798.000.-
2	01	Monitor de nivel para LOCATOR 8 Plus, diseñado para minimizar la pérdida de nitrógeno líquido, reducir la conducción y evaporación de nitrógeno. Con display de cristal líquido, con indicación de volumen de nitrógeno con incrementos de 1/8", sistema de alarma para bajo nivel. Thermolyne (U.S.A.) CN509X7-70	\$ 689.000.-
3	12	Sistema de Nalgene de 100 vial criogénicos de 1,5 ml. (caja con 500 unidades) Thermolyne (U.S.A.)_AY509X3.	c/u \$ 145.340.- \$ 1.744.080.-
4	01	Tanque para transferencia de nitrógeno líquido con válvulas y llaves. Capacidad 35 lt. Thermolyne (U.S.A.) TY509X5	\$ 1.745.000.-
5	10	Sistema de Nalgene con cajas para acomodar 100 ampollas de 1 a 1,5 ml. (caja con 10 unidades) Thermolyne (U.S.A.) CS509X24	c/u \$ 62.000.- \$ 620.000.-



[Handwritten signature]



OFERTA CINC-LAB 2005/3159

ITEM	Cantidad	Descripción	Valor
6	01	Carro de transporte para LOCATOR de 5" de alto. Thermolyne (U.S.A.) AY509X1	\$ 150.900.-
7	01	LOCATOR 8 Plus LOGBOOK Thermolyne (U.S.A.) LT509X6	\$ 119.000.-
8	01	Contenedor criogénico ARTIX EXPRESS de 10 lt. Thermolyne (U.S.A.) CY50905	\$ 1.004.000.-

CONDICIONES GENERALES

Plazo de Entrega	: Aproximadamente 35 – 45 días
Forma de Pago	: Contado 30 días.
Validez de la Oferta	: 10 días.
Garantía	: 1 año para los instrumentos, salvo especificado.
Soporte y Servicio Técnico	: Propio
Nota	: Los precios anteriormente cotizados NO incluyen IVA.

Atento a cualquier consulta adicional, lo saluda atentamente,

HECTOR PACHECO BLANCO
Cientec Instrumentos Científicos S.A.

HP/bzg.



[Handwritten signature]

CIENTEC
INSTRUMENTOS CIENTIFICOS S.A.

OFERTA CINC-LAB 2005/3439	
SANTIAGO, Noviembre 24 de 2005	
Señor(es)	: UNIVERSIDAD DE CONCEPCION
Departamento	: FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA
Atención	: DR. FIDEL CASTRO R.
Dirección/Ciudad	: CONCEPCIÓN
Teléfono	: 42 – 208 833
Fax	: 42 – 270 212
E-mail	: fidcastro@udec.cl
Ref.	: SU SOLICITUD DE COTIZACIÓN

En atención a lo solicitado, tenemos el agrado de ofrecer lo siguiente:

Cantidad	Descripción	Valor
01	<p>Freezer horizontal marca HETTICH (Alemania) modelo HT1086. Controlado por microprocesador con indicación digital de la temperatura. Rango de la temperatura: -60°C a -86°C con resolución de 0,5°C. Almacena automáticamente los datos de operación de los últimos 30 días, incluso en caso de falla de energía. Alarma acústica y visual para temperatura máxima/mínima, así como de cortes de energía eléctrica. Código de seguridad para evitar cambios en los parámetros. Tapa con cerradura. Dimensiones internas: 45 cm. largo x 45 cm. ancho x 52 cm. fondo (100 litros). Construcción interior en acero inoxidable. Interfase RS 485 Peso: 146 kg. Para 220-240V / 50Hz. / 0,47Kw</p>	\$ 5.190.800.-
09	<p>Racks para 9 Cryoboxes de 50 mm. altura. Nº 950T</p> <p align="right">c/u \$ 60.230.-</p>	\$ 542.070.-



CIENTEC
INSTRUMENTOS CIENTIFICOS S.A.

OFERTA CINC-LAB 2005/3439

Cantidad	Descripción	Valor
01	<p>Freezer vertical marca HETTICH (Alemania) modelo HS-1286. Controlado por microprocesador con indicación digital de la temperatura. Rango de la temperatura: -60°C a -86°C con resolución de 0,5°C. Almacena automáticamente los datos de operación de los últimos 30 días, incluso en caso de falla de energía. Alarma acústica y visual para temperatura máxima/mínima, así como de cortes de energía eléctrica. Código de seguridad para evitar cambios en los parámetros. Puerta con cerradura. Dimensiones internas: 54,5 cm. alto x 45 cm. ancho x 48,5 cm. fondo (120 litros). Con 1 bandeja y 2 puertas interiores. Construcción interior en acero inoxidable. Interfase RS 485 Peso: 185 kg. Para 220-240V / 50Hz. / 0,40Kw</p>	<p align="center">\$ 5.624.000.-</p>
06	<p>Racks para 12 Cryoboxes de 50 mm. altura. N° 34505</p> <p align="right">c/u \$ 69.500.-</p>	<p align="center">\$ 417.000.-</p>



[Handwritten signature]

CIENTEC
INSTRUMENTOS CIENTIFICOS S.A.

OFERTA CINC-LAB 2005/3439

CONDICIONES GENERALES

Plazo de Entrega	:	Aproximadamente 60 días
Forma de Pago	:	Contado 30 días.
Validez de la Oferta	:	10 días.
Garantía	:	1 año para los instrumentos, salvo especificado.
Soporte y Servicio Técnico	:	Propio
Nota	:	Los precios anteriormente cotizados NO incluyen IVA.

Atento a cualquier consulta adicional, lo saluda atentamente,

HECTOR PACHECO BLANCO
Cientec Instrumentos Cientificos S.A.

HP/bzg.



Handwritten signature and initials in black ink, located at the bottom right of the page.

Andes Import
 General Gonzalez Balcarce #2041, Santiago
 Teléfono (02)683-4510
 Fax (02)683-4510

COTIZACION

UDEC / AVDA.VICENTE MENDEZ # 595.
 Atn.: ATTE. FIDEL OVIDIO CASTRO

Cotización N° 10873	Emisión : 18-11-2005	Vencimiento : 03-12-2005	Fono : 42/275315	Fax : 42/208790
---------------------	----------------------	--------------------------	------------------	-----------------

Vendedor : Boris Mardel	T/C : 1
-------------------------	---------

Item		Unid.	Cantidad	Precio Unit.	Total \$
01 M11A00010000517	Locator 8 W/Level Monitor./5149C35.	Ud	1	\$ 3,571,970	3,571,970
02 M11A00010000519	Ampule Box, 25-place, Cs. 72, 5149D15	Ud	1	\$ 344,370	344,370
03 M11A00010000522	Carro Transportador./5149E75.	Ud	1	\$ 189,700	189,700
04 M11A00010001306	LOG-BOOK, LOCATOR 8, 5149C60	UD	1	\$ 134,400	134,400

Neto \$	\$	4,240,440
IVA \$	\$	805,684
Total \$	\$	5,046,124

ORDEN DE COMPRA

Señores
 Andes Importadora y Exportadora Ltda.
 Atn: Boris Mardel
 Presente

Por la presente solicito a ustedes nos proveean los items arriba indicados.



[Handwritten signature]

ATTE. FIDEL OVIDIO CASTRO

[Handwritten initials]

UDEC / AVDA.VICENTE MENDEZ # 595.

ANEXO 7 FLUJOS DE CAJA MENSUAL



A handwritten signature in black ink, appearing to be "A. Reyes", written over a faint grid pattern.



FLUJO DE CAJA MENSUAL DE LOS APORTES SOLICITADOS A FIA

AÑO 2005 (en pesos)

APORTES MENSUALES FIA (\$) AÑO 2005

ITEM	diciembre	Total
1. RECURSOS HUMANOS		
1.1. PROFESIONALES		
Lleretny Rodrigeuz	700.000	700.000
Fidel Ovidio Castro	250.000	250.000
Pedro Rojas Garcia	0	0
Oscar Skewes Ramm	0	0
José Cox Ureta	0	0
1.2. TECNICOS		0
1.2.1 Técnico 1	200.000	200.000
1.3. CONSULTORES	0	0
1.4. ASESOR CONTABLE	0	0
1.5 MANO DE OBRA	0	0
José Garcés	0	0
Subtotal Recursos Humanos	1.150.000	1.150.000
2. EQUIPAMIENTO		
2.1 . Adquisición de bienes de capital	0	0
2.2.1. Uso de equipos de cómputo	0	0
2.2.2 Uso de equipos de campo	0	0
2.2.3. Uso de equipos de laboratorio	0	0
2.2.4. Otros	0	0
Subtotal equipamiento	0	0
3. INFRAESTRUCTURA	0	0
3.1. Uso de infraestructura	0	0
3.2. Otros (usos de bienes de capital)	0	0
Subtotal uso de infraestructura	0	0
4. MOVILIZACION, VIATICOS, COMBUSTIBLE		
4.1. Viáticos nacionales, alojamiento, comida	0	0
4.2. Viáticos internacionales, alojamiento, comida	0	0
4.3. Arriendo vehiculos	0	0
4.4. Pasajes	0	0
4.5. Combustibles	0	0
4.6. Peajes	0	0
Subtotal viáticos, viajes, combustibles	0	0
5. MATERIALES E INSUMOS		
5.2. Insumos de laboratorio	1.844.045	1.844.045





GOBIERNO DE CHILE
FUNDACIÓN PARA LA
INNOVACIÓN AGRARIA

5.3. Insumos de campo	0	0
5.4. Accesorios para capturas	0	0
5.5. Otros insumos de laboratorio (gases)	0	0
Subtotal materiales e insumos	1.844.045	1.844.045
6. SERVICIO DE TERCEROS	0	0
6.1. Análisis de laboratorio	0	0
6.2. Diseño	0	0
6.3. Otros servicios	0	0
Subtotal servicio de terceros	0	0
7. DIFUSION		
7.1. Días de campo	0	0
7.2. Talleres	0	0
7.3. Cursos de capacitación	0	0
7.4. Seminarios	0	0
7.5. Boletines	0	0
7.6. Manuales	0	0
7.7. Otros	0	0
Subtotal difusión	0	0
8. GASTOS GENERALES		
8.1. Consumos básicos	0	0
8.2. Fotocopias	0	0
8.3. Materiales de oficina	8.750	8.750
8.4. Materiales audiovisuales	0	0
8.5. Mantenimiento de equipos	0	0
Subtotal gastos generales	8.750	8.750
9. IMPREVISTOS	0	0
TOTAL (\$)	3.002.795	3.002.795



[Handwritten signature]



AÑO 2006 (en pesos)

PORTES											
ENSUALES FIA											
) AÑO 2006											
EM	enero	febrero	marzo	abril	mayo	junio	julio	agosto	sept	octubre	no
RECURSOS											
MANOS											
1 PROFESIONALES											
Frederico Rodríguez	700.000	700.000	1.025.000	935.000	935.000	935.000	935.000	935.000	935.000	935.000	935.000
del Ovidio Castro	250.000	250.000	250.000	250.000	250.000	250.000	250.000	250.000	250.000	250.000	250.000
Andrés Rojas García	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Richard Skewes	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Andrés Cox Ureta	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2. TECNICOS											
2.1 Técnico 1	200.000	200.000	200.000	200.000	200.000	200.000	200.000	200.000	200.000	200.000	200.000
3. CONSULTORES											
4. ASESOR											
CONTABLE	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5 MANO DE OBRA											
Andrés Garcés	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Subtotal Recursos Manos	1.150.000	1.150.000	1.475.000	1.385.000							
EQUIPAMIENTO											
1. Adquisición de bienes de capital (modato)											
20.642.303	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2.1. Uso de equipos de cómputo											
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2.2. Uso de equipos de campo											
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2.3. Uso de equipos de laboratorio											
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2.4. Otros											
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Subtotal Equipamiento	20.642.303	0									
FRAESTRUCTUR											
1. Uso de infraestructura											
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2. Otros (usos de bienes de capital)											
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Subtotal uso de infraestructura	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
MOVILIZACION, VIÁTICOS, COMBUSTIBLE											
1. Viáticos											
472.000	943.000	1.603.000	1.886.000	660.000	0	0	0	0	0	0	0



[Handwritten signatures and initials]



Almuerzo, comida											
2. Viáticos internacionales, almuerzo, comida	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3. Arriendo vehículos	120.000	560.000	840.000	560.000	0	0	0	0	0	0	0
4. Pasajes	94.500	175.800	108.000	796.000	840.000	0	0	0	0	0	0
5. Combustibles	24.750	79.200	119.200	80.000	0	0	0	0	0	0	0
6. Peajes	18.000	84.000	126.000	84.000	0	0	0	0	0	0	0
Subtotal viáticos, arriendos, pasajes, combustibles	729.250	1.842.000	2.796.200	3.406.000	1.500.000	0	0	0	0	0	0

MATERIALES E INSUMOS

2. Insumos de laboratorio	3.258.135	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3. Insumos de campo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4. Accesorios para impresoras	2.734.000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5. Otros insumos de laboratorio (gases, reactivos, etc.)	300.000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Subtotal materiales e insumos	6.292.135	0									

SERVICIO DE TERCEROS

1. Análisis de laboratorio	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2. Diseño	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3. Otros servicios	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Subtotal servicio de terceros	0										

DIFUSION

1. Días de campo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2. Talleres	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3. Cursos de capacitación	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4. Seminarios	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5. Boletines	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6. Manuales	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7. Otros	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Subtotal difusión	0										

GASTOS GENERALES

1. Consumos básicos	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2. Fotocopias	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3. Materiales de oficina	35.000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4. Materiales audiovisuales	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5. Mantenimiento de equipos	50.000	0	0	0	0	50.000	0	0	0	0	0



[Handwritten signature and initials]



Equipos	gastos											
Subtotal generales	85.000	0	0	0	0	50.000	0	0	0	0	0	0
IMPREVISTOS	1.177.357	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
TOTAL (\$)	30.076.045	2.992.000	4.271.200	4.791.000	2.885.000	1.435.000	1.385.000	1.385.000	1.385.000	1.385.000	1.385.000	1.385.000

AÑO 2007 (en pesos)

PORTES MENSUALES FIA (\$) AÑO 2007

ITEM	enero	febrero	marzo	abril	mayo	junio	julio	agosto	septiembre	octubre
RECURSOS HUMANOS										
1. PROFESIONALES										
Arteny Rodríguez	700.000	700.000	935.000	935.000	935.000	935.000	935.000	935.000	935.000	935.000
del Ovidio Castro	250.000	250.000	250.000	250.000	250.000	250.000	250.000	250.000	250.000	250.000
Andro Rojas Garcia	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Scar Skewes Ramm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
José Cox Ureta	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2. TECNICOS										
2.1 Técnico 1	200.000	200.000	200.000	200.000	200.000	200.000	200.000	200.000	200.000	200.000
3. CONSULTORES										
4. ASESOR CONTABLE	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5 MANO DE OBRA										
José Garcés	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Subtotal Recursos Humanos	1.150.000	1.150.000	1.385.000							
EQUIPAMIENTO										
1. Adquisición de bienes de capital										
2.1 Uso de equipos de cómputo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2.2 Uso de equipos de campo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2.3. Uso de equipos de laboratorio	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2.4. Otros	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Subtotal equipamiento	0									
INFRAESTRUCTURA										
1. Uso de infraestructura										
2. Otros (usos de bienes de capital)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Subtotal uso de infraestructura	0									
MOVILIZACION, VIATICOS, COMBUSTIBLE										
1. Viáticos nacionales, alojamiento, comida										
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0





GOBIERNO DE CHILE
FUNDACION PARA LA
INNOVACION AGRARIA

2. Viáticos internacionales, alojamiento, comida	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3. Arriendo vehículos	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4. Pasajes	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5. Combustibles	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3. Peajes	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Subtotal viáticos, viajes, combustibles	0									
MATERIALES E INSUMOS										
2. Insumos de laboratorio	1.920.000	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3. Insumos de campo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4. Accesorios para capturas	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5. Otros insumos de laboratorio (ases)	300.000	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Subtotal materiales e insumos	2.220.000	0								
SERVICIO DE TERCEROS										
1. Análisis de laboratorio	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2. Diseño	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3. Otros servicios	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Subtotal servicio de terceros	0									
DIFUSION										
1. Días de campo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2. Talleres	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3. Cursos de capacitación	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4. Seminarios	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5. Boletines	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3. Manuales	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7. Otros	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Subtotal difusión	0									
GASTOS GENERALES										
1. Consumos básicos	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2. Fotocopias	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3. Materiales de oficina	35.000	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4. Materiales audiovisuales	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5. Mantenición de equipos	50.000	0	0	0	0	50.000	0	0	0	0
Subtotal gastos generales	85.000	0	0	0	0	50.000	0	0	0	0
IMPREVISTOS	1.177.357	0								
TOTAL (\$)	4.632.357	1.150.000	1.385.000	1.385.000	1.385.000	1.435.000	1.385.000	1.385.000	1.385.000	1.385.000



AÑO 2008 (en pesos)

PORTES MENSUALES FIA (\$)
AÑO 2008

EM	enero	febrero	marzo	abril	mayo	junio	julio	agosto	septiembre	octubre
----	-------	---------	-------	-------	------	-------	-------	--------	------------	---------



GOBIERNO DE CHILE
FUNDACIÓN PARA LA
INNOVACIÓN AGRARIA

RECURSOS HUMANOS

1. PROFESIONALES

Arretny Rodriguez	700.000	700.000	935.000	935.000	935.000	935.000	935.000	935.000	935.000	935.000
Del Ovidio Castro	250.000	250.000	250.000	250.000	250.000	250.000	250.000	250.000	250.000	250.000
Edro Rojas Garcia	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Scar Skewes Ramm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
José Cox Ureta	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

2. TECNICOS

2.1 Técnico 1	200.000	200.000	200.000	200.000	200.000	200.000	200.000	200.000	200.000	200.000
---------------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------

3. CONSULTORES	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
----------------	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

4. ASESOR CONTABLE	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
--------------------	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

5 MANO DE OBRA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
----------------	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

José Garcés	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
-------------	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

Subtotal Recursos Humanos	1.150.000	1.150.000	1.385.000							
----------------------------------	------------------	------------------	------------------	------------------	------------------	------------------	------------------	------------------	------------------	------------------

EQUIPAMIENTO

1. Adquisición de bienes de capital	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
-------------------------------------	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

2.1. Uso de equipos de cómputo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
--------------------------------	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

2.2 Uso de equipos de campo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
-----------------------------	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

2.3. Uso de equipos de laboratorio	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
------------------------------------	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

2.4. Otros	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
------------	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

Subtotal equipamiento	0									
------------------------------	----------	----------	----------	----------	----------	----------	----------	----------	----------	----------

INFRAESTRUCTURA	0									
------------------------	----------	----------	----------	----------	----------	----------	----------	----------	----------	----------

1. Uso de infraestructura	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
---------------------------	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

2. Otros (usos de bienes de capital)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
--------------------------------------	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

Subtotal uso de infraestructura	0									
--	----------	----------	----------	----------	----------	----------	----------	----------	----------	----------

MOVILIZACION, VIATICOS, COMBUSTIBLE

1. Viáticos nacionales, alojamiento, comida	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

2. Viáticos internacionales, alojamiento, comida	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
--	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

3. Arriendo vehiculos	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
-----------------------	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

4. Pasajes	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
------------	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

5. Combustibles	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
-----------------	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

3. Peajes	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
-----------	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

Subtotal viáticos, viajes, combustibles	0									
--	----------	----------	----------	----------	----------	----------	----------	----------	----------	----------

MATERIALES E INSUMOS

2. Insumos de laboratorio	1.079.000	0	0	0	0	0	0	0	0	0
---------------------------	-----------	---	---	---	---	---	---	---	---	---

3. Insumos de campo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
---------------------	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

4. Accesorios para capturas	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
-----------------------------	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

5. Otros insumos de laboratorio (reagentes medicinales)	300.000	0	0	0	0	0	0	0	0	0
---	---------	---	---	---	---	---	---	---	---	---

Subtotal materiales e insumos	1.379.000	0								
--------------------------------------	------------------	----------	----------	----------	----------	----------	----------	----------	----------	----------





SERVICIO DE TERCEROS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1. Análisis de laboratorio	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2. Diseño	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3. Otros servicios	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Subtotal servicio de terceros	0									
DIFUSION										
1. Días de campo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2. Talleres	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3. Cursos de capacitación	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4. Seminarios	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5. Boletines	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6. Manuales	0	0	0	0	0	0	0	500.000	0	0
7. Otros	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Subtotal difusión	0	500.000	0	0						
GASTOS GENERALES										
1. Consumos básicos	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2. Fotocopias	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3. Materiales de oficina	35.000	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4. Materiales audiovisuales	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5. Mantenimiento de equipos	50.000	0	0	0	0	50.000	0	0	0	0
Subtotal gastos generales	85.000	0	0	0	0	50.000	0	0	0	0
IMPREVISTOS	1.177.357	0								
TOTAL (\$)	3.791.357	1.150.000	1.385.000	1.385.000	1.385.000	1.435.000	1.385.000	1.885.000	1.385.000	1.385.000

AÑO 2008 (en pesos)
APORTES MENSUALES FIA (\$) AÑO 2009

ITEM	enero	febrero	Total
1. RECURSOS HUMANOS			
1.1. PROFESIONALES			
Lleretny Rodríguez	700.000	700.000	1.400.000
Fidel Ovidio Castro	250.000	250.000	500.000
Pedro Rojas García	0	0	0
Oscar Skewes Ramm	0	0	0
José Cox Ureta	0	0	0
1.2. TECNICOS			
1.2.1 Técnico 1	200.000	200.000	400.000
1.3. CONSULTORES	0	0	0
1.4. ASESOR CONTABLE	0	0	0
1.5 MANO DE OBRA	0	0	0
José Garcés	0	0	0
Subtotal Recursos Humanos	1.150.000	1.150.000	2.300.000



2. EQUIPAMIENTO

2.1. Adquisición de bienes de capital	0	0	0
2.2.1. Uso de equipos de cómputo	0	0	0
2.2.2. Uso de equipos de campo	0	0	0
2.2.3. Uso de equipos de laboratorio	0	0	0
2.2.4. Otros	0	0	0
Subtotal equipamiento	0	0	0

3. INFRAESTRUCTURA

3.1. Uso de infraestructura	0	0	0
3.2. Otros (usos de bienes de capital)	0	0	0
Subtotal uso de infraestructura	0	0	0

4. MOVILIZACIÓN, VIATICOS, COMBUSTIBLE

4.1. Viáticos nacionales, alojamiento, comida	0	0	0
4.2. Viáticos internacionales, alojamiento, comida	0	0	0
4.3. Arriendo vehiculos	0	0	0
4.4. Pasajes	0	0	0
4.5. Combustibles	0	0	0
4.6. Peajes	0	0	0
Subtotal viáticos, viajes, combustibles	0	0	0

5. MATERIALES E INSUMOS

5.2. Insumos de laboratorio	0	0	0
5.3. Insumos de campo	0	0	0
5.4. Accesorios para capturas	0	0	0
5.5. Otros insumos de laboratorio (gases)	0	0	0
Subtotal materiales e insumos	0	0	0

6. SERVICIO DE TERCEROS

6.1. Análisis de laboratorio	0	0	0
6.2. Diseño	0	0	0
6.3. Otros servicios	0	0	0
Subtotal servicio de terceros	0	0	0

7. DIFUSION

7.1. Días de campo	0	0	0
7.2. Talleres	0	0	0
7.3. Cursos de capacitación	0	0	0
7.4. Seminarios	0	0	0
7.5. Boletines	0	0	0
7.6. Manuales	0	0	0
7.7. Otros	0	0	0
Subtotal difusión	0	0	0

8. GASTOS GENERALES

8.1. Consumos básicos	0	0	0
-----------------------	---	---	---





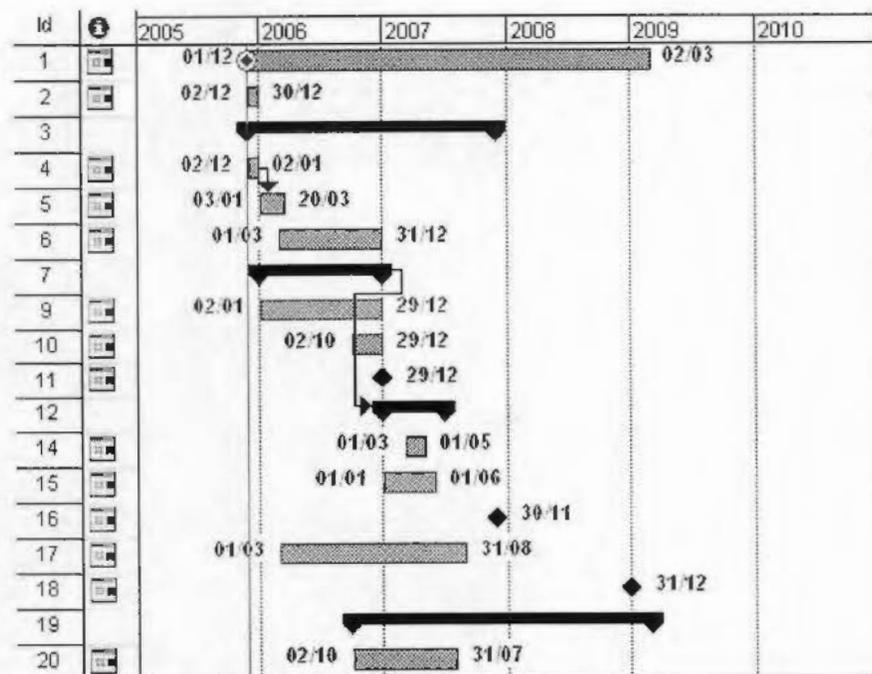

GOBIERNO DE CHILE
FUNDACIÓN PARA LA
INNOVACIÓN AGRARIA

8.2. Fotocopias	0	0	0
8.3. Materiales de oficina	0	0	0
8.4. Materiales audiovisuales	0	0	0
8.5. Mantención de equipos	0	0	0
Subtotal gastos generales	0	0	0
9. IMPREVISTOS	0	0	0
TOTAL (\$)	1.150.000	1.150.000	2.300.000

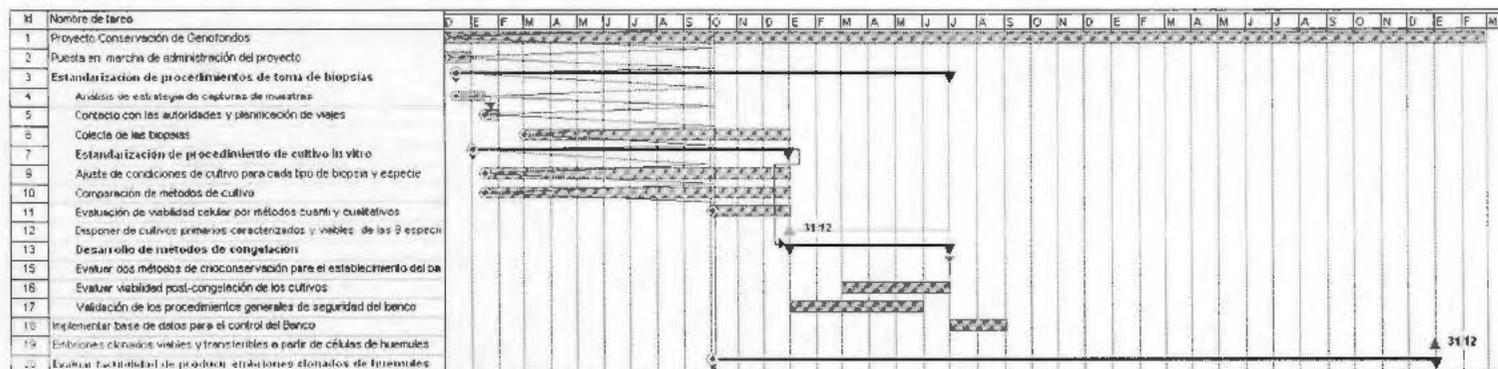


[Handwritten signatures]

Carta Gantt del proyecto (Por años)



Carta Gantt del proyecto (Por meses)

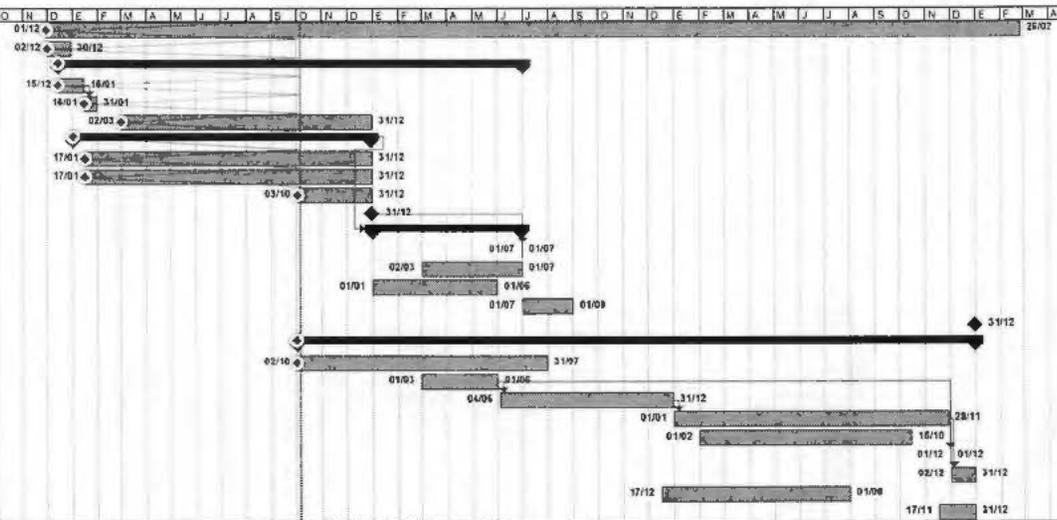


Detalle ampliado en páginas siguientes



[Handwritten signatures and initials]

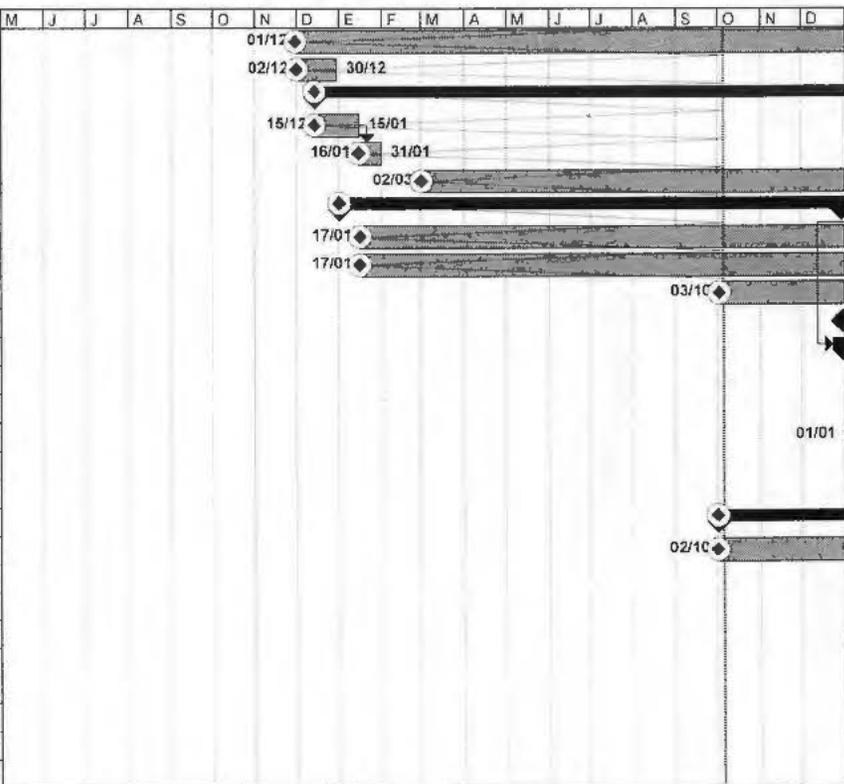
id	Nombre de tarea	Duración	Comienzo	Fin
1	Proyecto Conservación de Genclonados	640 días	jue 01/12/05	jue 25/02/09
2	Puesta en marcha de administración del proyecto	21 días	vie 02/12/05	vie 30/12/05
3	Estandarización de procedimientos de toma de biopsias	404 días?	jue 15/12/05	dom 01/07/07
4	Análisis de estrategia de capturas de muestras	22 días	jue 15/12/05	dom 15/01/06
5	Contacto con las autoridades y planificación de viajes	12 días	lun 16/01/06	mar 31/01/06
6	Colección de las biopsias	218 días	jue 02/03/06	dom 31/12/06
7	Estandarización de procedimiento de cultivo in vitro	260 días	lun 02/01/06	vie 23/12/06
9	Ajuste de condiciones de cultivo para cada tipo de biopsia y especie	250 días?	mar 17/01/06	dom 31/12/06
10	Comparación de métodos de cultivo	250 días	mar 17/01/06	dom 31/12/06
11	Evaluación de viabilidad celular por métodos cuanti y cualitativos	85 días	mar 03/10/06	dom 31/12/06
12	Disponer de cultivos primarios caracterizados y viables de las 8 especies objeto	1 día	dom 31/12/06	dom 31/12/06
13	Desarrollo de métodos de congelación	130 días	lun 01/08/07	vie 29/08/07
15	Evaluar dos métodos de criopreservación para el establecimiento del banco con	1 día?	dom 01/07/07	dom 01/07/07
16	Evaluar viabilidad post-congelación de los cultivos	87 días	vie 02/03/07	dom 01/07/07
17	Validación de los procedimientos generales de seguridad del banco	110 días	lun 01/01/07	vie 01/06/07
18	Implementar base de datos para el control del Banco	46 días	dom 01/07/07	sáb 01/09/07
19	Embriones clonados viables y transferibles a partir de células de huesules	0 días	mié 31/12/06	mié 31/12/06
20	Evaluar factibilidad de producir embriones clonados de huesules	690 días	lun 02/10/06	mié 31/12/08
21	Desarrollo de metodologías para la maduración de ovocitos	219 días	lun 02/10/06	mar 31/07/07
22	Caracterización del ciclo celular de las células donantes	67 días	jue 01/03/07	vie 01/06/07
23	Establecer metodologías de clonación somática con células de huesules	152 días	lun 04/06/07	lun 31/12/07
24	Obtención de embriones clonados de huesules	239 días	mar 01/01/08	vie 26/11/08
25	Reprogramación nuclear exitosa	754 días	vie 01/02/08	mié 15/10/08
26	Estudio de plérids y de marcadores de reprogramación en embriones	1 día	lun 01/12/08	lun 01/12/08
27	Preparación de condiciones para transferencia de los embriones	22 días	mar 02/12/08	mié 31/12/08
28	Establecimiento de un mecanismo de transferencia de los resultados	165 días	lun 17/12/07	vie 01/06/08
29	Escritura de informe final	33 días	lun 17/11/08	mié 31/12/08



[Handwritten signature]

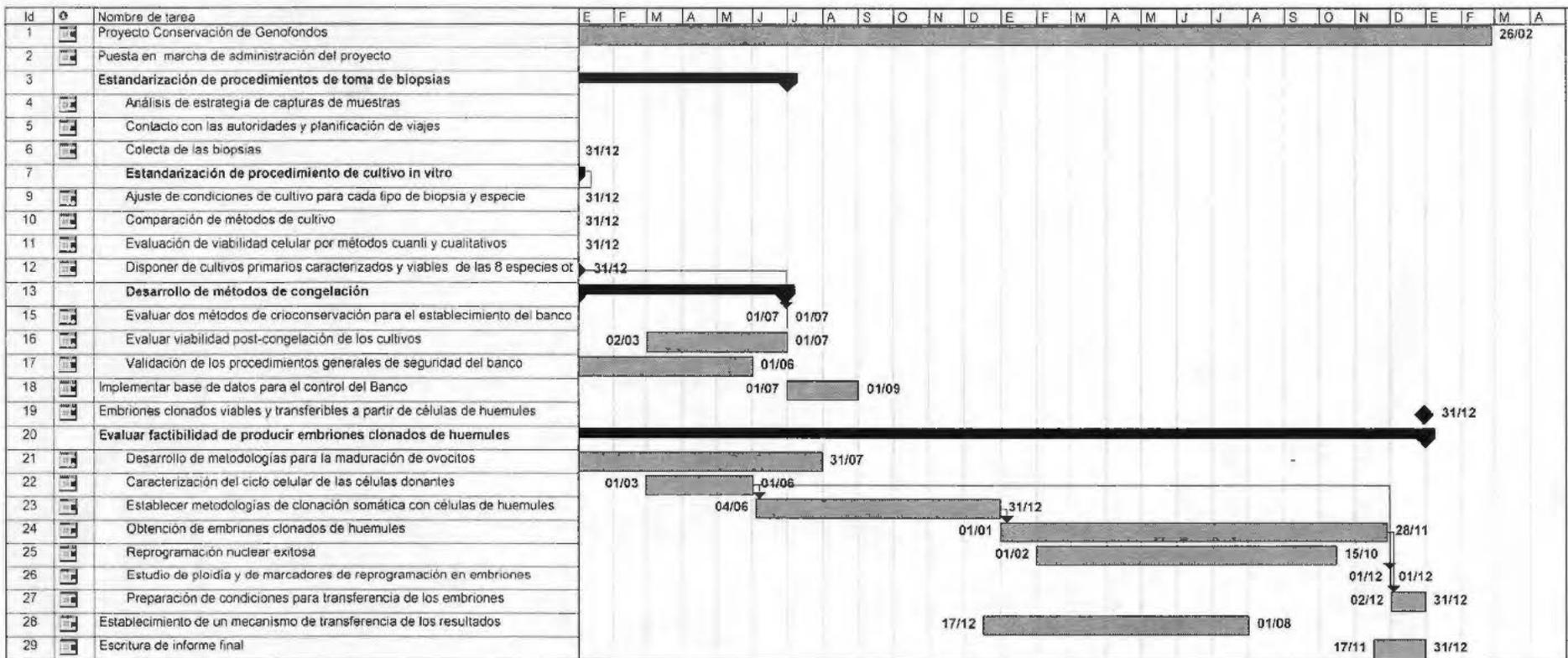
[Handwritten initials]

Id	Nombre de tarea	Duración	Comienzo	Fin
1	Proyecto Conservación de Genofondos	848 días	jue 01/12/05	jue 26/02/09
2	Puesta en marcha de administración del proyecto	21 días	vie 02/12/05	vie 30/12/05
3	Estandarización de procedimientos de toma de biopsias	404 días?	jue 15/12/05	dom 01/07/07
4	Análisis de estrategia de capturas de muestras	22 días	jue 15/12/05	dom 15/01/06
5	Contacto con las autoridades y planificación de viajes	12 días	lun 16/01/06	mar 31/01/06
6	Colecta de las biopsias	218 días	jue 02/03/06	dom 31/12/06
7	Estandarización de procedimiento de cultivo in vitro	260 días	lun 02/01/06	vie 29/12/06
9	Ajuste de condiciones de cultivo para cada tipo de biopsia y especie	250 días?	mar 17/01/06	dom 31/12/06
10	Comparación de métodos de cultivo	250 días	mar 17/01/06	dom 31/12/06
11	Evaluación de viabilidad celular por métodos cuanti y cualitativos	65 días	mar 03/10/06	dom 31/12/06
12	Disponer de cultivos primarios caracterizados y viables de las 8 especies ot	1 día	dom 31/12/06	dom 31/12/06
13	Desarrollo de métodos de congelación	130 días	lun 01/01/07	vie 29/06/07
15	Evaluar dos métodos de crioconservación para el establecimiento del banco	1 día?	dom 01/07/07	dom 01/07/07
16	Evaluar viabilidad post-congelación de los cultivos	87 días	vie 02/03/07	dom 01/07/07
17	Validación de los procedimientos generales de seguridad del banco	110 días	lun 01/01/07	vie 01/06/07
18	Implementar base de datos para el control del Banco	46 días	dom 01/07/07	sáb 01/09/07
19	Embriones clonados viables y transferibles a partir de células de huemules	0 días	mié 31/12/08	mié 31/12/08
20	Evaluar factibilidad de producir embriones clonados de huemules	590 días	lun 02/10/06	mié 31/12/08
21	Desarrollo de metodologías para la maduración de ovocitos	219 días	lun 02/10/06	mar 31/07/07
22	Caracterización del ciclo celular de las células donantes	67 días	jue 01/03/07	vie 01/06/07
23	Establecer metodologías de clonación somática con células de huemules	152 días	lun 04/06/07	lun 31/12/07
24	Obtención de embriones clonados de huemules	239 días	mar 01/01/08	vie 28/11/08
25	Reprogramación nuclear exitosa	184 días	vie 01/02/08	mié 15/10/08
26	Estudio de ploidia y de marcadores de reprogramación en embriones	1 día	lun 01/12/08	lun 01/12/08
27	Preparación de condiciones para transferencia de los embriones	22 días	mar 02/12/08	mié 31/12/08
28	Establecimiento de un mecanismo de transferencia de los resultados	165 días	lun 17/12/07	vie 01/08/08
29	Escritura de informe final	33 días	lun 17/11/08	mié 31/12/08



Proyecto: carta ganit proyecto fia mes Fecha: jue 05/10/06	Tarea		Resumen		Progreso resumido		Resumen del proyecto	
	Progreso		Tarea resumida		División		Agrupar por síntesis	
	Hito		Hito resumido		Tareas externas		Fecha límite	

Handwritten signature and initials.



Proyecto: carta gantt proyecto fia mes
Fecha: jue 05/10/06

Tarea	[Barra gris]	Resumen	[Barra negra]	Progreso resumido	[Barra negra]	Resumen del proyecto	[Barra negra]
Progreso	[Barra negra]	Tarea resumida	[Barra gris]	División	[Barra con puntos]	Agrupar por síntesis	[Barra negra]
Hito	[Diamante negro]	Hito resumido	[Diamante blanco]	Tareas externas	[Barra gris]	Fecha límite	[Barra negra]

[Handwritten signature]