Estado actual y aplicaciones de la transferencia de embriones en bovinos

Dr. Marcos G Colazo
Research Scientist, Alberta Agriculture & Food
Edmonton, Alberta, Canada
E-mail: marcos.colazo@gov.ab.ca

Transferencia de embriones comenzo en Canada en 1971 con la introducción de razas europeas

Canadian Embryo Transfer Association (CETA/ACTE)

1984 - Formada

1987 - 50 miembros

2001 - 138 miembros

- 63 Veterinarios certificados

2007 - ~ 140 miembros

Canadian Embryo Transfer Association (CETA/ ACTE)

1. Relaciones publicas y promocion
2. Standards de conducta
3. Standards de practica – Programa de certificacion

"La ETICA y la EXCELENCIA TECNICA aseguran el estado de salud de los embriones".

CFIA obligacion

(Agencia de Inspeccion de Alimentos)

Asegura que los embriones esten completamente certificados con los standards y especificaciones del pais importador

TE en Canadá en 2006

Clinicas		68
Donantes colectadas:	Leche	11,307
	Carne	3,316
Total de embriones colectados		96,285 (6.6/don.)
No. de embriones congelados		65,568 (68%)
Embriones transf. fresco		24,727
Embriones transf. congelados		25,952
No. de transf. directas		20,458 (79%)
No. de embriones exportados		22,176 (23%)

La TE en el mundo (2006)

	No. Flushes	Trans Embriones	Total Trans	%
N. America	64.711	415.596	292.605	43.6
S. America	18.000	99.627	88.261	13.2
Asia	18,919	139.534	183.925	27.4
Europa	15.859	94.090	87.841	13.1
Oceania	2.816	15.240	12.898	1.9
Africa	1.607	13.660	5.181	0.8
TOTAL	121.912	777.747	670.711	

Thibier, 2007

FIV comercial

	Asp.	COC	Media	Tr. Em	Media	%
Vacas (NP)	136	1084	8.0	521	3.8	48
Vacas (P)	7	38	5.4	23	3.3	60
Vaquillas (NP) (8-9m)	4	43	10.8	10	2.5	23
Vaquillas (P)	6	52	8.7	17	2.8	33
TOTAL	153	1217	8.0	571	3.7	47

Remillard, CETA 2005

Resultados de TE de embriones Fresco producidos *in vitro*

Septiembre 2003 - Abril 2004

- Total TE = 8909
- Total evaluados = 5277
- Preg. Rate (30 d) = 49.1 %, (n=2592)
- Preg. Rates (60 d) = 42.2 %, (n=2225)

Luiz F. Nasser
(Campo Grande, MS, Brazil)

TE - Aplicaciones

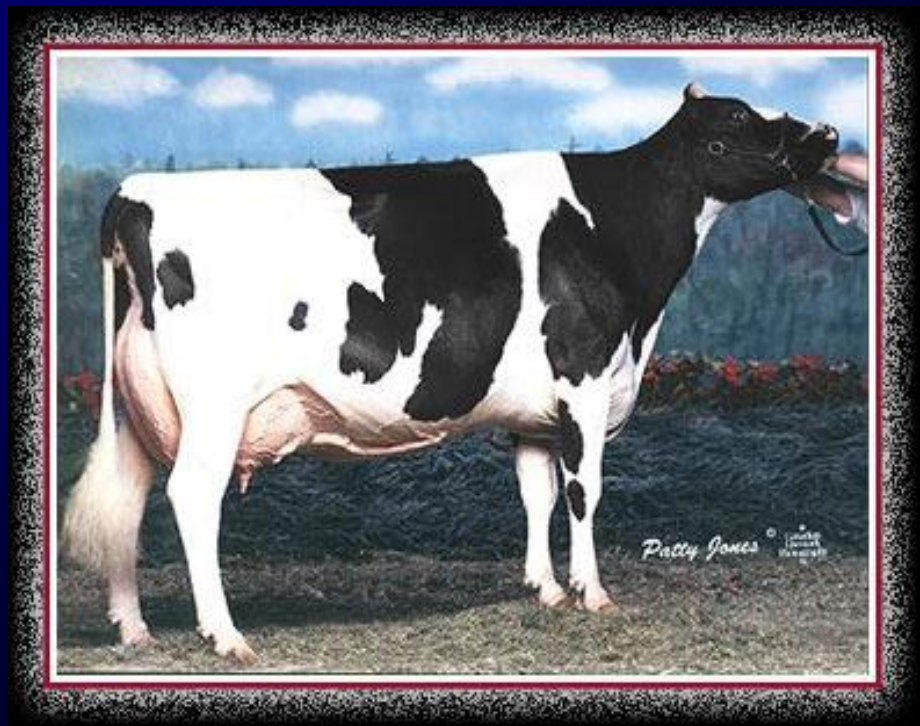
1. Mejoramiento Genético
2. Apareamiento programado
3. Evaluación genética
4. Control de enfermedades
5. Importación y Exportación
6. Selección del sexo de la progenie
7. Sistemas de cruzamiento
8. Mejoramiento de la fertilidad
9. Investigación

En 1987, el concepto de los programas MOET (University of Guelph)

- Adulto MOET
- Juvenil MOET

Cambio genetico

$$= \frac{\text{Int. Sel. x Acc. x } h^2}{\text{Inter. Generacional}}$$



Mejoramiento Genético

1. Test de progenie – 1.5% por año
2. MOET – pequeño incremento
3. MOET – Nucleos
   a) Adulto – 1.5-2%
   b) Juvenil - >2%

TE - Aplicaciones

1. Mejoramiento Genético
2. Apareamiento programado
3. Evaluación genética
4. Control de enfermedades
5. Importación y Exportación
6. Selección del sexo de la progenie
7. Sistemas de cruzamiento
8. Mejoramiento de la fertilidad
9. Investigación

TE - Aplicaciones

1. Mejoramiento Genético
2. Apareamiento programado
3. Evaluación genética
4. Control de enfermedades
5. Importación y Exportación
6. Selección del sexo de la progenie
7. Sistemas de cruzamiento
8. Mejoramiento de la fertilidad
9. Investigación

Evaluación genética y Seleccion

EL proyecto "TEAM "

- 60 Madres de toros
- 30-35 embriones/donantes
    - 7 ó 8 hembras
    - 5 machos
- Toros selec después de 3.5 años (hermanas)
- Toros selec después de 5.5 años (progenie)

TE - Aplicaciones

1. Mejoramiento Genético
2. Apareamiento programado
3. Evaluación genética
4. Control de enfermedades
5. Importación y Exportación
6. Selección del sexo de la progenie
7. Sistemas de cruzamiento
8. Mejoramiento de la fertilidad
9. Investigación

Control de enfermedades a traves de la TE

1. Estado de salud de la donante
2. Estado de salud de la receptora
3. Estado de salud del embrión

Factores de protección del embrión

1. Zona pelucida
2. Movilidad y conformación

Lavado de Embriones

- 10x – 100 fold dilucion (Alb. y suero)
- No mas de 10 embriones

Tratamiento con Trypsina

(pH 7.6-7.8; 60-90 segundos)

- Elimina virus como el de la IBR

IETS Manual

Categoria 1

Enfermedades de las cuales hay suficiente evidencia que el riesgo de transmision es nulo si los embriones son manejados adecuadamente entre la coleccion y la transferencia:

- **Leucosis Bovina**
- **Fiebre Aftosa**
- **Lengua Azul**
- **Brucelosis**
- **IBR (tratamiento con trypsina es necesario)**
- **Encefalitis espongiforme bovina (BSE; VACA LOCA)**

IETS Manual, 1998

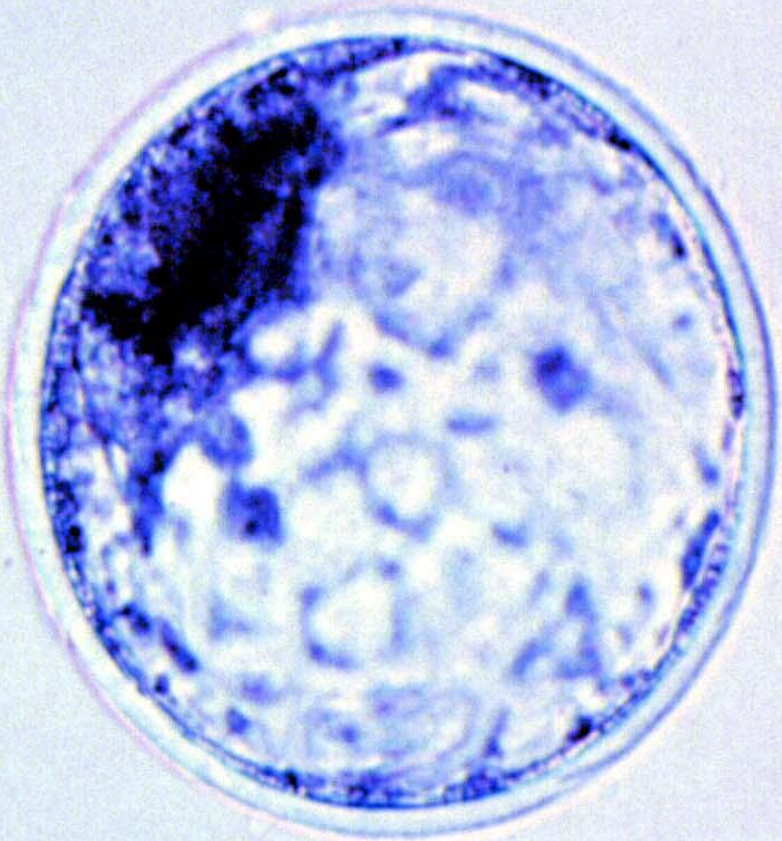
TE - Aplicaciones

1. Mejoramiento Genético
2. Apareamiento programado
3. Evaluación genética
4. Control de enfermedades
5. Importación y Exportación
6. Selección del sexo de la progenie
7. Sistemas de cruzamiento
8. Mejoramiento de la fertilidad
9. Investigación

Para exportación, embriones pueden ser declarados "LIBRE DE PATOGENOS", ...

Embriones son manipulados de acuerdo a el manual de la IETS

- 10 lavados, y ademas tratamiento con trypsina
- Zona pellucida está intacta y libre de material adherido antes y DESPUES de los lavados



Import./ Export. de Embriones

Ventajas

1. Reduce el riesgo de enfermedeades
2. Reduce los costos de cuarentena
3. Reduce los costos de transporte
4. Reduce el costo de compra
5. Mas amplia selección Seleccion
6. Adaptación

Import./Export. de Embriones

Desventajas

- **Entrenamiento e instalaciones**
- **Regulaciones**
- **Genética?**

TE - Aplicaciones

1. Mejoramiento Genético
2. Apareamiento programado
3. Evaluación genética
4. Control de enfermedades
5. Importación y Exportación
6. Selección del sexo de la progenie
7. Sistemas de cruzamiento
8. Mejoramiento de la fertilidad
9. Investigación

TE - Aplicaciones

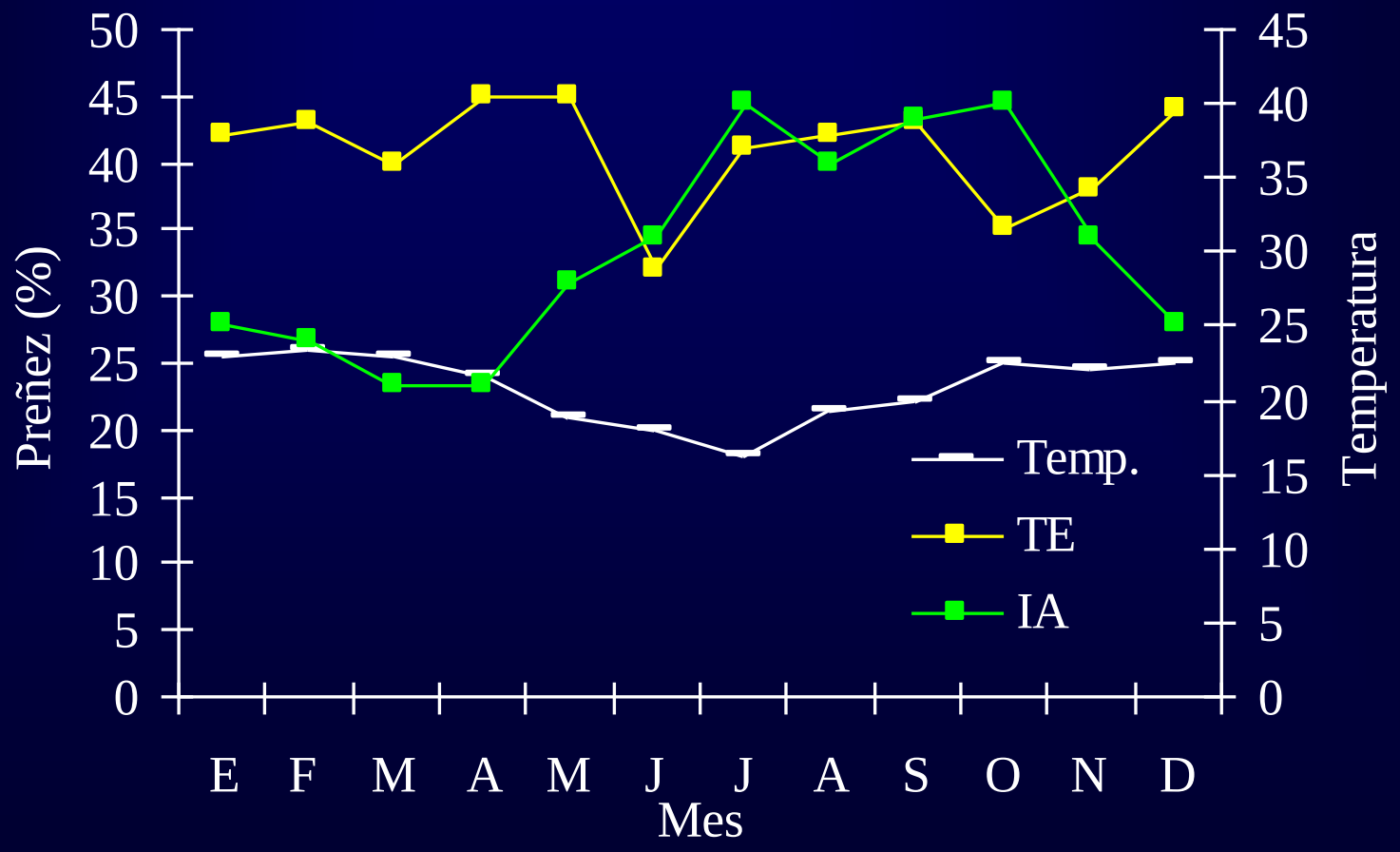
1. Mejoramiento Genético
2. Apareamiento programado
3. Evaluación genética
4. Control de enfermedades
5. Importación y Exportación
6. Selección del sexo de la progenie
7. Sistemas de cruzamiento
8. Mejoramiento de la fertilidad
9. Investigación

TE - Aplicaciones

1. Mejoramiento Genético
2. Apareamiento programado
3. Evaluación genética
4. Control de enfermedades
5. Importación y Exportación
6. Selección del sexo de la progenie
7. Sistemas de cruzamiento
8. Mejoramiento de la fertilidad

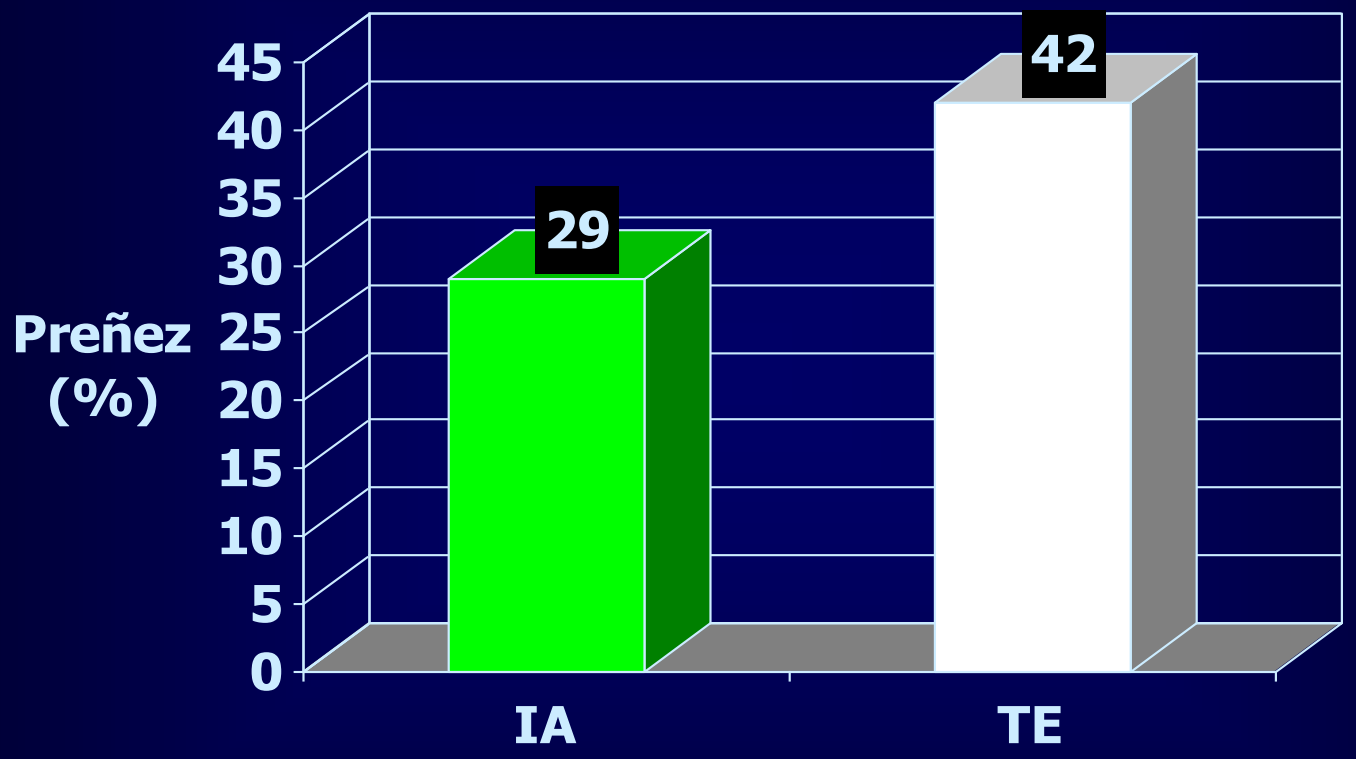
Uso de la TE durante stress calorico

IA (n= 18.568) o TE (n= 4.871) en vacas Holstein.



Rodrigues et al., 2004

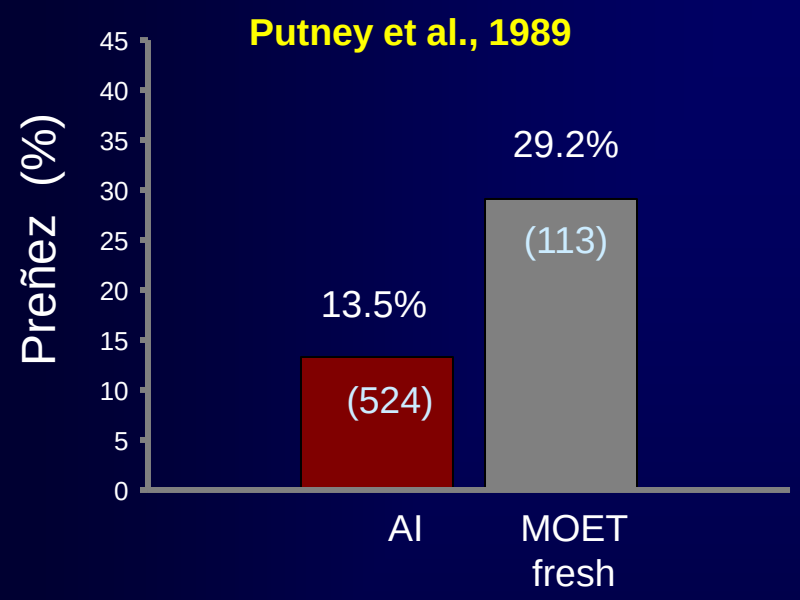
IA vs. ET

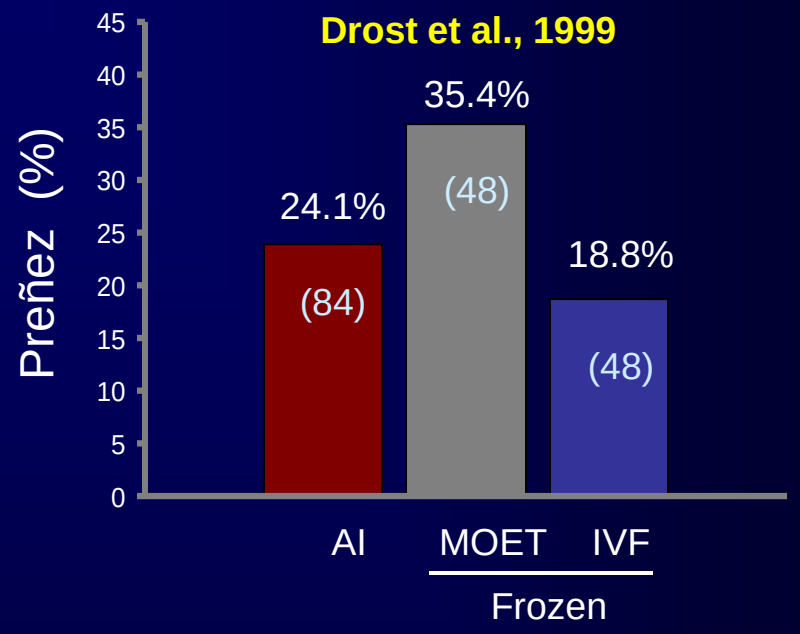


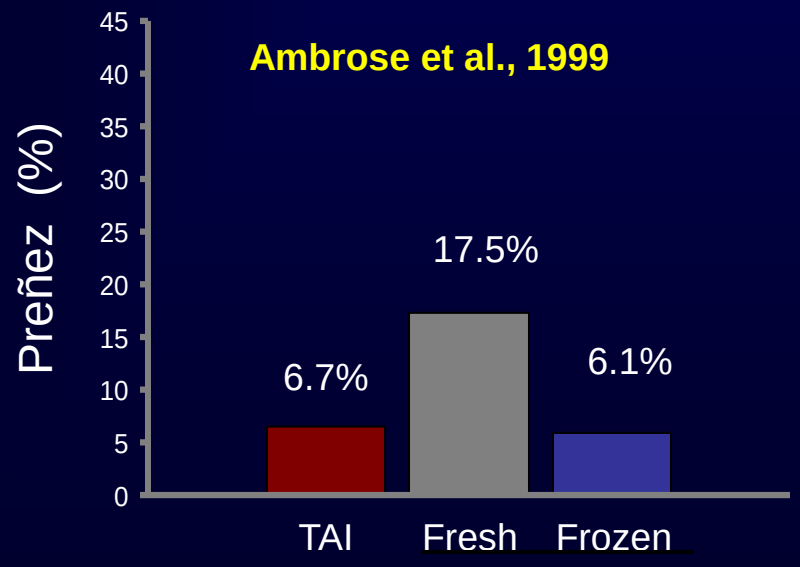
IA (n= 18.568) o TE (n= 4.871) en vacas Holstein.

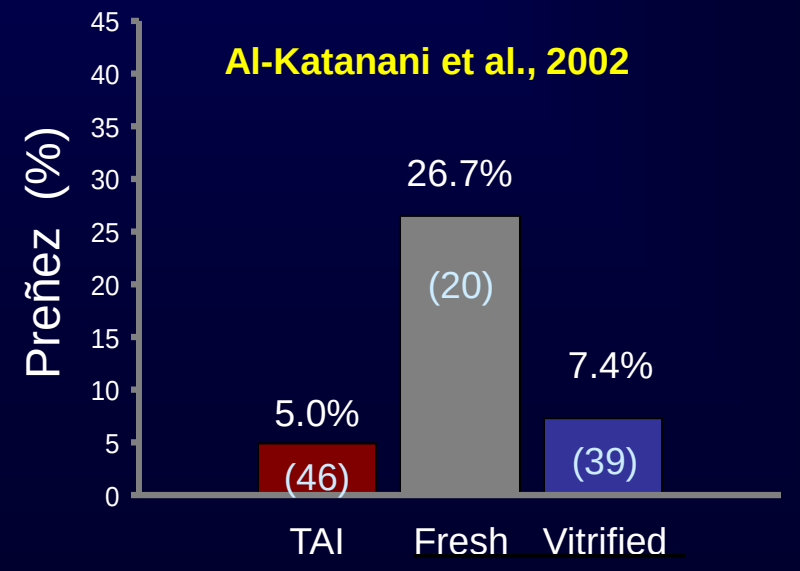
Rodrigues et al., 2004

ET vs IA en verano









Tasas de preñez después de la transferencia de embriones in vitro en repetidoras Holstein

	Tratamientos	No. de transfer.	No. de preñeces	(%)
Vaquilla	Con IA	61	30	49.2[a]
	Sin IA	61	18	29.5[b]
Vaca	Con IA	273	114	41.5[ac]
	Sin IA	137	28	20.4[bd]

[ab] Porcentajes con diferentes letras son diferentes $P < 0.05$.
[cd] Porcentajes con diferente letras son diferentes $P < 0.01$.

Dochi et al., 2008

Results –2

Efecto del número de IA previo a la transferencia de embriones

No. de IA	Con IA			Sin IA		
	No. de receptoras	No. de preñeces	%	No. of receptoras	No. de preñeces	%
3 - 5	80	44	55[ac]	93	15	16
6 -10	212	88	42[b]	88	27	31
>10	42	12	29[bd]	16	4	25

[ab] Porcentajes con diferentes letras son diferentes $P < 0.05$.
[cd] Porcentajes con diferente letras son diferentes $P < 0.01$.

Dochi et al., 2008

Results –3

Origen de los terneros después de la IA y TE de embriones in vitro en repetidoras de la raza Holstein

Batch	No. de terneros	Origen de los terneros			
		IA	TE	AI+ET	IA+IA+ET*
A	34	11(32)[a]	19(56)[a]	3(9)	1(3)
B	74	60(81)[b]	8(11)[b]	6(8)	

[ab] Porcentajes con diferente letras son diferentes $P < 0.01$.
* Doble ovulación.

Dochi et al., 2008

TE - Aplicaciones

1. Mejoramiento Genético
2. Apareamiento programado
3. Evaluación genética
4. Control de enfermedades
5. Importación y Exportación
6. Selección del sexo de la progenie
7. Sistemas de cruzamiento
8. Mejoramiento de la fertilidad
9. Investigación

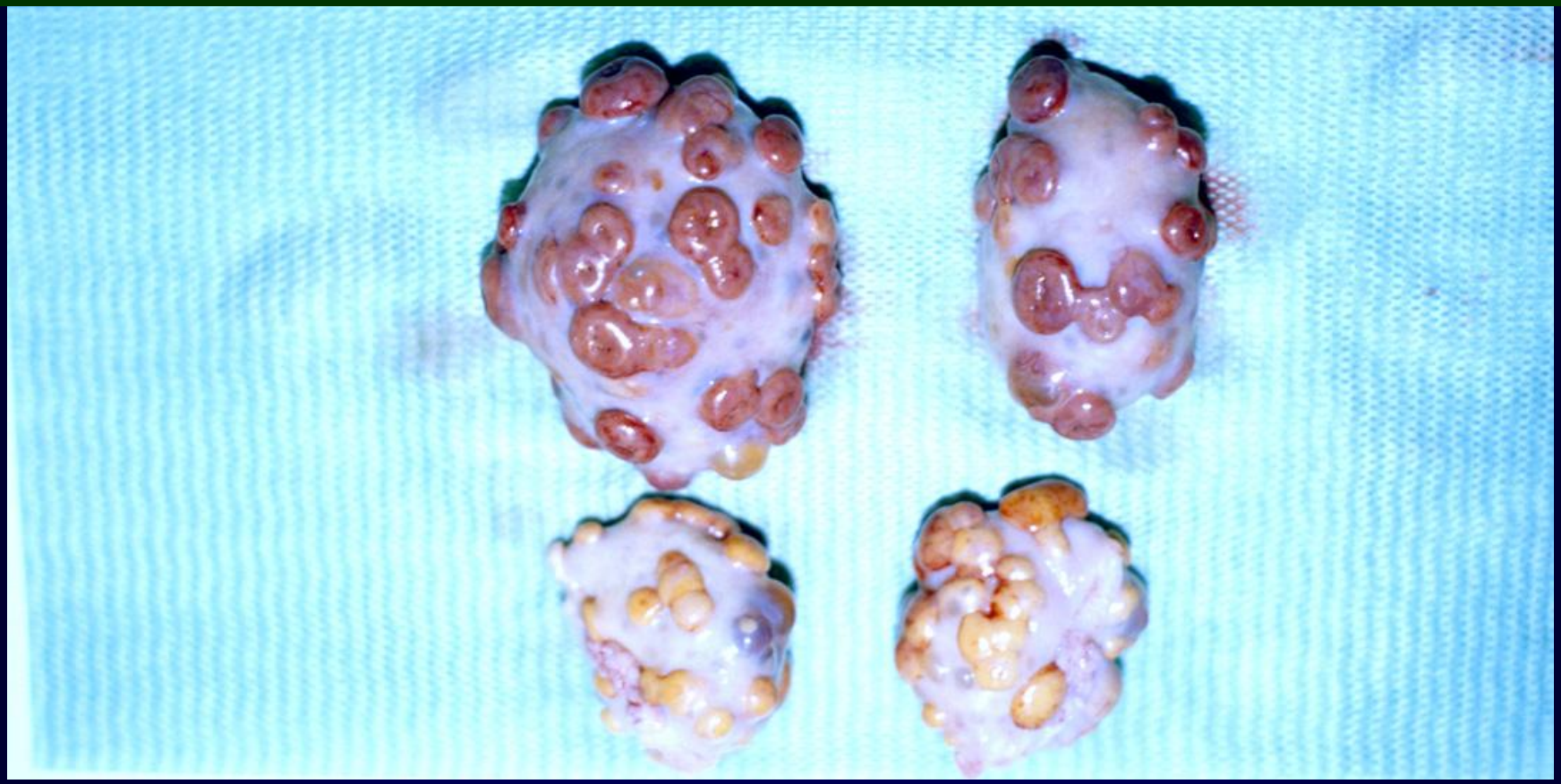
Protocolo de transferencia de embriones - Bovino

- Día 0 Estro
- Día 10 Inicio de Superovulación
- Día 11 PM - $PGF_{2\alpha}$ Receptoras
- Día 12 AM - $PGF_{2\alpha}$ Donantes
- Día 14 AM – Estro
- PM – I.A.
- Día 15 AM – I.A.
- Día 21 Colección y transferencia o congelamiento

TE - Resultados

- CL 10-12
- Total ova/embriones 8-10
- Embriones transferibles 5-6 (50-60%)
- Preñeces 2-4 (60%)

TE - Superovulación



Necesitamos incrementar el nro. de embriones transferibles, pero la variabilidad es grande…

Variabililidad en la repuesta superovulatoria

2048 donantes

Total ova/embriones - 11.5

Embriones transferibles – 6.2

- **24% de las donantes no produjeron embriones**
- **30% de las donantes produjeron el 70% de los embriones**

Looney et al., 1986

Factores que Afectan la Respuesta Superovulatoria

Extrinsecos

- Gonadotropins
- Pureza
- Dosis
- Ruta de Adm.
- Frecuencia
- Sitio

Intrinsecos

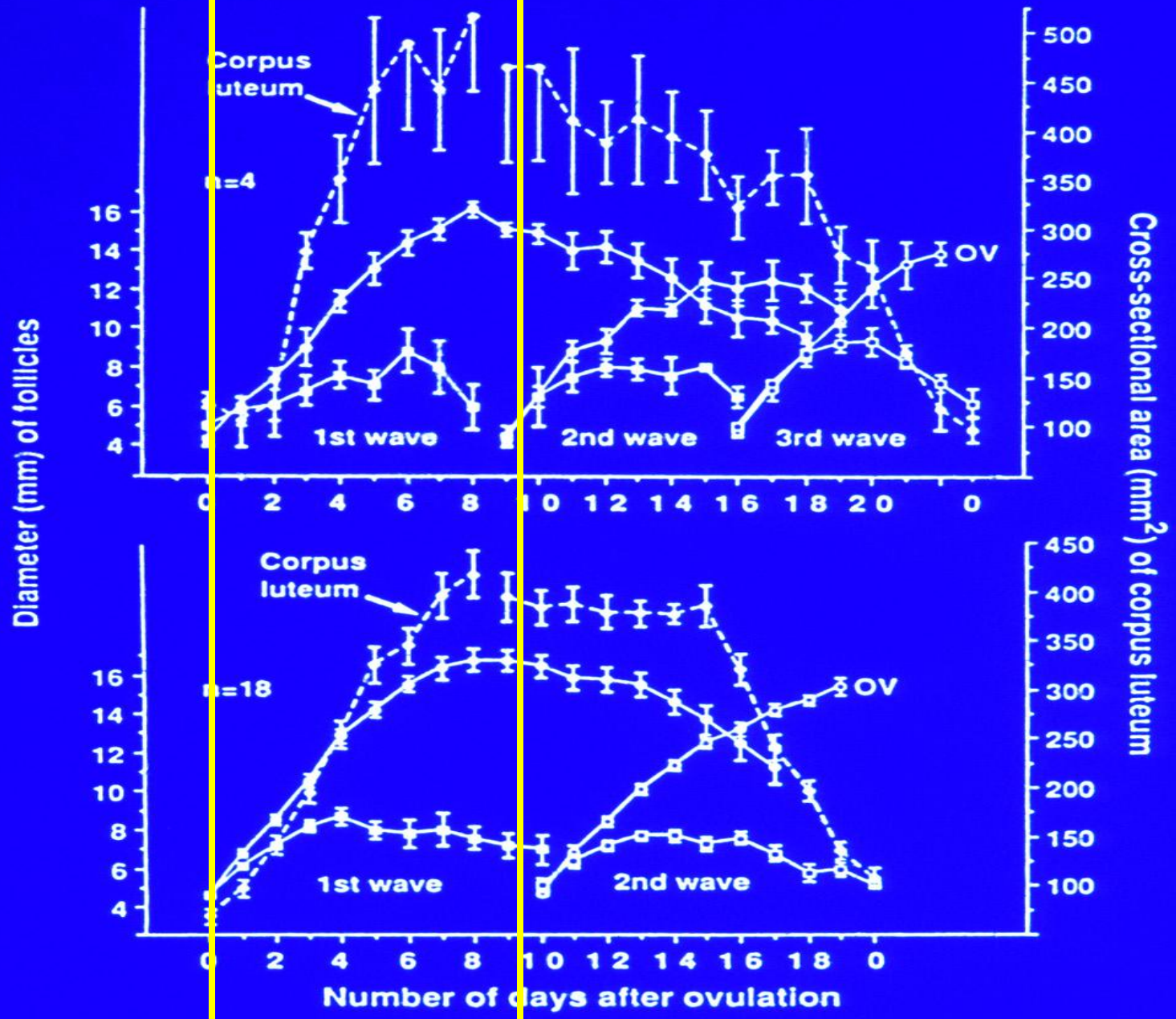
- Estado nutricional
- Historia reproductiva
- Edad
- Epoca del año
- Raza
- Dinamica folicular

Respuesta superestimulatoria e inicio de la onda folicular

Inicio del tratamiento	n	No. de Foliculos (>7mm)	No. de ovul. (U/S)
Day -1	11	22.0±3.4[a]	9.5±2.3[b]
Day 0	7	20.3±3.8[a]	18.4±3.4[a]
Day +1	6	7.7±3.4[b]	6.7±2.2[b]
Day +2	6	7.3±2.3[b]	6.5±2.3[b]

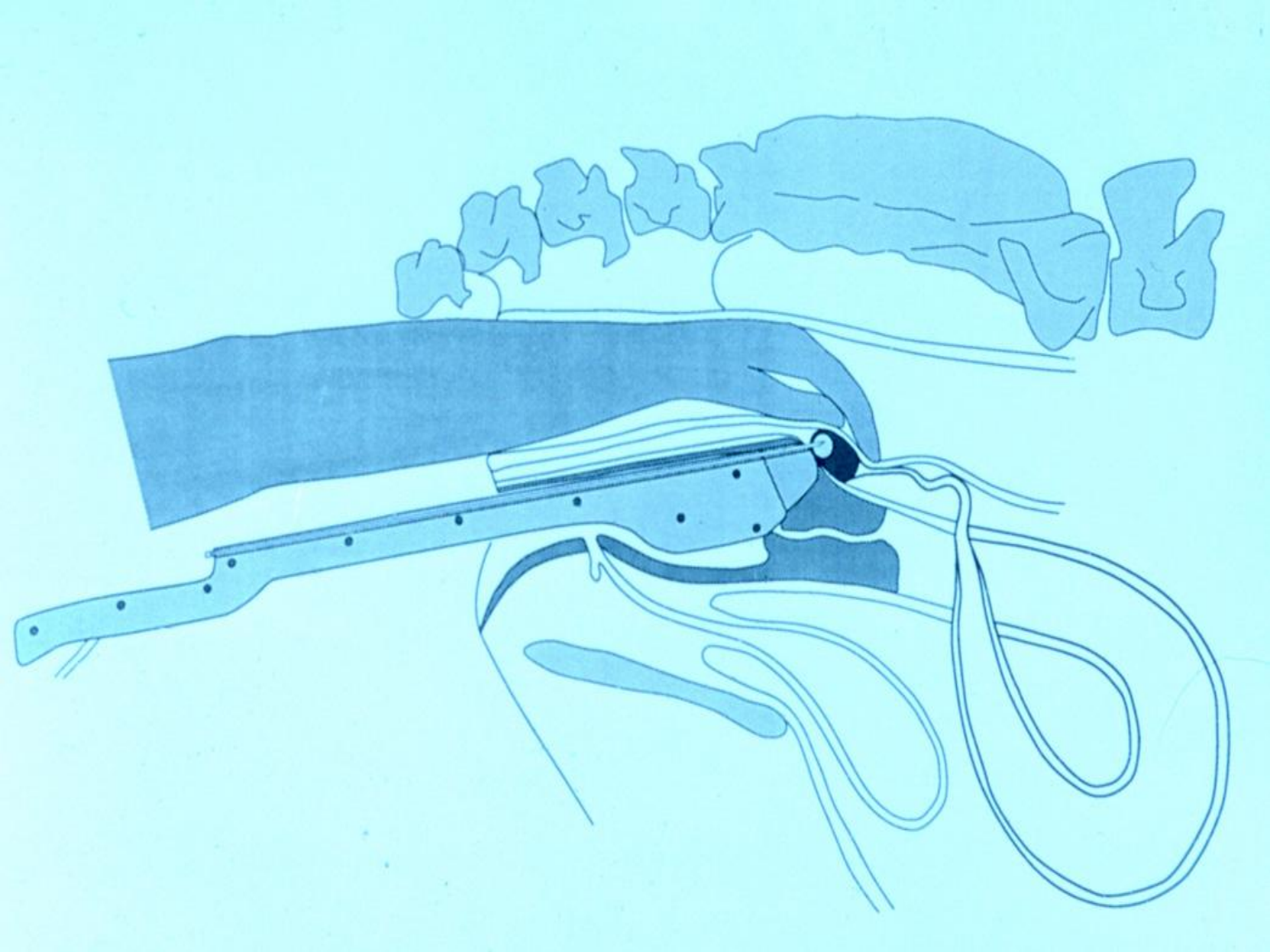
[ab] $P<0.05$

Nasser et al., 1993

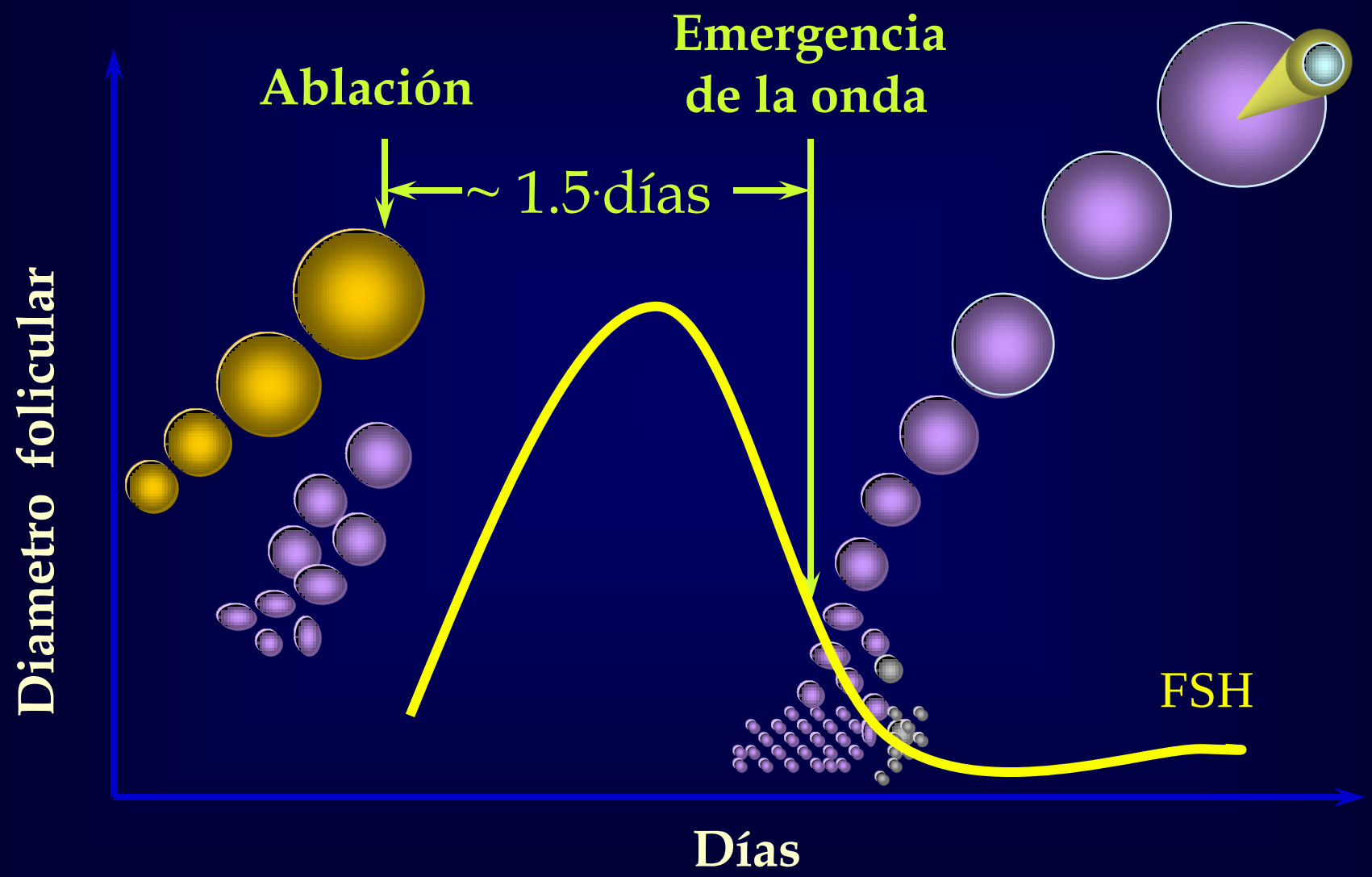

Corpus luteum
n=4
OV
1st wave
2nd wave
3rd wave
Corpus luteum
n=18
OV
1st wave
2nd wave
Diameter (mm) of follicles
Cross-sectional area (mm²) of corpus luteum
Number of days after ovulation

Sincronización de la onda folicular

- Ablación folicular – 1.5 días
  (2 foliculos mas grandes)
- Estradiol – 4 días
  (5 mg E-17β or 2 mg BE plus P4)



Ablación folicular

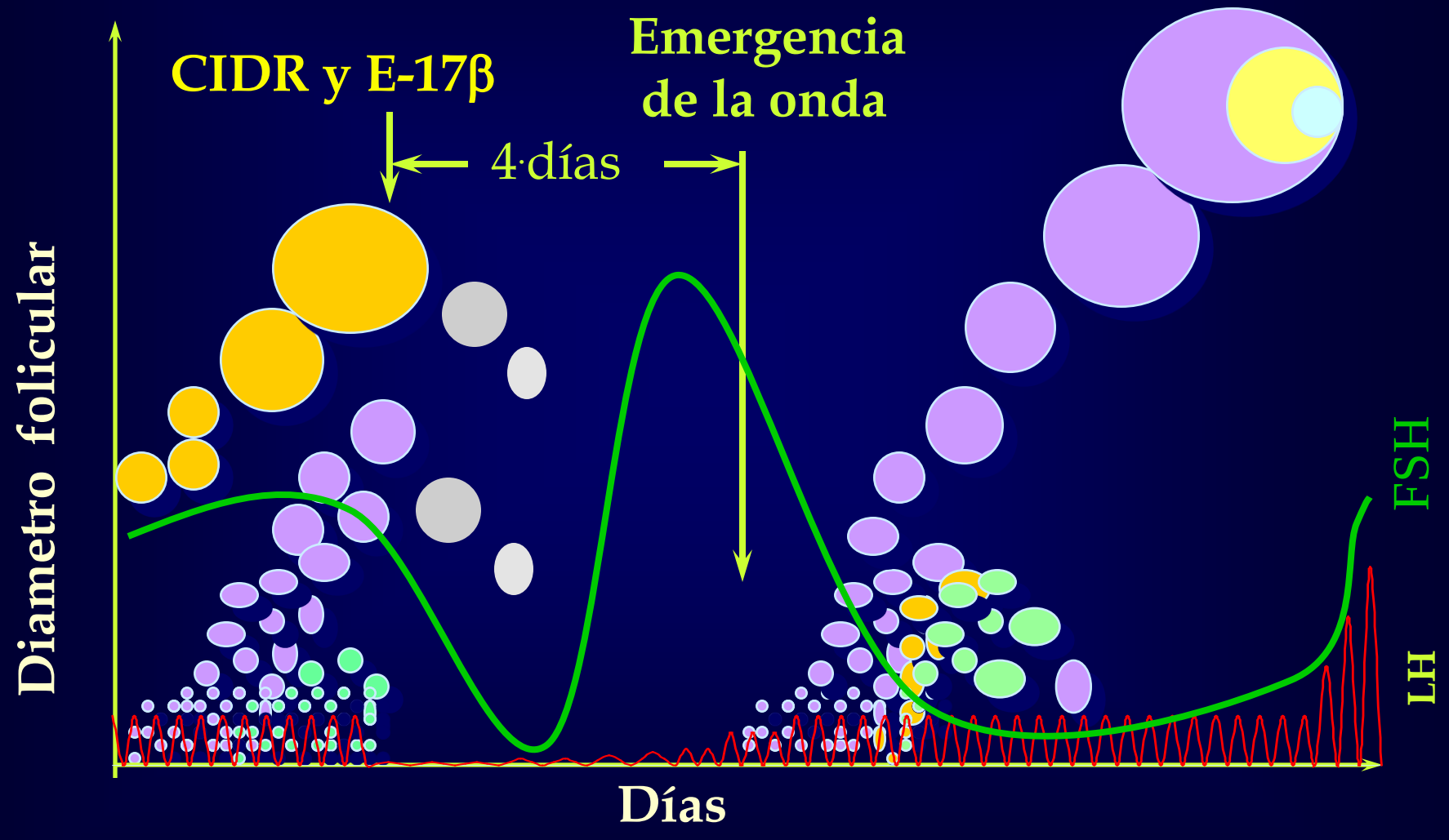


Bergfelt et al., 1994

Superestimulación – Ablación folicular

Día 0	AM	- Ablación - Insertar CIDR
Día 1	AM	- Iniciar FSH
Día 4	AM	- PGF
	PM	- PGF & remover CIDR
Día 6	PM	- IA
Día 7	AM	- IA
Día 13	Colección	

Sincronización de la onda folicular



Bo et al., 1994

Superovulation following treatment with a CIDR device plus E-17β

Día 0	AM	- Insertar CIDR + E-17β/P4
Día 4	AM	- Iniciar trat. con FSH
Día 6	AM	- PGF
	PM	- Remover CIDR - PGF
Día 8	AM	- Estro
	PM	- IA
Día 9	AM	- IA
Día 15	Colección	

Sincronización de la emergencia de la onda folicular ofrece la posibilidad de iniciar los tratamientos con FSH rapidamente y en el momento que queremos

- ✓**Sin la necesidad de detectar estro**
- ✓**Sin sacrificar respuesta**

Repeated superstimulation with E-17β

Día 0	**AM**	**- Insertar CIDR**
		- injectar 5 mg E-17β plus 100 mg P4
Día 4	**AM**	**- Iniciar tratamientos con FSH**
Día 6	**AM**	**- PGF**
	PM	**- PGF & remover CIDR**
Day 8	**PM**	**- I.A.**
Día 9	**AM**	**- I.A.**
Día 15		**- Colección & transferencia & PGF**
Día 18		**- PGF**
Día 22		**- Estro**
Día 30	**AM**	**- Insertar CIDR**
		- injectar 5 mg E-17β plus 100 mg P4

Promedios

	Holstein	Red Angus	Pooled
# Donantes	23	30	53
# Flushing	70	118	188
Media de Flushings	3.04	3.93	3.49
Int. entre flushings	39.23	30.19	34.11
Total IETS # 1 collectados	449	893	1342
Media IETS # 1/Flush	6.41	7.57	7.14
Media IETS # 2/Flush	0.82	0.99	0.93
E.Transferibles/Flush (IETS #1 & #2)	7.23	8.56	8.07
Tradicional 60 dias E.Transferibles/flush (1038 Donors)			8.47

Stables, 2003

MUCHAS GRACIAS!!