



**Dirección
de Servicios
Académicos**

**Dirección
de Bioterio**

Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo

Programa de cruzamiento para Roedores del Bioterio de la UAEH.

¿Qué es un cruzamiento?

El cruzamiento, en relación con la genética y la genómica, se refiere al intercambio de ADN entre pares de cromosomas homólogos (uno de cada progenitor) que ocurren durante el desarrollo de los óvulos y los espermatozoides (meiosis). Ese proceso produce nuevas combinaciones de alelos en los gametos (óvulo o espermatozoide) formados, lo cual garantiza la variación genómica en la descendencia producida. (National Human Genome Research Institute, 2022).

Función:

Las prácticas reproductivas se realizan para lograr producir animales homogéneos fenotípica y genotípicamente, optimizando el desarrollo de los proyectos de investigación, así como los resultados de estos, garantizando la uniformidad genética requerida para las diferentes especies de animales de laboratorio.

Objetivos

- Desarrollar un sistema de producción, reemplazos y cruzamientos endogámicos y exogámicos, para las distintas líneas de animales de laboratorio con las que cuenta el Bioterio de la UAEH.
- Homogenizar el trabajo dentro del área de producción.
- Mantener la calidad genética de los animales

Procedimiento

Roedores

Clasificación reproductora: hembra poliéstrica continua inducida.

Características reproductivas.

- Las hembras y machos alcanzan su madurez sexual a las 6-8 semanas de vida.
- La vida sexual de las hembras se prolonga hasta una edad muy avanzada (7 a 10 meses de vida).
- El ciclo estral dura de 4 a 6 días. Durante el estro, las hembras están receptivas y aceptan la monta del macho.
- Las hembras de estas especies pueden entrar en estro dentro de las 24 h posteriores al parto.
- En la orina del macho, y en menor grado de la hembra, existen compuestos odoríferos muy fuertes que sirven para marcar el territorio y regular la actividad sexual y social del grupo.
- Los machos de la mayoría de las líneas de ratones de laboratorio son púberes (con actividad espermática establecida) entre 6 y 8 semanas y mantienen la fertilidad prácticamente toda la vida.
- La reproducción puede verse considerablemente afectada por diferentes factores macro y microambientales.

Factores que afectan la reproducción:

- Alteraciones en el fotoperiodo.
- Cambios bruscos de temperatura.
- Ruidos fuertes.
- Condiciones de alojamiento indeseables (humedad de la cama y cantidad de amoníaco).

Las alteraciones en el fotoperiodo se relacionan con problemas ováricos (ovarios poliquísticos, mala maduración folicular, deterioro luteal o atrofia ovárica). Los cambios bruscos de temperatura y ruidos fuertes se relacionan con estrés y problemas derivados que pueden afectar las tasas reproductivas (p.ej., barbering). Las condiciones de alojamiento indeseables se relacionan con estereotipias y problemas comportamentales que afectan la reproducción (Pontificia Universidad Javeriana, 2021).

Determinación del sexo o sexaje de los animales.

Para determinar el sexo se realiza una simple observación de la zona perianal a partir de las 3 semanas, evaluando la distancia entre la papila genital y la apertura anal, la cual es casi el doble en los machos (**Figura 1**). El tamaño de la papila genital es también ligeramente mayor en los machos. Como una alternativa, es posible observar la parte ventral de las crías, entre los días 9 y 15, y distinguir a las hembras por la falta de pelo alrededor de los pezones, también es posible observar una pequeña mancha negra en el escroto de los machos pigmentados desde el primer día de vida

Características que ayudan a determinar el sexo:

- Distancia ano-genital (Aprox. el doble en el macho que en la hembra).
- Bolsa escrotal en los machos.
- Presencia del canal inguinal en los machos (dificulta la observación de los testículos).
- Presencia de las líneas mamarias en las hembras.
- Presencia de una fina línea depilada en la hembra.

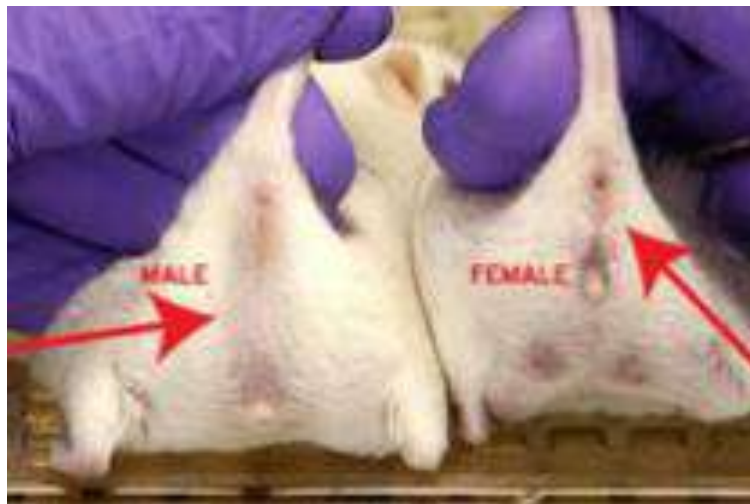


Figura 1 _ Distancia ano-genital, del lado derecho se observa a la hembra y del lado izquierdo se observa a el macho cuya distancia ano-genital es aproximadamente el doble que el de la hembra.

TIPO DE CRUZAMIENTO

- **Apareamiento monogámico:** Es cuando mantenemos un macho apareado con una hembra en forma permanente. Este tipo de apareo tiene la ventaja de aprovechar el celo posparto de las hembras, se llevan registros detallados y precisos en forma sencilla.
Desventaja: es más caro, por la cantidad de materiales que se utilizan (Jaulas, mamaderas, etc.). Producen a su vez un mayor desgaste de las hembras.
- **Apareamiento poligámico:** Es cuando apareamos un macho con dos o más hembras. A su vez estos grupos de apareo pueden mantenerse fijos durante toda la vida reproductiva o pueden deshacerse y rearmarse.
Desventajas: Si son fijos no puede individualizarse las crías de cada hembra y se dificultan los registros y no son detallados. Si no son fijos (o sea que se retiran los machos o las hembras) son costosos y requieren mucho trabajo y dedicación del personal.
Ventajas: Si son fijos se ahorra mucho en materiales y si no son fijos hay un gran aprovechamiento de los machos y altas producción de animales.

Animales no consanguíneos, exocriados o exogámicos:

Para el mantenimiento de colonias de animales no consanguíneos, exocriados o exogámicos es necesario establecer sistemas de apareamiento especiales que eviten la generación o el aumento de algún nivel de consanguinidad por medio de cruces en rotación, copiando los apareamientos al azar que se presentan en las poblaciones naturales, y de ésta manera mantener la variabilidad genética.

- **Sistema de apareamiento rotativo de mínima consanguinidad.**

Este es un sistema rotacional que se utiliza para controlar las características genéticas de una colonia de animales.

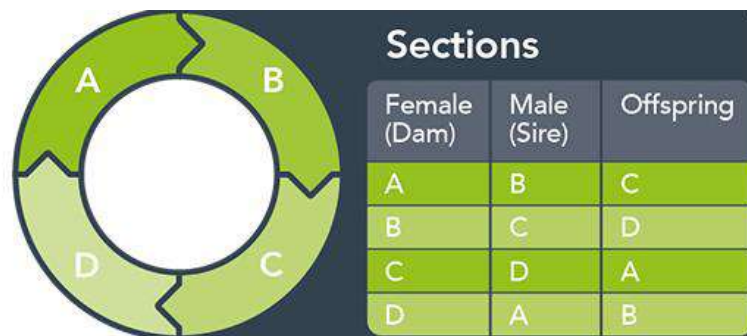
Objetivo:

Es evitar el cruzamiento de familiares cercanos y asegurar que la próxima generación del núcleo reproductor provenga del núcleo de padres más grande que el esperable al azar. Por tal razón se siguen esquemas reproductivos por unidades que garantizan tal fin.

Estas unidades pueden contener tantas jaulas se requieran según la meta de productividad.

REPRODUCCIÓN DE POBLACIONES EXOGÁMICAS

A diferencia de las cepas endogámicas, las poblaciones exogámicas deben criarse para mantener la máxima heterogeneidad. Empleamos un sistema de reproducción rotacional Poiley¹ en modelos de roedores criados en barrera para garantizar que solo se apareen animales no emparentados. Este sistema reduce el coeficiente de consanguinidad dentro de cada colonia y limita la deriva genética acumulativa al evitar cuellos de botella genéticos.



Sistema de reproducción rotativo de **Poiley** de 4 secciones

En el sistema de reproducción rotativo de **Poiley** de 4 secciones Las hembras de la Sección A se aparean con machos de la Sección B. Sus crías se asignan a la Sección C. Las hembras de la Sección B se aparean con machos de la Sección C. Sus crías se asignan a la Sección D, etc. Mediante el uso del sistema de reproducción rotacional de **Poiley**, cada generación de animales se rota en diferentes secciones de la colonia para garantizar un bajo coeficiente de consanguinidad.

- **CRUZAMIENTO PARA COLONIAS DE RATONES NO CONSANGUÍNEOS**

Cruzamiento alterno

La colonia se divide en 4 grupos cada grupo con el mismo número de cruza, las cuales son poligámicas (1 macho con 2 hembras). El apareamiento entre los grupos es de la siguiente manera: siempre un macho del grupo 1 se aparea con una hembra del grupo 2, un macho del grupo 2 con una hembra del grupo 3, un macho del grupo 3 con una hembra del grupo 4 y un macho del grupo 4 con una hembra del grupo 1. El número de cruza lo determina el macho, de tal manera que si el macho es del grupo 1 la cruza pertenecerá a ese grupo, así como su descendencia. En el tercer parto se seleccionan crías como reemplazos que formara la siguiente generación. Los ciclos reproductores de las hembras son de 6 o 7 partos. El macho se sacrifica una vez paridas las crías del parto 6 y la hembra al destete de la camada 6 o 7.

♂ Grupo 1 → ♀ Grupo 2
♂ Grupo 2 → ♀ Grupo 3
♂ Grupo 3 → ♀ Grupo 4
♂ Grupo 4 → ♀ Grupo 1

Animales consanguíneos, endocriados o endogámicos:

Para el mantenimiento de líneas consanguíneas, endocriadas o endogámicas se utiliza un sistema de cría basado en un núcleo reproductor de individuos genéticamente idénticos.

- **Cruces rigurosos hermano con hermana durante más de 20 generaciones.**

Este es un esquema reproductivo que aumenta el grado de homocigosis y genera animales isogénicos.

*Eventualmente y bajo consideración del médico veterinario es recomendable hacer apareamientos retrógrados, o sea, abuelo-tataranieta y viceversa, con el fin de evitar el virage o “drift genético”.

Cruzamiento en Línea

De una hembra y un macho progenitores (cruza monogámica) se seleccionan una hembra y un macho en el tercer parto (reemplazos), éstos serán los progenitores de la siguiente generación, se aparean al cumplir 6 semanas, nuevamente al tercer parto se seleccionan los reemplazos. Los ciclos reproductores de las hembras son de 6 o 7 partos. El macho se sacrifica una vez paridas las crías del parto 6 y la hembra al destete de la camada 6 o 7.

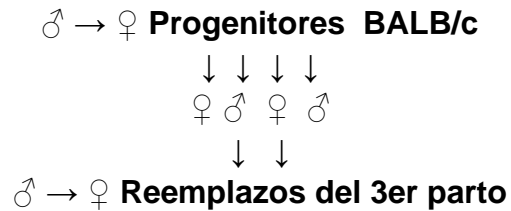


Figura 3 _ Diagrama del Sistema de apareamiento para animales consanguíneos.

Descripción del procedimiento

Actividad		Responsable	Descripción de la actividad
2	Selección de animales	Médico Veterinario responsable de cada área.	<p>1.1 Manteniendo las características fenotípicas y genotípicas de las especies que integran las colonias y líneas de roedores.</p> <p>1.2 Manipulación y sexaje de animales de laboratorio, en cantidades que respondan a las solicitudes realizadas.</p> <p>1.2 Ubicando los animales en las jaulas por grupos reproductivos.</p> <p>Mantenimiento de las jaulas.</p> <p>1.3 Identificando las jaulas con los animales seleccionados registrando la unidad de procedencia y demás datos de identificación.</p> <p>1.4 Manteniendo los animales seleccionados en sus jaulas con las condiciones optimas hasta que alcancen la pubertad y adultez 6-8 semanas de edad "roedores".</p>
3	Aparear animales		<p>2.1 Para animales no consanguíneos:</p> <p>-Tomando los animales seleccionados establecidos en el numeral 1.4 y procediendo a aparear macho con hembra en sistemas monógámicos o macho y dos o más hembras en sistemas polígámicos según la unidad que se quiera generar teniendo en cuenta el sistema de cruzamientos para exogámicos anteriormente descrito.</p> <p>-Identificando la jaula que contiene el apareamiento realizado con la ficha de Identificación.</p> <p>2.2 Para animales consanguíneos:</p> <p>-Tomando los animales seleccionados establecidos en el numeral 1.4 y procediendo a aparear individuos de la misma unidad reproductiva (hermano-hermana). Teniendo en cuenta el sistema de cruzamientos para endogámicos anteriormente descrito.</p> <p>-Identificando la jaula que contiene el apareamiento realizado con la ficha de identificación.</p> <p>2.3 Manteniendo los animales apareados en las jaulas hasta cumplirse los tiempos requeridos de ciclo reproductivo.</p> <p>*Para el caso de los animales lactantes mantener hasta el destete (21 días promedio).</p>
4	Destetar animales		<p>3.1 Manipulación y sexaje de animales de laboratorio.</p> <p>Los individuos pueden tener dos fines:</p> <p>-Con destino a entregas, según solicitudes de bienes y servicios con animales de laboratorio autorizado mediante el comité.</p> <p>-Con destino a reemplazo/recambio de colonias o líneas base de la zona de Barrera</p>
5	Seleccionar animales de reemplazo		<p>5.1 De acuerdo con el apartado anterior Manipulación y sexaje de animales de laboratorio.</p> <p>-Con destino a reemplazo.</p> <p>Se seleccionan los animales de reemplazo, individuos aparentemente sanos de la tercera o cuarta generación filial.</p> <p>*Seleccionar por lo menos 2 individuos hembras y dos machos de la misma generación.</p>

Bibliografía

Álvarez Cruz L. T. (2014). PROPUESTA DE CREACIÓN DE UN BIOTERIO PARA EL SANTUARIO ANIMAL WILDLIFE WAYSTATION, LOS ÁNGELES, CA. <https://repository.ucc.edu.co/bitstream/20.500.12494/831/1/PROTOCOLO%20%28Trabajo%20de%20grado%29.pdf>

Instituto Nacional de Salud. (2018). ESQUEMAS REPRODUCTIVOS EN LÍNEAS Y COLONIAS DE ROEDORES EN EL BIOTERIO DE BARRERA. <https://www.ins.gov.co/conocenos/sig/SIG/POE-R04.6030-003.pdf>

National Human Genome Research Institute. (2022). Cruzamiento. <https://www.genome.gov/es/genetics-glossary/Cruzamiento>

Pontificia Universidad Javeriana. (2021). Reproducción de Animales de Laboratorio. IN-P13-POE20. Recuperado de <https://www.javeriana.edu.co/documents/17504/4840380/IN-P13-POE20+Procedimiento+Operativo+Est%C3%A1ndar+Reproducci%C3%B3n+de+animales+de+laboratorio/ca97f4a9-2bc5-4482-8a2e-5912a3f62eb4?version=1.0>

Real Academia Española. (2022). Diccionario de la lengua española, 23.^a ed. <https://dle.rae.es>

Tzab Hernández, L. A. y Macswiney González M. C. (2014). Roedores ¿plagas indeseables o animales útiles?. CONABIO. Biodiversitas, 115:12-16

Ratones "Manual de genética de roedores de laboratorio". Principios básicos y aplicaciones.

Fernando J. Benavides - Jean Louis Guénet. Universidad de Alcalá, 2003

Ratas Poiley, SM (1960). Un método sistemático para la rotación de reproductores para colonias de animales de laboratorio exogámicos. Proc Anim Care Pan 10, 159–166.

<https://www.envigo.com/genetic-testing/genetic-integrity-assurance-program>