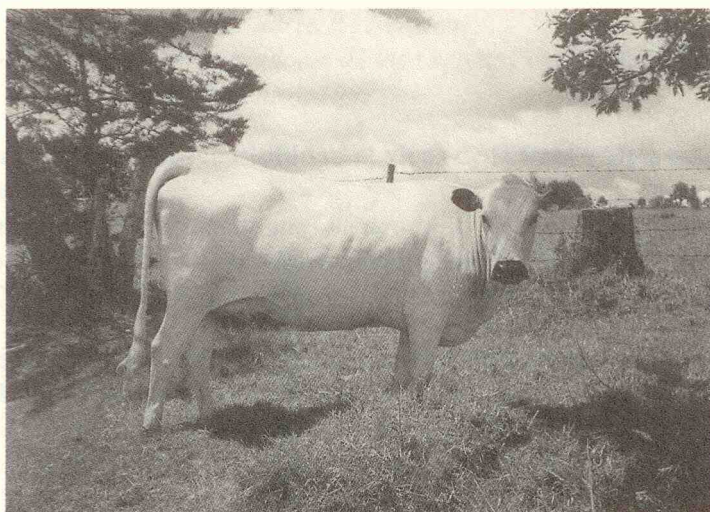


SECCIÓN V

RESÚMENES

DE PRESENTACIONES

(AÚN NO PUBLICADOS EN FORMA
DE ARTÍCULO COMPLETO)



Caracterización citogenética de la raza BON.*

Gonzalo Vásquez, Biol; Martha Olivera, MV. Dr. Sci. Agr; José L. Ramírez; MD.
MSc; Juan C. Andrade, MV. Esp; Jorge E. Ossa. MV, MSc, PhD.

Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia.

Introducción:

El origen del ganado Blanco Orejinegro (BON) colombiano se remonta al siglo XVI, su población I, inicial predominó en el clima cálido y medio de la región Andina. Es el criollo de fenotipo mas *sui generis*, con piel y mucosas pigmentadas que le confieren tolerancia a la radiación solar y ectoparásitos. El programa de Reproducción de la facultad de Medicina de la Universidad de Antioquia viene desarrollando investigaciones sobre la aplicación de la Biotecnología animal en la preservación, caracterización genética y utilización de germoplasma de ganado blanco orejinegro (BON). La citogenética ha sido útil como diagnóstico en la reproducción animal y en la comprensión de la patogénesis de algunos tipos de esterilidad, muertes embrionarias y fetales, desarrollos somáticos o sexuales anormales, esterilidad en híbridos, determinación prenatal del sexo y anormalidades cromosómicas (Hare y Singh. 1979).

En los objetivos del trabajo está la estandarización de la técnica de bandas C y R. debido a su gran importancia en la caracterización citogenética de la raza, las bandas R nos dan un patrón de bandeo longitudinal característico de los cromosomas que nos brinda la oportunidad de identificar con facilidad y certeza cada uno de los cromosomas homólogos para así elaborar con mayor precisión el cariotipo también es de gran

* Artículo publicado originalmente en: Rev Col Cien Pec.Vol. 10: Suplemento / 1997.

ayuda en la identificación de alteraciones estructurales (delecciones) en el cariotipo de los animales.

Las bandas C son específicas para identificar heterocromatina constitucional ubicada en el centrómero o satélites. nos ayudan a identificar con certeza el centrómero y posibles alteraciones de estructura de los cromosomas (cromosomas dicéntricos o derivados); también nos permite organizar el cariotipo de acuerdo a la posición y tamaño del centrómero el cual es un dato importante cuando se quiere identificar citogenéticamente los cromosomas de una especie.

Resultados

La técnica de cultivo consiste en la siembra 1 ml de sangre heparinizada en 10 ml de medio de cultivo RPMI 1640 suplementado con SBF 20%, antibiótico, antimicótico, agente mitogénico utilizado PHP 0.3 ml/cultivo. El tiempo de incubación es de 70 horas a 37°C. Antes de la cosecha, 6: 45 horas se adiciona BrdU 0.02mg/ml de medio de cultivo a la mitad de los cultivos. La cosecha se hace en base a protocolos estándar.

Las placas de cromosomas de cultivos con bromo se procesan de acuerdo con las técnicas de bandas de replicación. las placas sin bromo se dejan envejecer por 8 a 10 días y se tratan con la técnica de bandas C. Por último se realiza el análisis microscópico, fotográfico y la elaboración del respectivo cariotipo, teniendo en cuenta los patrones internacionales.

Bibliografía

Journal of Heredity. 1988. Hereditas, 1971. Hereditas, 1976. Ann. Genet. Sel. Anim. 1976. Hereditas, 1988. Human Genetics, 1980. Ann. Genet. Sel. Ann. 1981. Hereditas, 1981. Res. Vet. Sci., 1978. Vet. Rec. 1985. Revista MVZ Córdoba, 1985. Vet. Mex. 1993. Jpn. J. Zootech. Sci., 1980

Caracterización espermática del ganado BON y Cebú Brahman para la producción de embriones bovinos in vitro (IVP) *

*Rosa A. Sierra, Jesús Berdugo, Juan F. Cuartas,
Víctor Aguirre, Marta Olivera*

Programa Biotecnología Animal, BIOGENESIS. Universidad de Antioquia

La producción in vitro (PIV) de embriones se está haciendo rutinaria como un método para optimizar el recurso animal, para estudios de biología reproductiva y como fuente de embriones para las diferentes técnicas de Biotecnología: Dentro del desarrollo de las metodologías se hace imperativo el conocimiento de la biología de cada una de las especies o razas que se utilizan en este procedimiento. Es aceptado en la literatura que existen diferencias en la fertilidad de diferentes animales dentro de la raza; validando la necesidad de estudiar y caracterizar el comportamiento de cada raza usada, para una optimización del recurso animal.

En la rutina de la FIV se necesita inducirle al espermatozoide todos los cambios necesarios para fertilizar, que naturalmente ocurren dentro del tracto reproductor de la hembra. El conocimiento de la biología de la capacitación, de la RA, de la forma de seleccionar la mejor concentración de heparina o de espermatozoides y la adición de algunos fármacos, han de ser rutina en el programa, gracias a que hoy en día existen formas de identificar con certeza cada una de los fenómenos planteados, todo esto tendiente a la obtención de un mayor número de embriones.

* Artículo publicado originalmente en: Rev Col Cien Pec. Vol. 11: 1, pág. 50-52 / 1998.

Se conoce desde 1980 que se puede obtener descendencia viable a partir de embriones bovinos obtenidos por FIV, pero poco o nada se sabe de la biología reproductiva del ganado criollo y del brahman. Enmarcado dentro de los conceptos modernos de estudio de la biodiversidad, esta falta de conocimiento refuerza aún más la necesidad de este tipo de trabajos.

Se trabajará con ganado de la raza blanco orejinegro (BON), como representante de la especie *Bos taurus*, dado que el conocimiento de los parámetros funcionales del ganado criollo son parte del proyecto para la preservación y propagación del ganado criollo colombiano, y además porque es una raza en peligro de extinción; y con el ganado de la raza Brahman como representante de la especie *Bos indicus*, que es una raza de importancia económica en nuestro país, ya que produce el 90 % de la carne que se consume. Además, el semen de ganado BON y del Brahman están sin caracterizar para producción in vitro de embriones.

Dentro de las actividades del programa de Biotecnología Animal de la Corporación Biogénesis, está la obtención de embriones in vitro para ello se hace necesario la profundización en el conocimiento de la biología reproductiva de las razas o especies a estudiar; es por eso que la identificación de los parámetros biológicos funcionales de los espermatozoides utilizados se hace prioritaria.

Una de las prioridades del programa de Biotecnología es la preservación y propagación de razas en peligro o en vía de extinción así como de razas de importancia zootécnica en la producción animal de nuestro país; sin embargo, es poco lo que se conoce sobre la biología reproductiva de estas especies, dado que existen variaciones importantes en la capacidad de fertilizar óvulos in vitro entre las razas y entre los toros (1,2), el primer paso dentro de este proceso son los estudios sobre las características espermáticas de las especies o individuos.

Este estudio pretende aportar información referente al comportamiento in vitro de los espermatozoides de la raza (BON) reconocida por su resistencia a las enfermedades, rusticidad y adaptación a las duras condiciones del trópico; y de la raza cebú Brahman ya que el 90% de la carne producida en el país tiene su influencia.

Con el presente estudio se espera conocer algunas características de los procesos biológicos que debe sufrir el espermatozoide previos a la fertilización: la compactación de la cromatina, la hiperactivación, la capacitación, la reacción acrosómica (RA) y además, evaluar cómo estos factores pueden afectar la capacidad de producir embriones in vitro para una optimización del recurso animal. Se trata de establecer la mínima concentración espermática y de heparina con las que se puedan obtener las mejores tasas de fertilización, se determinará la proporción de espermatozoides que tienen la cromatina normal o anormal, que se capacitan, que tienen las membranas intactas y

que están viables ; se intentará hacer una correlación con los resultados obtenidos en fertilización, división embrionaria y proporción de blastocistos.

Para ello se tomará semen congelado de 10 toros BON y 10 toros brahman, después de descongelar las pajillas de los toros se proceder a evaluar diferentes concentraciones, teniendo como base un control preestablecido dentro del laboratorio, posteriormente se utilizarán diferentes concentraciones de heparina y finalmente se realizarán las técnicas de evaluación funcional del desarrollo embrionario.

- Evaluar la tasa de espermatozoides que sufren reacción acrosómica durante el proceso de FIV.
- Determinar la proporción de espermatozoides que tienen la cromatina sin alteraciones.
- Determinar la proporción de espermatozoides que se capacitan durante el proceso de FIV Encontrar la concentración espermática óptima de semen BON y Brahman, con la que se obtienen las mejores tasas de fertilización y desarrollo embrionario.
- Hallar la concentración de heparina con la que se logran las mas altas tasas de capacitación y fertilización espermática del semen BON y Brahman.
- Comparar el comportamiento de los espermatozoides BON y Brahman en presencia de penicillamine hypotaurine ephinephrine (PHE) en las tasas de fertilización y desarrollo de embriones.

Materiales y métodos

Los oocitos para los embriones serán obtenidos de ovarios recolectados en el matadero, se aspirarán con jeringa los folículos entre 4 y 10 mm de diámetro. Los oocitos serán clasificados en 3 categorías de acuerdo a lo reportado por Sirard y madurados por 24 horas. Los oocitos de categorías I y II serán fertilizados con semen de BON o Brahman. El semen será capacitado con heparina a una concentración de 20u1;/ml en el medio de fertilización. La evaluación de la fertilización se realizará a las 18 horas mediante el uso de la coloración de Hoesch para determinar la presencia de pronúcleos, con la ayuda de un microscopio de fluorescencia a 420 nm. los oocitos fertilizados se transferirán a medio de crecimiento y se evaluara su desarrollo a las 96 y a las 184 horas. Todos los procedimientos se realizarán en condiciones de esterilidad v el cultivo se realizara en atmósfera de 5% de CO₂ en aire, a 39°C.

Fase I:

Se evaluará el efecto de la concentración espermática sobre las tasas de fertilización de oocitos madurados in vitro.

Fase II:

Evaluará el efecto de la concentración de heparina sobre la tasa de fertilización de oocitos madurados in vitro, (*se utilizará la mejor concentración de espermatozoides obtenidas en la fase I).

Fase III:

Se evaluará el efecto de la adición de PHE (con y sin PHE), sobre las tasa de fertilización y desarrollo.

Fase IV:

Se harán estudios funcionales del espermatozoide bovino. Viabilidad, kit comercial diseñado para tal fin (Sperm viability kit Molecular Probes Inc.); integridad de las membranas se utilizará la técnica de Jeyendran y col (4); capacitación, se realizará mediante la técnica de la clortetraciclina (5); reacción acrosómica, se realizará mediante la técnica de coloración con la lectina Pisum sativum (6); y la calidad de la cromatina espermática, se realizará mediante la técnica de Tejada y col (7).

Finalmente, se realizarán los análisis estadísticos pertinentes tendientes al planteamiento de hipótesis frente a la respuesta de los embriones; en los diferentes tratamientos propuestos y frente a los aspectos biológicos encontrados. Se usará prueba de t de Student y un análisis de varianza.

Resultados esperados

Al final del estudio se espera conocer más de la biología de los espermatozoides de las razas planteadas, determinar La concentración espermática y la concentración de heparina que permitan obtener el mayor numero de blastocistos posible tanto de ganado BON como de Brahman, conocer el efecto de la 1'HE en la fertilización y desarrollo embrionario. Establecer el potencial fértil de una pajilla, al conocer no solamente sus parámetros descriptivos (concentración , movilidad) sino funcionales (viabilidad, integridad de las membranas, reacción acrosómica, capacitación).

Referencias

- 1.- Foote RH, Perks J: Factora affecting preservation end fertility of bull sperm : A brief review. *Reprod Fertil Develop* 1993; 5: 665 - 673.
- 2.- Htiller DJ, Hunter A. Individual variation for in vitro Fertilization Success in Dairy Bulls. *J Deiry Sci.* 1987; 70: 2150 - 2153.

- 3.- Sirerd MA, Lambert RD, Menard DP, end Bedoya M. Pregnancy after in vitro cow follicular oocytes, their incubation in the rabbit oviduct end their transfer to the cow uterus, J Reprod Fert 1985; 75: 551 - 556.
- 4.- Cross NL, Morales P Overstreet jW, Hanson F W Two simple methods for 'detecting ecrosome reacted sperm. Gamete Res 1986; 15: 213 B 226:
- 5.- Amin A, Bailey JL, Storey B?. A comperieon of three methods for detecting ecrosome reaction in humen spermato:oa: Hum Reprod 1996; 11: 741 B 745.
- 6.- Jeyendran RS, Van der Ven, Perez-Pelaez B., Crabo B, Zeneveld j. Development of an assey to as,es the functional integrity of the human sperm membrane and its relationship to other semen characteristics. J Reptod Fert 1984; 70: 219.
- 7.- Tejade RI, Mitchell jC, Norman A, Marik J, Friedman S. A test for the practieal evaluation ot male fertility by acridine orange (/10J fluorescence. Fertil Steril 1984; 42: 87 - 91.

Determinación de la edad y peso al inicio de la pubertad en machos de la raza criolla colombiana blanco orejinegro, BON*

*Sandra L. Córdoba¹, Juan G. Maldonado¹, Luis E. Trujillo²,
J.A. Tobón³, Jorge A. Neira^{3*}.*

¹Grupo de Teriogenología, Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia y Programa de Biogénesis. Universidad de Antioquia; ²Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín, ³Centro de Investigaciones El Nus, Corpoica.

Resumen

El objetivo del presente estudio fue caracterizar el inicio de la pubertad en machos de la raza BON. Machos de la raza BON ($n = 26$) del Centro de Investigaciones El Nus-Corpoica, fueron evaluados cada 15 días desde los 8.4 ± 0.05 hasta los 19.4 ± 0.05 meses, entre octubre de 1997 y octubre de 1998, se controló el peso corporal, circunferencia escrotal, diámetro y longitud testicular y reflejo al masaje rectal: además se tomaron muestras de sangre para cuantificar testosterona. A partir de los 12 meses se tomaron muestras de semen con electroeyaculador a grupos de seis machos. Los datos morfométricos ($n = 26$) se agruparon en categorías por diferencia de edades de un mes, desde 8.4 ± 0.04 hasta 19.4 ± 0.05 meses y se evaluaron por Análisis de varianza multifactorial; se hicieron pruebas de regresión simple entre la edad y los diferentes parámetros seminales y morfométricos. La edad se correlacionó ($p < 0.01$) con el peso ($r^2 = 0.84$), la circunferencia escrotal ($r^2 = 0.90$), el diámetro ($r^2 = 0.88$), la longitud testicular ($r = 0.85$), la concentración de testosterona ($r^2 = 0.45$) y la

* Resumen publicado originalmente en: Rev Col de Cienc Pec. Vol. 12: suplemento, pág. 98 / 1999.

concentración espermática ($r^2 = 0.49$). Los valores obtenidos para cada parámetro se incrementaron progresivamente ($p < 0.01$) entre los 13 y 14 meses de edad. Todos los machos mostraron buena prueba de libido: la concentración espermática aumentó significativamente a partir de los 16 meses, en tanto que el volumen del eyaculado obtenido desde los 15.4 ± 0.05 meses osciló entre 1.5 y 2 ml. La movilidad en masa e individual fue baja.- (60-80%). Los resultados sugieren que la edad a la pubertad se encuentra entre 14 y 16 meses, con un peso entre 206 ± 3 Kg a 234 ± 3 Kg.

Aspectos moleculares de la microbiota anaerobia celulolítica fúngica y bacteriana del rumen de la raza criolla colombiana Blanco Orejinegro (BON)

*Edna Márquez, Biol., MS; Juan Segura, Zoot.; José Menco, Zoot;
Edgar Múnera, Qco, MS; Olga Montoya, Biol., MS;
Orlando Ruiz, Qco; MS; Luis Giraldo, Zoot, MS*

Grupo de Biotecnología Ruminal (BIORUM), Línea de Microbiología Ruminal.
Grupo de Biotecnología Microbiana, Líneas de Caracterización Bioquímica y
Molecular de Cepas Nativas, Facultad de Ciencias y Ciencias Agropecuarias,
Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín.

Resumen

Con el ánimo de contribuir al conocimiento de la microbiota ruminal del trópico, en especial la de ganados en peligro de extinción, los grupos de Biotecnología Ruminal y Biotecnología Microbiana de la Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín, han adelantado estudios en la raza criolla Blanco Orejinegro BON, que se enmarcan en los siguientes frentes:

- Identificación molecular de bacterias y hongos anaerobios celulolíticos del rumen mediante amplificación in vitro secuencias de ADN ribosomal.
- Evaluación de la capacidad celulolítica de las cepas nativas en diferentes sustratos.
- Caracterización molecular de los complejos celulolíticos.

* Resumen original.

Esta serie de trabajos han permitido el desarrollo de técnicas y métodos de aislamiento y purificación de microorganismos anaerobios, el diseño y evaluación de cebadores para la identificación molecular de especies celulolíticas bacterianas y fúngicas importantes y la implementación de técnicas que permiten evaluar la habilidad de estos microorganismos para crecer *in vitro* en diferentes sustratos sintéticos y naturales tales como residuos de cosecha y forrajes tropicales. Adicionalmente, se está caracterizando desde el punto de vista molecular los complejos celulolíticos presentes en algunas especies de hongos ruminales.

Los resultados de estos estudios servirán como base para explorar la utilidad potencial de estos microorganismos o sus enzimas, en la producción animal, como también en la industria biotecnológica, farmacéutica, textilera, papelera, maderera, alimentaria, detergente, etc. y puede contribuir a la solución de problemas ambientales relacionados con el aprovechamiento de desechos y subproductos agroindustriales.

Palabras Claves: *Ganado Blanco Orejinegro BON, Microorganismos ruminales celulolíticos, Identificación molecular, Cepas nativas.*