

Perspectivas en reproducción y producción animal

Efecto de coomoduladores del AMP cíclico sobre la maduración *in vitro* de oocitos bovinos

VÁSQUEZ N.A., AGUDELO B. PROGRAMA DE REPRODUCCIÓN. FACULTAD DE MEDICINA.
UNIVERSIDAD DE ANTIOQUIA. y MALDONADO J.G. PROGRAMA DE REPRODUCCIÓN, FACULTAD DE MEDICINA, UNIVERSIDAD
DE ANTIOQUIA. FACULTAD DE VETERINARIA, UNIVERSIDAD DE ANTIOQUIA

Introducción

La contribución al conocimiento de los procesos vinculados con la dinámica folicular y la ovulación, permite mejorar la respuesta de la inducción de la ovulación y la tasa de fertilidad en reproducción humana y animal.

El oocito se conserva suspendido en el ovario en un estadio meiótico, hasta el momento de la selección, para la ovulación. Los factores que regulan este proceso han sido estudiados intensamente y se ha

detectado que algunos compuestos, como el fosfato monocíclico de adenosina (AMPc), participan en el freno meiótico.

La línea de Investigación en Ovulación, aplicada tanto al humano como a las especies animales, busca implementar alternativas adecuadas al medio que alcancen respuestas óptimas comparables con otras metodologías. La utilización de compuestos farmacológicos (coomodulares del AMPc) en la dinámica folicular y en la ovulación, ha atraído el

interés del grupo investigador y, por tanto, se pretende evaluar su efecto en la maduración del oocito de bovino *in vitro*.

Hipótesis

El efecto del AMPc inducido por coomoduladores (fenoterol, teofilina y nitrendipina), es deletéreo en la maduración *in vitro* de los oocitos de bovino.

Objetivos

- φ Evaluar la maduración *in vitro* de oocitos de bovino en presencia de coomoduladores del AMPc (b-miméticos, inhibidores de la fosfodiesterasa y bloqueadores de canales del calcio), a diferentes concentraciones mediante la observación del segundo cuerpo polar después de la fecundación.
- φ Comparar el efecto entre la hormona gonadotrópica LH y los coomoduladores del AMPc en la maduración *in vitro* de oocitos de bovino.

Metodología

- φ Recuperación y selección de complejos oocito-cúmulo (COC) obtenidos por aspiración de unidades foliculares de 4 a 6 mm de ovarios de bovino.
- φ Cultivos de las unidades COC (n:20) en Ham F-10 por 24 horas para permitir la maduración. Conformación de los grupos de estudio y su control de acuerdo al factor agregado. Cultivo en incubadora a 39°C, pCO₂ 5%.
- φ Fecundación con semen bovino capacitado y seleccionado por la técnica de jumping.
- φ Determinación de la maduración del oocito por medio de la evaluación del segundo cuerpo polar, por fijación y tinción.

Grupos de estudio

- A Oocitos expuestos a fenoterol (0.01, 0.1, 1 y 10 mM); control positivo expuesto a 50 µg/ml de hCG (efecto LH); control negativo sin adición.
- B Oocitos expuestos a teofilina (0.01, 0.1, y 10 mM); control positivo expuesto a 50 µg/ml de hCG (efecto LH); control negativo sin adición.
- C Oocitos expuestos a nitrendipina (0.01, 0.1, 1 y 10 mM); control positivo expuesto a 50 µg/ml de hCG (efecto LH); control negativo sin adición.

Mediciones. Durante el cultivo se tomarán 50 µL del medio de cultivo, a las 6, 12, 18 y 24 horas. Se almacenarán a -70°C para cuantificación unificada posterior por RIA. Se evaluarán AMPc, estradiol y progesterona.

Análisis estadístico

Los resultados serán expresados como promedio ±DS, las diferencias estadísticas entre los grupos serán calculadas por la prueba t-Student en las figuras sobre los datos logarítmicos con el fin de obtener varianzas homogéneas.

Bibliografía

- Fitzpatrick SL, Richard J.S. Molecular Endocrinology. 1994; 8: 1309-1319.
- Hawk HW, Wall RJ. Theriogenology. 1994; 41:1571-1583.
- Holmes PV, et al. Endocrinology. 1986; 18:2195-2202.
- Sanbuissho A, et al. Theriogenology. 1992; 38:153-163.
- Sirad MA. Theriogenology. 1990; 33:757-767.
- Tsafiri A, Dekel N. Molecular Biology of the Female Reproductive System. 1994; p. 207-258.

Estudio del potencial de fertilización *in vitro* y transferencia de embriones en mulares

LUIS EMILIO TRUJILLO A., MV. UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA, SECCIONAL MEDELLÍN. - MAGDA RIVERA R., ZTC PROGRAMA DE REPRODUCCIÓN. UNIVERSIDAD DE ANTIOQUIA - LORO LO-LAJA KUJDO, DMV. MS. PHD. PROGRAMA DE REPRODUCCIÓN. UNIVERSIDAD DE ANTIOQUIA. - JUAN GUILLERMO MALDONADO E., MV. MS FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y DE ZOOTECNIA. UNIVERSIDAD DE ANTIOQUIA - MARTHA OLIVERA A. MV. DR. SCI. AGR. PROGRAMA DE REPRODUCCIÓN, UNIVERSIDAD DE ANTIOQUIA - GONZALO VÁSQUEZ PALACIO. BIOL. PROGRAMA DE GENÉTICA Y REPRODUCCIÓN. UNIVERSIDAD DE ANTIOQUIA

Objetivo General

Desarrollar métodos de reproducción asistida que permitan habilitar el híbrido mular para la reproducción.

Objetivos específicos

- φ Describir por estudios histológicos la estructura ovárica mular y estudiar las características del complejo cumulus-oocito "*in vitro*". Fase I
- φ Caracterizar el crecimiento y desarrollo folicular durante el ciclo estral en la mula. Fase II
- φ Adaptar y validar las técnicas de fertilización *in vitro* y transferencia de embriones en mulares y aplicarlos a la reproducción mular. Fase III.
- φ Aplicar las técnicas anteriores para caracterizar factores inmunológicos durante la interacción materno-fetal en mulas y yeguas portadoras de embriones mulares. Fase IV.

Hipótesis

Las mulas tienen un potencial reproductivo que puede habilitarse por las técnicas de reproducción asistida.

Introducción

Los híbridos mulares están ligados al desarrollo económico del país desde la época de la conquista y desde entonces acompañan al campesino colombiano, especialmente al habitante de la región Andina, como el elemento básico para sus labores agrícolas y de transporte.

Las características de rusticidad, resistencia y fortaleza han puesto a las mulas en ventaja frente a las demás especies de équidos y, mas aún, frente a los medios motorizados consumidores de combustibles derivados del petróleo, como medio de transporte para las zonas de ladera.

Existe una vasta literatura acerca de la cría y utilidad de las mulas; sin embargo, la información sobre su reproducción es escasa llegando a considerar a estos animales con esterilidad absoluta. Últimamente se ha demostrado la habilidad de las mulas para portar embriones caballares o asnales a término después de la transferencia de embriones (Antczak et al, 1984) y esto ha hecho reconsiderar su esterilidad absoluta hacia una fertilidad relativa, susceptible de habilitarse por técnicas de reproducción asistida. El objetivo de esta investigación es desarrollar algunos métodos de reproducción asistida que permitan habilitar al híbrido mular para la reproducción.

Metodología

Fase I

Se utilizarán mulas procedentes de mataderos, a las cuales se les confirmará su genotipo híbrido por técnicas de cariotipo (Maciulis, 1984). Estas mulas donarán sus ovarios para la realización de los siguientes estudios:

- φ Descripción histológica del ovario mular en cortes fijados, incluidos en parafina y coloreados con hematoxilina-eosina (García del Moral, 1993).
- φ Evaluación de la maduración de los complejos cúmulus-oocitos (CCO) aspirados manualmente de los folículos ováricos y cultivados "*in vitro*" en un medio de maduración dispuesto en microgotas cubiertas con aceite mineral (Olivera, 1994).
- φ Cultivo "*in vitro*" de células de la granulosa y evaluación de su funcionalidad mediante la cuantificación de progesterona por RIA.

Fase II

Sincronización de diez mulas con allyl trenbolone (Davies et al, 1984) para determinar el crecimiento y desarrollo folicular durante el ciclo estral por monitoreo ecográfico y palpación rectal.

Fase III

Adaptación y validación de las técnicas de fertilización "in vitro" y transferencia de embriones en mulas.

- φ Los oocitos de mulas madurados durante 24 horas en un medio específico serán inseminados "in vitro" con semen caballar para obtener embriones caballar-mular (grupo 1) o con semen asnal para obtener embriones asnal-mular (grupo 2), y cultivados en un medio de desarrollo hasta la formación del blastocisto joven (72 a 96 horas). Oocitos de yegua serán igualmente manipulados y fertilizados "in vitro" con semen caballar, para obtener embriones caballar-caballar (grupo 3) ó con semen asnal para obtener embriones asnal-caballar (grupo 4). Los grupos 3 y 4 servirán como controles.
- φ Los embriones obtenidos en los grupos 1, 2, 3 y 4, del estudio anterior, serán transferidos a mulas sincronizadas y a yeguas control.

Fase IV**Estudio 1**

- φ Aplicación de la técnica de transferencia de embriones para caracterizar reacciones inmunológicas en mulas y yeguas portadoras de

embriones de los grupos anteriores.

- φ Desarrollo y validación de un modelo de placentación "in vitro" con células del epitelio endometrial.
- φ Se recolectarán úteros de mulas y yeguas de los cuales se separarán las células epiteliales que se cultivarán "in vitro" con macrófagos activados y serán receptoras de embriones obtenidos como en el estudio 1 de la fase III para caracterizar reacciones inmunológicas mediante la determinación de citoquinas, factores de crecimiento y gonadotropina coriónica equina.

Estudio 2

- φ Desarrollo y validación de un modelo de placentación "in vitro" con células de estroma uterino; igual procedimiento que en el estudio 1, pero con tejido estromal.

Bibliografía

- Antczak, et al. Immunological aspects of pregnancy in mules. P. 63-67. In: Allen, W.R. and Antczak, D.F. Equine Embryo Transfer. Proceedings of the First International Symposium on Equine Embryo Transfer. New York. Cornell University. 1984. 114 p.
- Davies, C.J. et al. Reproduction in mules: Embryo Transfer using sterile recipients. P. 68-72. In: Antczak, D.F. Equine Embryo Transfer. Proceedings of the First International Symposium on Equine Embryo Transfer. New York. Cornell University. 1984. 114 p.
- Olivera, M. De la fertilización "in vitro" al transplante de los embriones. Manual de Laboratorio. Medellín. Universidad de Antioquia, Facultad de Medicina. Programa de Reproducción. 1994. 40 p.

La inducción de la *dinámica folicular* y la formación del cuerpo lúteo en vacas en amamantamiento permanente

M. OLIVERA ÁNGEL. MV. DR.SCI. AGR. PROGRAMA DE REPRODUCCIÓN, FACULTAD DE MEDICINA, U. DE ANTIOQUIA
L.E. TRUJILLO. MV. ESP. DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN, FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS U. NACIONAL

Introducción

Es muy poco lo que se sabe sobre la fisiología del cuerpo lúteo y el comienzo de la dinámica folicular en vacas *Bos indicus* en amamantamiento. Los cambios endocrinos y ováricos que preceden a la primera ovulación posparto, no han sido descritos completamente.

La ultrasonografía ha sido utilizada para caracterizar el ciclo estral y la preñez. Las

características de las primeras ondas foliculares, y el reflejo de la maduración del folículo ovulatorio sobre el cuerpo lúteo (C.1) no se conocen aún.

Algunos autores han reportado que la primera ovulación posparto usualmente está asociada al desarrollo de un C.1 de corta vida por temprana liberación de prostaglandina F2 alfa, otros reportan bajos niveles séricos de progesterona, y otros más proponen una luteinización del folículo ovulatorio.

Los objetivos del trabajo son caracterizar el patrón de crecimiento y atresia folicular que conducen finalmente a la primera ovulación posparto y determinar la duración y funcionalidad del cuerpo lúteo que se forma subsecuentemente.

Hipótesis

- 1 El desarrollo folicular que conduce al primer calor posparto es atípico con relación al desarrollo folicular de vacas ciclantes.
- 2 La fisiología cuerpo lúteo formado a partir de la inducción del calor en vacas en anestro es diferente a la de las no inducidas.

Materiales y Métodos

Dinámica folicular

Un grupo de 6 vacas amamantando y 6 vacas sin ternero se someterán a control ovárico ecográfico a mañana y tarde; para la determinación hormonal (E2, P4, PGF2) se tomará sangre de la vena coccígea semanalmente desde el momento en que se determine ecográficamente el primer crecimiento de folículos antrales >2mm, y 3 veces por semana una vez se establezcan patrones de crecimiento mayores de 5mm.

Cuerpo Lúteo

60 vacas cebú en anestro, amamantando terneros entre 4 y 6 meses de edad y en condición corporal de 2.5 - 3.0 (escala 1-5). En lotes de 15 animales se inducirán con norgestomet y otro lote servirá como controles. El implante se retirará a los 9 días y las vacas se inseminarán a presentación de calor.

Para la determinación hormonal se tomará sangre

de la vena coccígea los días 5 y 7 antes de retirar el implante, el día de la inseminación y tres veces por semana durante los siguientes 20 días. La determinación de preñez se realizará a los 40 días por palpación rectal y ecografía. Las concentraciones de progesterona, estrógenos y prostaglandinas serán medidas por RIA.

Los hallazgos ecográficos serán grabados en vídeo y se harán mediciones para determinar el comportamiento de los folículos y del cuerpo lúteo.

Las concentraciones de progesterona y estrógenos serán analizadas por el método split-plot y las tasas de preñez serán comparadas por medio del χ^2 .

Impacto científico y tecnológico

El conocimiento de la endocrinología y funcionamiento del ovario en la recuperación del anestro lactacional, conlleva a un avance científico importante, particularmente para resolver preguntas que atañen específicamente a problemas de la ganadería tropical.

Bibliografía

- Holness, D.H., Hale, D.H. & Hopley, J.D.H. 1990. Suckling as regulator of postpartum rebreeding in cattle. *J. Anim. Sci.*, 68, 831-852.
- Garverick, H.A., Moser, M.T., Keisler, D.H., Hamilton, S.A., Roberts, R.M. & Smith, M.F. 1992. Luteal function after intrauterine infusion of recombinant bovine interferon- α into postpartum beef cows expected to have short or normal luteal phases. *J. Reprod. Fert.* 94, 319-325.
- Lishman, A.W., Inskeep, E.K. 1991. Deficiencies in luteal function during reinitiation of cyclic breeding activity in beef cows and in ewes. *S. Afr. J. Anim. Sci.* 21, 59-76.
- Olivera-Angel, M. & Martínez, G. 1990. Evaluation of an im-plant to synchronize oestrus and or resolve suckling anoestrus in Brahman cows. In: *Livestock Reproduction in Latin America*, IAEA, Vienna, 221-225.
- Short, R.E., Bellow, E.A., Staigmiller, R.B., Berardinelli, J.G. & Custer, E.E. 1990. Physiological mechanisms controlling anoestrus and infertility in postpartum beef cattle. *J. Anim. Sci.* 68, 799.

Evaluación de sostenibilidad y productividad de una pradera arbolada

INVESTIGADOR: DOCTOR MANUEL H. TRIVIÑO S.

Introducción

La producción de forraje durante los últimos 45 años se ha realizado utilizando variedades mejoradas de gramíneas establecidos como monocultivo, las cuales requieren prácticas culturales costosas y la utilización de insumos exógenos (agroquímicos) que aumentan los costos de producción. Además se ha observado que a pesar de la utilización de estos insumos la producción de forraje disminuye en el tiempo debido a los altos grados de deforestación y

degradación de los suelos.

Se plantea establecer un sistema sostenible de producción, donde se incorpore a la pradera una variedad arbórea leguminosa forrajera, a partir de la cual se mejoren las condiciones medio ambientales del potrero permitiendo la recuperación de una serie de variedades con potencial forrajero (sucesión vegetal), se modifique la composición físicoquímica y biológica del suelo y paralelamente se incremente la productividad dependiendo menos de insumos

exógenos.

Se observará la sucesión vegetal que se desarrolle, los cambios físicoquímicos y biológicos del suelo, las modificaciones morfológicas de la pastura, el comportamiento animal y las ganancias de peso de éstos. Lo anterior se comparará con novillos en ceba, pastoreados en una pradera de en monocultivo. El pastoreo se realizará en forma rotacional racional en períodos de 18 meses.

Objetivos

General. Evaluar la sostenibilidad de una pradera arbolada con leguminosas y su productividad en forraje y carne comparativamente con una pradera tradicional (monocultivo) no arbolada.

Específicos

- ϕ Evaluar comparativamente los efectos de la introducción de una pradera arbolada con leguminosas sobre los siguientes indicadores:
- ϕ Suelo -composición físicoquímica y biológica-, pradera -variación de la composición botánica- y forraje -volumen de producción y composición bromatológica.
- ϕ Determinar la ganancia de peso vivo y la producción de carne por hectárea, así como los costos de producción.
- ϕ Estudiar la conducta animal respecto al comportamiento alimentario y el análisis circadiano del accionar del rebaño en las praderas.

Impacto científico y tecnológico

- ϕ Determinar un sistema de producción de forraje que cualitativa y cuantitativamente sea superior

a los actuales.

- ϕ Conservar o recuperar las condiciones físicas, químicas y biológicas del suelo y restablecer, al menos parcialmente, el ecosistema, lo que garantizará la permanencia en el tiempo de este sistema de producción.
- ϕ Aprovechar las bondades de los recursos locales, árboles y arbustos, ahora ignorados o desconocidos, y evaluar su aporte económico al sistema productivo.
- ϕ Este sistema deberá aumentar, o al menos sostener la productividad de la tierra, sin causar la degradación que ocasionan los sistemas tradicionales.
- ϕ Recuperar la composición botánica y biodiversidad de la pradera.
- ϕ Conocer las posibles variaciones morfológicas de pastos y árboles debidas a su interacción.
- ϕ Conocer la conducta alimentaria y social de los bovinos en ceba.

Impacto Social

- ϕ Disminuir los costos de producción de forraje al minimizar o eliminar el uso de fertilizantes químicos reemplazándolos por fertilización biológica y orgánica y el reciclaje de biomasa.
- ϕ Mejorar la rentabilidad de la explotación al incorporar al proceso productivo otros factores de ingreso (madera, frutas, etc.), según la variedad de árboles.