



## Biotecnología animal

**Revista**  
Colombiana de  
Ciencias  
Pecuarias

### Aplicación de la espectrofotometría ultravioleta-visible para la determinación de 5-(hidroximetil)-2-furaldehído (HMF) en leches comerciales

#### *Application of the UV spectrometry for 5-(hydroxymethyl)-2-furaldehyde (HMF) determination in commercial milks*

Maite del P Rada Mendoza<sup>1</sup>, Sandra P Rojas Fernández,  
Héctor Samuel Villada<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Química, Grupo de investigación BICAMSA, Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y de la Educación; y <sup>2</sup>Departamento de Ingeniería Agroindustrial. Grupo de investigación ASUBAGROIN, Facultad de Ciencias Agropecuarias. Calle 5 No. 4-70. Sector Tulcán. Popayán, Colombia.  
mrada@unicauca.edu.co

La leche contiene elementos necesarios para el organismo y componentes únicos que la hacen imprescindible para una correcta nutrición, tales como agua, proteínas, carbohidratos, lípidos, vitaminas y minerales, en una proporción que varía según la raza, alimentación, época de lactancia ó del año, entre otros. Dada su composición, además de ser un alimento excelente para el hombre, es un caldo de cultivo ideal para los microorganismos; por ello, es necesario asegurar que la leche para consumo humano, sea un producto sano de óptima calidad, realizando procesos adecuados (ejemplo, los tratamientos térmicos) que destruyan los microorganismos patógenos y prolonguen la vida útil del producto; como desventaja, estos procedimientos pueden causar modificaciones en los componentes de la leche y a su vez, estos mismos pueden sufrir alteraciones como consecuencia del calentamiento, tales como la reacción de Maillard, descomposición con formación de ácidos orgánicos, etc., que disminuyen el valor nutritivo de la leche. Uno de los productos intermedios de la reacción de Maillard, es el HMF, producto de la degradación térmica de las hexosas y un reconocido indicador del deterioro térmico, que conduce a la formación de pigmentos oscuros (melanoidinas) y que ha sido determinado en gran variedad de alimentos sometidos a procesos de calentamiento ó almacenamiento inapropiado y prolongado, entre los que se encuentran la leche y productos lácteos, que son muy susceptibles al pardeamiento no enzimático durante los tratamientos térmicos a los que se someten, por su alto contenido en lactosa y lisina. Para

este estudio, se adquirieron 21 tipos de leches UHT con diferentes contenidos de grasa y enriquecidas con vitaminas, minerales, fibra y deslactosadas, a las cuales se les evaluaron parámetros fisicoquímicos (grasa, densidad, acidez, proteína, extracto seco total, extracto seco desengrasado, pH y cenizas) y microbiológicos (reductasa y fosfatasa); los valores obtenidos estuvieron de acuerdo con lo reportado por el Ministerio de Salud y por tanto, la leche es apta para el consumo humano. Los datos de acidez, pH y proteína, no mostraron diferencias significativas ( $p < 0.01$ ). En estas leches se cuantificó además el HMF por espectrofotometría UV-Vis a una longitud de onda de 285 nm, utilizando curva de calibración y cada análisis se realizó por triplicado; los contenidos de HMF estuvieron comprendidos entre 4.3 y 27.8 mg/ml y no mostraron influencia por la composición en grasa ni en vitaminas. Las leches deslactosadas, mostraron los más bajos niveles de HMF, y las enriquecidas con minerales las mayores. En general, la variación encontrada en los valores de HMF, puede deberse a las diferencias en el tratamiento térmico al que se sometieron las leches y a su posterior período y condiciones de almacenamiento. Se determinaron además los parámetros de linealidad ( $r = 0.9965$ ), precisión (inferior a 5.10%), límite de detección (0.011 mg/ml), de cuantificación (0.036 mg/ml) y porcentajes de recuperación (alrededor del 91%).

**Palabras clave:** control de calidad, hidroximetilfurfural, leches enriquecidas, parámetros fisicoquímicos, parámetros microbiológicos

**Key words:** enriched milks, hydroxymethylfurfural, microbiological parameters, physicochemical parameters, quality control

### Caracterización molecular en tipos de gallina criolla Colombiana

#### *Molecular characterization of Colombian creole hen*

Jaime E Muñoz<sup>2</sup>, Nestor F Valencia<sup>2</sup>, Andrés M Posso<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>División de investigaciones DIPAL Universidad Nacional de Colombia.  
<sup>2</sup>Universidad Nacional de Colombia.  
jemunozf@palmira.unal.edu.co, nfvalencial@palmira.unal.edu.co, amposso@palmira.unal.edu.co

En Colombia la gallina criolla es una especie socialmente importante por su aporte nutricional (huevos o carne) en pequeñas

explotaciones campesinas que se encuentran muy alejadas de centros urbanos, además, su fácil reproducción, adaptabilidad y rusticidad son características de importancia. De la colección de gallinas criollas de la Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira se extrajo ADN de 41 animales pertenecientes a los tipos: carioco normal (CN), copetón (CO), santandereano (SN), carioco rizado (CR), tufus (TF), tapuncha (TP), zamarrón (ZM), finos (FI) carioco sedoso (CS) y cubano (CU). La caracterización molecular se realizó usando 5 cebadores RAMs: CT, GT, CGA, CA y CCA. Se encontró una diversidad intermedia, con heterocigosidad esperada de 0.32, con una similitud (Dice – Nei Li) del 83%; los CU, FI y SN forman grupos independientes, lo cual puede deberse a que hay selección para estos tipos específicos.

**Palabras clave:** ADN, polimorfismo, RAMs

**Key words:** DNA, polymorphism, RAMs

### Diferenciación de las razas de cerdos zungo, san pedreño y casco de mula con la técnica RAMs (random amplified microsatellites)

#### *Differentiation of zungo, san pedreño and casco de mula pigs by RAMs (random amplified microsatellites) technique*

Aura Oslinger<sup>1</sup>, Luz Angela Alvarez<sup>2</sup>, Fernando Ariza<sup>1</sup>, Fernando Moreno<sup>3</sup>,  
Andrés Posso<sup>2</sup>, Jaime Eduardo Muñoz<sup>2</sup>

Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Colombia AA 237,  
Palmira, Colombia.

Universidad Nacional de Colombia.

CORPOICA.

guoslinger@hotmail.com, laalvarezf@palmira.unal.edu.co,

amposso@palmira.unal.edu.co, jemunozf@palmira.unal.edu.co,

edu.co, farizab@unal.edu.co, ferleomor@yahoo.es

Las razas de cerdos criollos Colombianos poseen acervos genéticos particulares que han sido mantenidos en pequeñas explotaciones por comunidades campesinas y por Corpoica. Mediante la técnica molecular RAMs (Random Amplified Microsatellites) se determinó la diversidad y las relaciones genéticas en 35 cerdos criollos Colombianos Zungos, San Pedreño, cerdos comerciales con rasgo Casco de Mula y en una muestra de animales de tipo comercial. Se encontraron 46 loci polimórficos; los valores de heterocigosidad por marcador RAMs fluctuaron entre 0.22 para CCA y 0.19 tanto para CT como para CGA, con 93.20% de loci polimórficos para CCA, 82.3% para CT y 68.75% para CGA. La heterocigosidad fue de 0.2016 y el FST de  $0.3058 \pm 0.0433$ . El árbol de distancias de Nei definió bien las razas Zungo y San Pedreño, las cuales se alejaron del resto de los individuos. Los cerdos Casco de Mula y Zungo (CLEM) se agruparon con los comerciales, indicando la presencia de introgressión.

**Palabras clave:** ADN, diversidad genética, porcinos criollos

**Key words:** DNA, genetic diversity, swine creole

### Detección de las variantes alélicas de la kappa caseína en cabras criollas colombianas

#### *Detection of allelic variants of kappa casein in Colombian creole goat*

Juliana A Cuetia<sup>2</sup>, Alexandra M Tabares<sup>2</sup>, Andrés M Posso<sup>2</sup>, Luz A Álvarez<sup>2</sup>,  
Moris Bustamante<sup>3</sup>, Jaime E Muñoz<sup>2</sup>

<sup>1</sup>División de investigaciones DIPAL Universidad Nacional de Colombia.

<sup>2</sup>Universidad Nacional de Colombia.

<sup>3</sup>Universidad de Córdoba.

jacuetial@palmira.unal.edu.co, amtabares@palmira.unal.edu.co,

amposso@palmira.unal.edu.co, laalvarezf@palmira.unal.edu.co,

jemunozf@palmira.unal.edu.co, mbustamante@sinu.unicordoba.edu.co

La cabra criolla es considerada en Colombia como una raza adaptada a ambientes difíciles. Las caseínas representan el 80% del contenido proteico de la leche, dentro de estas la kappa caseína representa el 13% y juega un papel importante en la industrialización de la leche. Se han identificado 6 variantes alélicas, la variante B es la más estudiada dada su relación con altos contenidos proteicos, mayor estabilidad al calor y mayor rendimiento quesero. En esta investigación se evaluaron 95 cabras en los departamentos del Valle del Cauca y Córdoba. Se estandarizó el método de extracción de "salting out" con la obtención de 50 a 150 ng/μL de ADN; se amplificó mediante PCR un fragmento de 406 pb que corresponde al exon 4 del gen de la k-caseína y actualmente se utiliza la técnica PCR-SSCP (Single strand conformation polymorphism) para la genotipificación de los animales y diferenciar los alelos A y B.

**Palabras clave:** ADN, PCR-SSCP, polimorfismo

**Key words:** DNA, PCR-SSCP, polymorphism

### Detección de las variantes alélicas de la Kappa caseína en ganado Normando utilizando la técnica PCR-SSCP

#### *Detection of allelic variants of Kappa casein in normando cattle using PCR-SSCP*

Jaime E Campo<sup>2</sup>, Luz Á Álvarez<sup>2</sup>, Andrés Posso<sup>2</sup>, Jaime E. Muñoz<sup>2</sup>

<sup>1</sup>División de investigaciones DIPAL Universidad Nacional de Colombia.

<sup>2</sup>Universidad Nacional de Colombia

jecampo@palmira.unal.edu.co, laalvarezf@palmira.unal.edu.co, amposso@palmira.unal.edu.co,

jemunozf@palmira.unal.edu.co

La raza Normando originaria del Norte de Francia es de doble utilidad y se encuentra en varios departamentos de Colombia, especialmente en zonas montañosas. Actualmente el número de individuos presente en Colombia es mayor que en Francia. La Kappa caseína es la proteína más importante de la leche, las dos variantes alélicas son la A, por su alta frecuencia, y la B que le confiere a la leche contenido proteico más alto, mayor estabilidad

al calor, la congelación y aptitud quesera. El objetivo del trabajo fue estimar las frecuencias de los alelos A y B de la K-caseína y genotipificar los animales con la técnica PCR-RFLP y PCR-SSCP. De sangre de 11 machos y 92 hembras se extrajo ADN utilizando el método de *Salting Out*, se utilizó la PCR para amplificar una región del gen de la K-caseína de 453 pb, el cual fue digerido con la enzima Hinf I que diferencia los alelos A y B. Mediante SSCP (Single Strand Conformation Polymorphism) se genotipificaron los animales. Se hallaron 11 AA, 47 AB y 45 BB, con una frecuencia del alelo B de 0,66. La población se encontró en equilibrio Hardy Weinberg. Se sugiere la técnica PCR-SSCP para la detección de las variantes alélicas debido a que no utiliza enzimas de restricción.

**Palabras clave:** ADN, bovinos, Polimorfismo

**Key words:** cattle, DNA, polymorphism

### Diferenciación de las especies *Anas platyrhynchos* y *Cairina moschata* y caracterización molecular del pato criollo colombiano mediante la técnica RAMs

*Detection of Anas platyrhynchos and Cairina moschata species and molecular characterization of the colombian creole duck using RAMs*

Darwin Hernández<sup>2</sup>, Diana Muñoz<sup>2</sup>, Nestor Valencia<sup>2</sup>, Andrés Posso<sup>2</sup>,  
Jaime E. Muñoz<sup>2</sup>

<sup>1</sup>División de investigaciones DIPAL Universidad Nacional de Colombia

<sup>2</sup>Universidad Nacional de Colombia

dyhernandezh@palmira.unal.edu.co, dmunozh@palmira.unal.edu.co,  
nfvalencial@palmira.unal.edu.co, amposso@palmira.unal.edu.co, jemunozf@  
palmira.unal.edu.co

El pato Muscovy *Cairina moschata* es un anátida nativo del neotrópico que vive en estado silvestre en América Central y Sur América. La técnica microsatélites amplificadas al azar (RAMs) se ha utilizado para la identificación genotípica y caracterización de distancias genéticas entre razas. El objetivo fue diferenciar dos especies de patos y estimar la diversidad de patos criollos colombianos. Se evaluaron 53 individuos de patos Muscovy de los departamentos de Caldas, Risaralda, Antioquia y Valle del Cauca y como referencia cinco individuos de *Anas platyrhynchos* raza Pekín y dos cruces Pekín x Rouen razas de la misma especie con tres cebadores RAMs. Las muestras de ADN se extrajeron utilizando el protocolo de "Salting Out", se evaluaron 6 cebadores RAMs de los cuales se eligieron tres por su alto polimorfismo. Se generaron 71 bandas polimórficas, 61.2% de loci polimórfico y 0.19 de heterocigosidad. El cebador con mayor heterocigosidad fue CGA (0.23) y CA el de mayor loci polimórfico (76.1%). La técnica RAMs permitió diferenciar las especies *Anas* y *Cairina* a un índice de similitud 0.83. Con un índice de similitud del 0.894, los patos Muscovy formaron 5 grupos. El mejor cebador para diferenciar especies fue CCA (Fst = 0.274). La diferenciación genética en la muestra poblacional fue moderada (Fst = 0.2045). La cantidad de bandas obtenidas visualizadas en geles de secuenciación resultaron equivalentes a utilizar técnicas más costosas y que requiere más tiempo para su implementación.

**Palabras clave:** cebadores (CGA, CCA, CA), loci polimórfico, pato Muscovy

**Key words:** Microsatellite loci, Muscovy ducks, Primers (CGA, CCA CA)

### Clasificación morfológica de oocitos para la selección de células hacia futuras fertilizaciones in vitro en el departamento del Cesar (Colombia)

*Morphological classification of oocytes for cell selection as further in vitro fertilization in Cesar State (Colombia)*

Luis G Barragán, Est. Microbiol; Manuel Gil Est. Microbiol;  
Alvaro Araujo-Guerra, MVZ, MS.

Facultad Ciencia de la Salud. Programa de Microbiología. Universidad Popular del Cesar. Sincelejo, Colombia.  
Alvaroaraujo608@hotmail.com

La aplicación de los procedimientos de fertilización in vitro (FIV) en la reproducción bovina, se han incrementado en los últimos años y hoy en día son utilizados en programas a gran escala en la producción comercial de embriones in vitro. Dentro de éste concepto, la clasificación de oocitos proveniente de ovarios es un paso necesario para poder llegar a establecer estos programas de FIV. Embriones de valor comercial o de alto valor genético pueden ser obtenidos de animales recién sacrificados o de animales genéticamente valiosos. Para desarrollar este proceso, se hace necesario recuperar los oocitos de los ovarios en vacas sacrificadas y finalizar tres procesos biológicos como son: selección, maduración y fertilización de los oocitos y los cigotos resultantes completarlo hasta el estado de blastocisto en donde pueden ser congelados o transferidos a receptoras sincronizadas. En el Departamento del Cesar no se han realizados investigaciones de esta índole, que permitan conocer la clasificación y viabilidad de las células implicadas en el proceso de fecundación, siendo este el primer estudio que contempla estas características. El objetivo del estudio fue conocer la clasificación morfológica de oocitos provenientes de vacas sacrificadas para la selección de células idóneas, que serán aplicados a los procesos biotecnológicos hacia futuras fertilizaciones in vitro en el Departamento del Cesar, mediante el método de microscopía por aspiración folicular que estimulen el proceso de mejoramiento genético de los bovinos en esta región de Colombia. Las muestras para este estudio fueron obtenidas en la planta de sacrificio de bovinos de Coolesar de la ciudad de Valledupar. La obtención y clasificación de los oocitos se llevaron a cabo en las instalaciones del Laboratorio de Microbiología y Biología de la Universidad Popular del Cesar. Para el estudio se tomaron un número equivalente entre 20 y 24 ovarios/sem, obteniendo un ovario/vaca sacrificada, teniendo en cuenta que los ovarios carecieran de cuerpo lúteo y que los folículos tuvieran características macroscópicas aptas (diámetro adecuado, folículos completos en su última etapa de desarrollo). Las técnicas y protocolo fueron divididas en 4 fases las cuales contenían: 1) recolección de los ovarios provenientes de las vacas sacrificadas, 2) selección del folículo, 3) obtención de los oocitos, y 4) selección y clasificación de los oocitos. Para esto se evaluó el aspecto del citoplasma y de la morfología del cúmulo que le rodeaba. En los resultados se obtuvieron 7 folículos aspirados/ovario. Este resultado se asoció con una marcada variabilidad en el número de folículos aspirados por ovarios, debido probablemente a las diferentes procedencias y condiciones de los animales que llegan a sacrificios en el matadero. El número de recuperación de oocitos por el método de aspiración folicular fue de 7-10 células/campo/ensayo. Después de la selección y clasificación de los distintos tipos de oocitos, se obtuvo: tipo I: 5, de tipo II: 94, tipo III: 170, y tipo IV: 99. Los resultados sugieren que la mayor recuperación de oocitos aptos tipo I y II se observaron en los folículos con un

diámetro de 5-9 mm a diferencia de los folículos con diámetro de 2-5 mm donde la tasa de recuperación fue menor, corroborando así que el diámetro del folículo es un factor importante en el momento de la elección y clasificación de las células para fertilización in vitro.

**Palabras clave:** aspiración folicular, blastocitos, bovinos, embriones, ovarios

**Key words:** blastocyst, bovine, embryo, follicular aspiration, ovaries

### Comparación de dos diluyentes para el congelamiento de semen caprino de la raza santandereana

#### *Comparison between two diluters for freezing of caprine semen of the "santandereana" race*

Dubeibe M Diego<sup>1</sup>, Pinzón B Luis<sup>1</sup>, Salazar Pedro<sup>1</sup>, Serrano N Cesar<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Grupo de Investigación en Ciencias Animales, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Cooperativa de Colombia. Bucaramanga, Colombia.

mvzucc@yahoo.com

El creciente interés por la industria caprina a nivel nacional ha motivado la importación de ejemplares de diferentes razas con el ánimo de mejorar los índices productivos de los rebaños locales, sin embargo, este propósito ha provocado la implementación de estrategias de mejoramiento genético que ponen en riesgo la preservación de las razas autóctonas, ya que los excesivos e incontrolados cruces con animales foráneos han conllevado a una importante disminución del número de animales nativos, y con ello, a la casi desaparición de las bondades rústicas y prolíficas que durante muchos años fueron adquiridas. Se compararon dos diluyentes para el congelamiento de semen caprino de la raza Santandereana, con el propósito de establecer el mejor protocolo para la criopreservación de los espermatozoides. Se seleccionaron, prepararon y entrenaron tres machos, a los cuales se les colectó semen mediante vagina artificial a una frecuencia de tres veces por semana hasta completar un total de diez colectas por animal, a cada una de estas se les realizó la evaluación macroscópica (volumen, color, olor, aspecto, pH y presencia de partículas extrañas) y microscópica (concentración, recuento espermático, motilidad masal e individual, morfología y presencia de células extrañas), para predecir su resistencia al proceso de congelación. Cada una de las muestras seminales se dividió en dos volúmenes iguales para ser sometidas a los dos diluyentes a comparar, una vez diluidas se llevó a cabo el proceso de criopreservación en nitrógeno líquido. Los diluyentes citrato de sodio-yema de huevo (tratamiento 1) y leche descremada-yema de huevo (tratamiento 2), se compararon bajo los parámetros de evaluación de las características predictivas de la viabilidad post-descongelamiento del semen tales como motilidad individual progresiva a diferentes tiempos y prueba de resistencia hiposmótica. Los resultados obtenidos fueron analizados mediante la comprobación de prueba de hipótesis, encontrándose diferencias significativas entre los dos tratamientos a las diferentes horas de evaluación en cada uno de los parámetros establecidos. A la hora cero (0) post- descongelamiento los espermatozoides sometidos al tratamiento 2 tuvieron un porcentaje de motilidad

individual progresiva superior (46.73) que los sometidos al tratamiento 1 (41.67), sin embargo en las posteriores horas de evaluación este último obtuvo mejores resultados (35.65, 25.93, 16.03, y 8.45, respectivamente) en comparación con el primero (17.11, 6.67, 0.19, y 0, respectivamente). Con respecto a la prueba de resistencia hiposmótica, realizada para la evaluación la integridad de las membranas celulares, solo el tratamiento 1 obtuvo resultados cercanos al mínimo requerido de 40% (41.68, 37.17, 29.50, y 19.99) en relación con el tratamiento 2 (31.05, 21.39, 9.27, y 2.50). El diluyente con leche descremada-yema de huevo preserva la viabilidad de células espermáticas durante los procesos de congelación y descongelación; sin embargo, su contacto con los espermatozoides por un período prolongado después del descongelamiento, da lugar a reacciones enzimáticas, que se traducen en muerte celular. Aunque las características de viabilidad post-descongelamiento de espermatozoides tratados con diluyente citrato de sodio-yema de huevo no presentan valores muy elevados, estas se sostienen de forma adecuada a lo largo del tiempo.

**Palabras clave:** cabros, criopreservación, espermatozoides caprinos, evaluación del semen

**Key words:** male goats, cryopreservation, goat spermatozoa, semen evaluation

### Construcción de un adenovector recombinante que exprese proteínas inmunogénicas del virus de la Diarrea Viral Bovina

#### *Construction of a recombinant adenoviral vector expressing immunogenic proteins of the bovine viral diarrhea virus*

Diana S Vargas<sup>1</sup>, Víctor J Vera Alfonso<sup>1,2</sup>, Jairo J Correa<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Virología, Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá. Bogotá, Colombia.

<sup>2</sup>Instituto de Genética. Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá. Bogotá, Colombia.  
jjaimec@unal.edu.co

El virus de la diarrea viral bovina (VDVB) es uno de los agentes infecciosos más importantes del ganado, presenta distribución mundial y es endémico en la mayoría de las poblaciones bovinas. A pesar de que existen varias vacunas para el control de la enfermedad, no se ha logrado una reducción evidente de la prevalencia de la enfermedad. Por lo anterior, se han empezado a desarrollar experimentalmente vacunas ADN y vacunas recombinantes para superar los inconvenientes de las vacunas convencionales. Su mayor ventaja es que permiten trabajar con solo una fracción del virus (proteínas mas inmunogénicas) evitando la exposición al virus completo; disminuyendo la probabilidad de reversión viral. Los trabajos que se vienen realizando en vacunas recombinantes se fundamentan en la búsqueda de un sistema eficiente para la expresión y presentación de antígenos que generen una potente inmunidad humoral y celular. Esto se logra mediante el empleo de proteínas virales altamente inmunogénicas como la E2 de la envoltura. Los genes que codifican para estas proteínas son introducidos dentro de un vector que permita su expresión. El empleo de los virus como vectores permite el transporte en su genoma de genes extraños (transgenes) en regiones que son eliminadas y no son esenciales para la replicación e infectividad

viral. Los adenovirus (AdVs) son usados ampliamente como vectores para transferir genes, entre otras, ya que muchos tipos celulares expresan receptores en su superficie para la unión con este virus, haciendo que los niveles de transducción sean altos una vez que el virus a ingresado al organismo. En este proyecto de investigación se construirán AdVs recombinantes de primera generación que expresen la proteína inmunogénica E2 del VDVB, de una cepa de campo del país y de una cepa de referencia, determinando si estas construcciones presentan una expresión óptima de E2 y si es igual para cada una de ellas. Para esto, primero se amplifica el gen viral E2 mediante RT-PCR empleando cebadores específicos a los cuales se les adicionan sitios de restricción que faciliten la inserción de la secuencia E2 en un sitio específico de un vector de transferencia, que contiene un cassette bicistrónico que esta bajo el control de un promotor constitutivo (CMV5-E2-IRES-GFP); este plásmido es amplificado en bacterias competentes. Una vez purificados, los plásmidos de transferencia se recombinan con plásmidos de expresión que contienen la secuencia adenoviral con delección en la región E1 y E3 (Adeasy system, Qbiogen®) en bacterias electrocompetentes. Una vez obtenido el plásmido adenoviral con el transgen de expresión (CMV5-E2-IRES-GFP) ubicado en la región ΔE1, se evaluará *in vitro* el grado de expresión de la construcción en células transfectadas transitoriamente, cuantificando por citometría de flujo de la fluorescencia emitida por el gen reportero (GFP). Finalmente, se amplificará el virus mediante la transfección de células complementarias esperando obtener AdVs recombinantes a títulos que oscilen entre  $10^{10}$  partículas virales/ml., para su posterior empleo en modelos animales.

Se ampliara el conocimiento en la metodología de la construcción de estas vacunas para posteriores desarrollos en otros virus con mayor impacto en las explotaciones colombianas.

**Palabras clave:** plásmido, promotor de transcripción, transgen, vector adenoviral, vector de transferencia

**Keywords:** adenoviral vector, plasmid, transcription promoter, shuttle vector, transgene

### Crioconservación de semen bovino usando un congelador programable (CL-8800) y determinación de su calidad postdescongelación por medio un sistema de análisis espermático asistido por computador (CASA)

#### *Bovine sperm cryopreservation using a programmable freezer (CL-8800) and evaluation of post-thaw sperm quality by a Computer-Assisted Sperm Analysis (CASA)*

Víctor M Medina Robles<sup>1</sup>, Emerson Sánchez Carvajal<sup>2</sup>, Yohana M Velasco Santamaría<sup>1</sup>, Pablo E Cruz Casallas<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales, Grupo de Investigación sobre Reproducción y Toxicología de organismos Acuáticos GRITOX, Universidad de los Llanos, Villavicencio, Colombia.

<sup>2</sup>Médico Veterinario Zootecnista, ejercicio particular. Villavicencio, Colombia. mauriciomedina77@gmail.com

El objetivo del presente trabajo fue evaluar un protocolo para la congelación de semen bovino, empleando el congelador programable CL-8800 y utilizando un diluyente constituido por Tris (2.42 %), ácido cítrico (1.8 %), fructosa (1.0 %), glicerol

(7 %) y yema de huevo (20 %). Toros sexualmente maduros y clínicamente sanos de la raza Sanmartinero fueron usados como donantes de las muestras seminales. El semen fue extraído por electroeyaculación, incubado a 36 °C y evaluado macroscópica y microscópicamente. Muestras con movilidad masal superior a 80 % fueron mezcladas con el diluyente en dos fracciones, así: fracción A, a 36 °C (1:1) y fracción B (glicerolada) a 20 °C (1:1), esta última incluida en tres alícuotas a intervalos de 15 min. El semen fue empacado en pajillas de 0,5 mL y crioconservado en un congelador programable CL-8800; posteriormente, las pajillas fueron trasladadas a un termo de almacenamiento a -196 °C hasta su evaluación. Para la determinación de la movilidad y velocidad individual, cada pajilla fue descongelada en baño de agua a 36 °C/60 seg y evaluada usando un sistema de análisis espermático asistido por computador (CASA). La movilidad masal y el vigor espermático fueron evaluados en semen fresco no diluido y durante todo el proceso de crioconservación y postdescongelación. La curva de congelación determinada en el congelador CL-8800 ofreció una tasa de congelación total de 4.9 °C/min desde 20 hasta -70 °C. Con relación a la movilidad espermática individual, todas las variables mostraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) cuando comparadas con semen fresco, a excepción de la movilidad progresiva lineal lenta y movilidad circular. La movilidad masal no varió significativamente durante el proceso de dilución y estabilización ( $88.0 \pm 1.2$  y  $80.0 \pm 1.5$  %, respectivamente), que fue afectada sólo por la crioconservación ( $40.0 \pm 3.1$  %). En general, los resultados obtenidos para semen de bovino crioconservado en congelador programable CL-8800 son aceptables para la especie; sin embargo, aún son necesarios ajustes en la tasa de congelación-descongelación.

**Palabras clave:** calidad seminal, criopreservación de semen, crioprotector seminal, espermatozoide bovino, raza Sanmartinero

**Key words:** bovine spermatozoa, semen cryopreservation, seminal cryoprotectant, Sanmartinero bred, seminal quality

### Criopreservación del semen ovino en medio glicina yema leche con diferentes combinaciones de antibióticos

#### *Cryopreservation of ram semen in milk yolk wisteria with different combinations of antibiotics*

Isabel C Saltaren Gallego<sup>1</sup>, Esper A Martínez Rojas<sup>1</sup>, Sony D Bicudo<sup>2</sup>,  
Luís F Uribe Velásquez<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Estudiante de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad de Caldas, Manizales, Colombia.

<sup>2</sup>Universidad Estatal Paulista (UNESP), Botucatu, Sao Paulo, Brasil.

<sup>3</sup>Departamento de Salud Animal, Universidad de Caldas, Manizales, Colombia. Ifuribe@ucaldas.edu.co

Con el fin de asegurar unas mejores características del semen ovino pos-descongelación, certificar su preservación con una mejor calidad por un tiempo mayor y estudiar el comportamiento espermático ante el mismo medio diluidor (glicina yema leche) con distintas combinaciones de antibióticos, se tomaron muestras de semen de 10 carneros de la raza Santa Ines, criados en sistema de semiconfinamiento, con alimentación a base de heno y criados en la ciudad de Lençoes Paulista, del Estado de Sao Paulo, Brasil. Después

de ser aprobados andrológicamente, se criopreservaron las muestras de semen en cuatro tratamientos con diferentes antibióticos. El T1 (penicilina 0.06 g y dihidroestreptomocina 0.100 g), T2 (gentamicina 0.2 ml, tilosina 0.025 ml y lincomicina/espectinomocina 0.3 ml), T3 (penicilina 0.06 g, dihidroestreptomocina 0.100 g, tilosina 0.025 ml y lincomicina/espectinomocina 0.3 mL) y el T4 (amicacina 0.02 g). Los resultados presentaron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre las variables: movilidad espermática total (MT %), movilidad progresiva (MP %), velocidad de trayecto (VAP  $\mu\text{m/s}$ ), porcentaje de espermatozoides rápidos (RAPID %) o estáticos (STATIC %), con menores resultados en el T1 ( $15.0 \pm 2.6$  %;  $2.7 \pm 1.0$  %;  $62.2 \pm 3.8$   $\mu\text{m/s}$ ;  $4.1 \pm 1.5$  %, y  $74.4 \pm 3.7$  %, respectivamente) y mayores resultados en el T4 ( $42.1 \pm 2.6$  %;  $11.6 \pm 1.0$  %;  $77.5 \pm 3.8$   $\mu\text{m/s}$ ;  $18.1 \pm 1.5$  %, y  $43.5 \pm 3.7$  %, respectivamente). Al analizar el comportamiento de los espermatozoides ante la criopreservación, dividimos el grupo de carneros en dos grupos, grupo 1 (congelabilidad superior) y grupo 2 (congelabilidad inferior). Se encontraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en la MT % entre los T1 y T4 del grupo de congelabilidad superior ( $14.4 \pm 4.0$  %;  $51.0 \pm 4.0$  %, respectivamente) y se observaron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en la variable de integridad de membrana espermática (IM %), entre el T1 y el T4 que presentó una IM % superior, del grupo de congelabilidad inferior ( $25.4 \pm 3.6$  %;  $38.0 \pm 3.6$  %, respectivamente). Se presentaron evidentes diferencias entre los reproductores en relación al comportamiento de los espermatozoides ante el proceso de criopreservación. En la observación de la integridad de membrana (IM%) se encontró en su mayoría lesionada la membrana plasmática y una gran resistencia en las membranas acrosomal y mitocondrial en los cuatro tratamientos antibióticos utilizados con GGL. De acuerdo con los resultados podemos concluir que los espermatozoides presentaron mejores características espermáticas pos-descongelación en los animales sometidos al tratamiento 4 (T4) con el antibiótico amicacina.

**Palabras clave:** integridad de membrana, movilidad progresiva, movilidad total, espermatozoides

**Keywords:** membrane integrity, progressive motility, total motility, spermatozoa

### Determinación de la concentración óptima de glicerol para la dilución y congelación de semen de búfalo de agua

#### *Determination of the optimal concentration of glycerol for dilution and freezing of water buffalo semen*

Jeison Marulanda Alzate<sup>2</sup>, Juan D Rojas<sup>2</sup>, John F Ramírez Agudelo<sup>3</sup>  
Proyecto financiado por la Universidad Católica de Oriente. Rionegro, Colombia.

<sup>2</sup>Estudiantes de Agronomía y Zootecnia, Universidad Católica de Oriente. Rionegro, Colombia.

<sup>3</sup>Grupo de Investigación en Producción, Reproducción y Sanidad Animal, Universidad Católica de Oriente. Rionegro, Colombia.  
bufalosuco@yahoo.com

Algunas bufaleras del país han hecho grandes esfuerzos para mejorar la producción de leche y carne de sus hatos y estos esfuerzos han resultado en animales de alta calidad genética. Dichos animales se están convirtiendo en los reproductores para otras bufaleras con un nivel más bajo de tecnificación o que están empezando a trabajar con búfalos. Todo este sistema productivo encuentra en la inseminación artificial una herramienta muy importante para la aceleración del proceso de selección y para la potenciación de ese material genético.

Por lo tanto, se hace necesario desarrollar investigación sobre los aspectos más relevantes y fundamentales en la crío-conservación del semen de búfalo en nuestro país, para ayudar al establecimiento de programas nacionales de congelación de semen de búfalo y al desarrollo de futuras investigaciones que sean capaces de discernir sobre la habilidad del semen descongelado de búfalo para llevar a cabo procesos celulares específicos y complicados. Contribuir al desarrollo y mejoramiento de la especie bufalina en el país. Determinar la concentración óptima de glicerol para la dilución y congelación de semen de búfalo. Determinar y comparar las características de semen de búfalo fresco y descongelado con este protocolo. Se colectará, con electro-eyaculador, muestras de semen a cinco búfalos, tres veces con un intervalo de quince días entre toma y toma. A dichas muestras se les realizará una evaluación completa antes y después del proceso de congelación: volumen del eyaculado, movilidad en masa, movilidad individual, concentración y anomalías. Para evaluar la concentración óptima de glicerol, se harán diluciones del semen con concentración de 40 millones de espermatozoides por pajilla en tres tratamientos: 6, 7 y 8 % de glicerol, con el método tradicional de congelación de semen de vacuno.

Evaluación de semen descongelado: se tomarán cinco pajillas al azar por cada tratamiento; se descongelarán a 37 °C/1 min, se juntará el contenido de las cinco pajillas en un tubo y de allí se tomarán tres gotas (10 a 12  $\mu\text{l}$  c/u) y se colocarán sobre un portaobjetos precalentado, colocando un cubre sobre cada una. Se evaluará: porcentaje de vivos y movilidad y se realizarán pruebas de termoresistencia y de resistencia osmótica. Todos los resultados serán consignados en formatos especialmente diseñados para el experimento y los resultados serán analizados con el paquete estadístico SAS. Contribuir al desarrollo de la congelación de semen de búfalo en el país. Determinar la concentración de glicerol más apropiada para la dilución y congelación de semen de búfalo. Realizar una caracterización del semen de búfalo en fresco y descongelado.

**Palabras clave:** *Bubalus bubalis*, Colombia, criopreservación de semen

**Key words:** *Bubalus bubalis*, Colombia, semen cryopreservation

### Evaluación de dos diluyentes para la críoconservación de semen canino utilizando un congelador programable (CL-8800)

#### *Evaluation of two extenders for the canine sperm cryopreservation using a programmable freezer (CL-8800)*

Víctor M Medina R<sup>1</sup>, MVZ, MS; Edison Fontecha A<sup>2</sup>, MVZ; Pablo Cruz C<sup>1</sup>, MVZ, MS, PhD.

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales, Grupo de Investigación sobre Reproducción y Toxicología de organismos Acuáticos GRITOX, Universidad de los Llanos. Villavicencio, Colombia.

<sup>2</sup>Ejercicio particular. Villavicencio, Colombia.  
mauriciomedina77@gmail.com

El creciente desarrollo y auge de los caninos, tanto para la economía como para el entorno social, hace necesario implementar nuevas biotecnologías para optimizar los procesos de reproducción artificial en esta especie y poder contribuir al establecimiento de bancos de recursos genéticos. El objetivo del presente trabajo fue establecer un protocolo para la críoconservación de semen canino utilizando dos diluyentes y empleando el congelador programable CL-8800. Fueron utilizados cuatro machos adultos pertenecientes a las razas Labrador Retriever y Bóxer. Se evaluaron dos diluyentes

(Tris-fructosa y Tris-glucosa) a base de Tris (hydroxymethyl-aminomethan) 2,2 %, Acido cítrico monohidrato 1.2%, yema de huevo 20%, glicerol 8% y D(-) Fructosa 1.06% o D(+) Glucosa 0.96%. La muestra seminal fue colectada por estimulación manual, obteniéndose dos muestras por animal. Tanto el diluyente Tris-glucosa como el Tris-fructosa, fueron divididos en dos fracciones para su incorporación con el semen fresco. La fracción A difirió de la fracción B, en que esta última contenía 8% de glicerol, la primera fracción fue incorporada a 37 °C y la segunda a 15 °C. El semen diluido fue empacado en pajillas de 0.25 ml y criopreservado bajo una curva de congelación de descenso lento de temperatura desde 20° C hasta -65 °C, con una tasa de congelación total de 5.02 °C/min y posteriormente sumergidas en nitrógeno líquido a -196 °C. Las pajillas fueron descongeladas individualmente en baño de agua a 36 °C/60 seg. La movilidad y velocidad espermática pre y postcongelación fueron determinadas por medio de un equipo de análisis espermático asistido por computador (CASA). La movilidad lineal progresiva rápida varió significativamente ( $p < 0.05$ ) por efecto de la criopreservación y del diluyente utilizado, que fue más alta en el semen fresco ( $59.4 \pm 3.6\%$ ), seguida por Tris-glucosa ( $23.4 \pm 1.9\%$ ) y Tris-fructosa ( $11.7 \pm 1.8\%$ ). Tanto la movilidad espermática en masa como el vigor espermático disminuyeron progresivamente durante el proceso de criopreservación con ambos diluyentes. Aunque no se observaron diferencias significativas entre los dos diluyentes durante el proceso de dilución y precongelación, la movilidad postdescongelación, fue significativamente inferior para el diluyente Tris-fructosa ( $22.1 \pm 1.2\%$ ) cuando fue comparada con Tris-glucosa ( $46.4 \pm 2.6\%$ ). La movilidad espermática individual fue significativamente superior ( $p < 0.05$ ) para el semen fresco ( $93.6 \pm 1.07\%$ ) cuando comparado con los dos diluyentes, que fue menor para el semen diluido con Tris-fructosa ( $25.2 \pm 2.2\%$ ). En conclusión, el proceso de criopreservación de semen canino bajo las condiciones experimentales mostradas anteriormente, mostró ser más eficiente con diluyentes a base de glucosa.

**Palabras clave:** *cryopreservation, espermatozoide canino, fructosa, glucosa, raza labrador, raza boxer*

**Key words:** *boxer breed, cryopreservation, fructose, glucose, Labrador breed, spermatozoa canine*

### Evaluación de la cantidad y calidad de embriones bovinos producidos para transferencia, mediante la utilización de dos protocolos diferentes de superovulación (trabajo en proceso)

#### *Evaluation of embryo yield and quality of transferable bovine embryos produced by two protocols different superovulation protocols (work in process)*

John Giraldo<sup>1,2</sup>, Jorge Gómez<sup>2</sup>, Luis Rodríguez<sup>3</sup>, Juan Alvarez<sup>2</sup>, Sebastián Ordoñez<sup>1</sup>, Olga Lopez<sup>1,2</sup>, Juliana Colorado<sup>2</sup>, Jhon Osorio<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Administrativas y Agropecuarias, Biotecnología Pecuaria BIPE, Corporación Universitaria Lasallista. Medellín, Colombia.

<sup>2</sup>Facultad de Ciencias Agrarias, Grupo de Investigación en Biotecnología Animal GIBA, Politécnico Colombiano Jaime Isaza Cadavid. Medellín, Colombia.

<sup>3</sup>Semen y Embriones SEMBRI. Medellín, Colombia.  
jogiraldo@lasallista.edu.co

La técnica de transferencia de embriones en bovinos posee múltiples beneficios especialmente cuando se tiene en cuenta el

incremento del índice de ganancia genética por año, sin importar el sistema de producción al cual se aplique. Si a la técnica de transferencia de embriones, se suma el control del desarrollo folicular con el fin de mejorar la respuesta superovulatoria, se obtendría un mayor número de embriones transferibles por vaca tratada y de esta manera superar el mayor cuello de botella en el aprovechamiento de la genética de la hembra bovina. En otros términos, el impacto derivado de la aplicación de este paquete tecnológico se podría reflejar en: un aprovechamiento más eficiente de la genética portada por las vacas de alto potencial productivo, disponibilidad de material genético diferente al del macho que como alternativa para facilitar la implementación de programas de mejoramiento bovino, mayores oportunidades para que los ganaderos mejoren los parámetros de productividad y rentabilidad de sus hatos y les permita ser más competitivos, una mayor disponibilidad de material biológico para efectos de la investigación relacionada con la biotecnología de la reproducción y fortalecer nuestra participación en el cubrimiento de las demandas regionales, nacionales e internacionales en el mercado de embriones bovinos. Para tal efecto se comparará el protocolo de superovulación SPO convencional frente al protocolo de sincronización de la emergencia de la onda folicular. Para cada ensayo se formaron dos grupos constituidos cada uno por cinco hembras bovinas de la raza Aberdeen Angus, al grupo uno se le aplico el protocolo convencional el cual consiste en tener un celo de referencia e iniciar el estímulo hormonal con una fuente de hormona foliculo estimulante FSH al día diez poscelo, al grupo dos se le aplicará el protocolo de sincronización de la emergencia de la onda folicular el cual consiste en hacer previa inducción del celo e iniciar el tratamiento de estímulo hormonal con hormona folículo estimulante FSH al día cuatro pos inducción. Los resultados parciales obtenidos y solo evaluado el protocolo de SPO convencional son:  $n = 5$ , total de estructuras colectadas 50, embriones fertilizados 20, embriones transferibles 12. Los datos serán analizados por estadística descriptiva con un modelo completamente al azar para dos tratamientos y cinco repeticiones.

**Palabras clave:** *embriones bovinos, transferencia de embriones, superovulación*

**Key words:** *bovine embryos, embryo transfer, superovulation*

### Evaluación de la resistencia térmica de semen criopreservado de cerdo

#### *Evaluation of the thermal resistance of cryopreserved pig sperm*

Víctor M Medina Robles<sup>1</sup>, Beyer A Pérez Duarte<sup>2</sup>, Pablo E Cruz Casallas<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales, Grupo de Investigación sobre Reproducción y Toxicología de organismos Acuáticos GRITOX. Universidad de los Llanos, Villavicencio, Colombia.

<sup>2</sup>Ejercicio particular. Villavicencio, Colombia.  
mauriciomedina77@gmail.com

La congelación de semen juega un papel importante en la introducción y conservación de recursos genéticas superiores; sin embargo, su eficacia ha sido frecuentemente comprometida por la disminución de la capacidad fecundante del espermatozoide después del proceso de criopreservación. Algunos autores han descrito el efecto positivo de la incubación seminal posdescongelación a diferentes temperaturas, permitiendo alcanzar porcentajes de movilidad superiores a las observadas inmediatamente después de la descongelación, lo cual podría mejorar significativamente su capacidad fertilizante. Por lo anterior, el presente estudio evaluó el

comportamiento de semen criopreservado de cerdo con base en la viabilidad y morfología espermática, así como en el porcentaje de movilidad y velocidad espermática individual durante un periodo de incubación a 37 °C. Para este propósito, pajillas de 0.25 ml ( $n = 13$ ) de semen criopreservado de las razas Pietran y Landrace fueron utilizadas. La descongelación de las pajillas fue realizada en baño de agua a 55 °C/12 seg, después diluidas (1:40) con solución BTS (*Beltsville Thawing Solution*) y llevadas a incubación en baño maría a 37 °C/4 h. La evaluación del semen durante el periodo de incubación fue realizada cada hora; para esto, alícuotas de semen en cada periodo fueron extraídas para su evaluación espermática. La movilidad y velocidad espermática individual fue evaluada utilizando un sistema de análisis espermático computarizado (CASA). Durante el periodo de incubación, no se observaron cambios significativos en la morfología espermática, sin embargo, la viabilidad disminuyó siendo significativamente diferente ( $p < 0.05$ ) entre las horas 0 ( $70.6 \pm 1.9\%$ ) y 4 ( $57.8 \pm 3.2\%$ ) de incubación. En general, la movilidad progresiva lineal rápida y la velocidad en línea recta fueron significativamente mayores después de una hora de incubación ( $36.4 \pm 2.6\%$  y  $26.7 \pm 2.0 \mu\text{m/seg}$ , respectivamente) cuando fueron comparadas con la hora 0 ( $4.4 \pm 1.8\%$  y  $5.3 \pm 1.7 \mu\text{m/seg}$ , respectivamente) y 4 ( $21.5 \pm 3.1\%$  y  $14.7 \pm 2.2 \mu\text{m/seg}$ , respectivamente) de incubación. La movilidad total mostró un comportamiento similar a las anteriores sin diferencias significativas entre la hora 1 y 2 de incubación. En conclusión, se observó que el semen criopreservado de cerdo presenta mejores características espermáticas, en cuanto a movilidad y velocidad después de 1 hora de incubación a 37° C, no obstante, este resultado necesita ser evaluado en términos de fertilidad para su recomendación.

**Palabras clave:** *calidad seminal, criopreservación, diluyente, movilidad espermática, porcinos, termoresistencia*

**Key Words:** *cryopreservation, extender, seminal quality, spermatic motility, swinish, water heater resistance*

### La técnica RAMs (Random Amplified Microsatellites) permite diferenciar poblaciones de ganado Hartón del Valle

*The RAMs (Random Amplified Microsatellites) technique allows to differentiate "hartón del Valle" cattle populations*

Ana Maria Piedrahita<sup>2</sup>, Andrés Posso<sup>2</sup>, Jaime Eduardo Muñoz<sup>2</sup>, Luz Ángela Álvarez<sup>2</sup>

<sup>1</sup>División de investigaciones DIPAL Universidad Nacional de Colombia.

<sup>2</sup>Universidad Nacional de Colombia

anamaph@yahoo.com, ampossot@palmira.unal.edu.co, jemunozf@palmira.unal.edu.co, laalvarezf@palmira.unal.edu.co

El Hartón del Valle (HV) hace parte de las siete razas de ganado bovino criollo colombiano. Para estudiar su variabilidad genética fueron muestreados 33 individuos de la raza Hartón del Valle y 3 individuos de la raza Holstein, como control externo. Se extrajo ADN de sangre utilizando el método de "salting out". Las muestras fueron analizadas mediante la técnica molecular RAMs (Random Amplified Microsatellites). Se usaron los primers CGA, CCA, TG y CT. Se realizaron electroforesis en geles de agarosa donde se diferenciaron todos los individuos. Con el índice de Dice-Nei Li y agrupando con el método UPGMA se lograron dos grupos en HV: uno integrado por dos hatos de

conservación de la Universidad Nacional sede Palmira; y el otro por cuatro fincas de criadores de ganado puro, en el dendograma individual se diferenciaron las poblaciones. Se obtuvo un valor de heterocigosidad esperada ( $H_e$ )  $H_e = 0.233$ , que osciló entre 0.071 y 0.254. La GMGA y CEUNP, obtuvieron los mayores valores de  $H_e$  (0.254 y 0.252, respectivamente); en el análisis de distancia y similitud, estos formaron un grupo independiente del resto de hatos, indicando que poseen valiosa información genética, no encontrada en otros hatos. Se calculó el estadístico  $F_{st}$  de diferenciación poblacional y se obtuvo un valor de  $F = 0.411$  indicando que existe gran diferenciación genética entre los hatos evaluados. En el análisis de varianza molecular se obtuvo un porcentaje de variación entre hatos del 39.5% y dentro de hatos del 60.5%.

**Palabras clave:** *ADN, bovinos, diversidad genética, polimorfismo*

**Key words:** *cattle, DNA, genetic diversity, polymorphism*

### Uso de la técnica molecular microsatélites aleatorios (RAMs) en estudios de diversidad genética animal

*Use of random amplified microsatellites (RAMs) in animal genetic diversity analysis*

Jaime E Muñoz<sup>2</sup>, Luz A Álvarez<sup>2</sup>, Andrés M Posso<sup>2</sup>

Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Colombia AA 237. Palmira, Colombia. Universidad Nacional de Colombia

jemunozf@palmira.unal.edu.co, laalvarezf@palmira.unal.edu.co, ampossot@palmira.unal.edu.co

Los microsatélites o SSR son usados para genotipificar animales, estudiar diversidad genética, flujo de genes, necesitan información previa y normalmente se usan para estudiar individuos cercanos genéticamente. La técnica RAMs combina la técnica RAPD (Random amplified polymorphism DNA) y los microsatélites, se utiliza la PCR con un solo cebador de 18 bases compuesto por una secuencia microsatélite repetida entre 5 y 7 veces, con un extremo 5' degenerado; amplifica dos secuencias microsatélites, no necesita información previa, es reproducible por la longitud del cebador, las electroforesis se realizan en agarosa, poliacrilamida en cámaras pequeñas o de secuenciación, y su costo es bajo comparado con técnicas que dan similar número de bandas. Se ha utilizado con éxito en microorganismos (hongos y bacterias), vegetales (heliconias, uchuva, mora, cítricos) y en animales como bovinos, cerdos, patos, gallinas, poliquetos, entre otros. El objetivo es presentar la utilidad de la técnica molecular RAMs para estudiar la diversidad genética animal. En bovinos, se ha diferenciado hatos de ganado Hartón del Valle. En cerdos criollos se ha diferenciado los núcleos puros de Zungo y San Pedreño de animales cruzados con razas comerciales. En gallinas criollas se diferenciaron algunos tipos como finos, cubanos, santandereanos de los tipos con un fenotipo específico pero con mezclas genéticas. En patos criollos se evaluó la diversidad genética y se diferenciaron los géneros *Anas* y *Cairina*, se realizaron electroforesis en geles de secuenciación obteniéndose alto número de bandas.

**Palabras clave:** *ADN, animales de granja, polimorfismo*

**Key words:** *DNA, livestock, polymorphism*



## Vitrificación de oocitos bovinos inmaduros por el método de la pajilla abierta y estirada (open pulled straw - ops)

### *Immature bovine oocytes vitrification by the open pulled straw method*

Lopera V Ricaurte<sup>1</sup>, Iván Méndez S<sup>1</sup>, Miguel Peña<sup>2</sup>, Agustín Góngora O<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidad de los Llanos. Villavicencio, Colombia.

<sup>2</sup>Corpoica, Centro de Investigaciones la Libertad. Villavicencio, Colombia.

<sup>3</sup>Grupo de Investigación en Reproducción y Genética Animal GIRGA, Universidad de los Llanos. Villavicencio, Colombia.

agongora60@hotmail.com

La vitrificación es uno de los más importantes avances de la criobiología recientemente, ésta previene la formación de cristales de hielo al interior de la célula, evitando el daño celular. Una modificación a la técnica original es la inclusión de una pajilla abierta y estirada conocida como OPS. Las ventajas de la vitrificación son grandes respecto a los métodos tradicionales de congelación, representados en costos de los equipos, sencillez y disminución del tiempo de congelación. Se cree también que el tipo de crioprotector empleado afecta la capacidad de desarrollo de los oocitos bovinos. El objetivo de este estudio fue estandarizar una técnica de vitrificación de oocitos bovinos inmaduros usando OPS y evaluar el efecto de dos sustancias crioprotectoras. Los oocitos fueron obtenidos

de ovarios de vacas sacrificadas en el matadero local de Villavicencio, Meta, y asignados a los siguientes grupos, Tratamiento I (T1): 20 oocitos puestos en solución equilibrio (SE): compuesta de medio base (MB = TCM-199 + HEPES + 20 % SFB) + 7.5% (v/v) etilenglicol (EG) + 7.5 % (v/v) dimetilsulfoxido (DMSO). Solución vitrificante (SV) compuesto por medio base + 15 % (v/v) EG + 15% (v/v) DMSO + 0.5 M sucrosa. Solución calentamiento (SC): (MB) + 1.0 M sucrosa. Solución diluyente (SD): (BM) + 0.5 M sucrosa. Solución lavado (SL): (MB) Tratamiento II (T2): 20 oocitos vitrificados mediante el método OPS, sometidos a las siguientes soluciones (SE): (MB) + 10% (v/v) (EG) + 10 % (v/v) (DMSO). (SV): (MB) + 20 % (v/v) EG + 20% (v/v) DMSO + 0.5 M sucrosa. (SC): 1.0 M sucrosa + (MB). (SD): 0.5 M sucrosa + (MB). (SL): (MB). Grupo control (GC): 20 oocitos seleccionados por el número de células del cúmulo madurados *in vitro* por 24 horas. Los porcentajes de expansión de células del cúmulo post-calentamiento fueron: T1, 76.5%; T2, 63.4%; y GC 83.6%. La presencia de cuerpo polar fue 3.7, 1, y 17.2%, respectivamente. En 217 oocitos teñidos con aceto-orceina al 1% se observaron las diferentes estado de división celular profase: T1, 20%; T2, 16.6%; y GC, 2.1% ; anafase: T1, 4.6%; T2, 3.38%; y GC no presencia; metafase: T1, 28.1%; T2, 15.2%; y GC, 7.4%. La viabilidad de los oocitos vitrificados fue alta, se encontraron diferencias en la expansión de las células del cúmulo entre tratamientos; la menor concentración del crioprotector del T1 quizás explique las diferencias debido a una menor toxicidad.

**Palabras Clave:** oocitos bovinos, protocolo de vitrificación, OPS

**Key words:** bovine oocytes, OPS, vitrification protocol