

Biotecnología y Reproducción

Análisis de la calidad seminal de machos caprinos con métodos convencionales y citometría de flujo*

Analyses of semen quality in male goats with conventional methods and flow cytometry

Daniela Herrera Vargas¹, Zoot; Maricela Castaño Escobar¹, Est Zoot; Daniela Arcila Dávila¹, Est Zoot; Jorge López Pérez², MV; Walter Cardona Maya³, Bact, MSc, DrSc; Henry Cardona Cadavid¹, Zoot, MSc, DrSc.

*Financiado por: Sostenibilidad CODI-Universidad de Antioquia al Grupo GaMMA 2014-2015 (código: E01808), Proyecto Evaluación de la calidad seminal de machos cabrios. 2013. Código CIAG-CODI-UdeA 8714-2013-5029.

¹Grupo de Investigación en Genética, Mejoramiento y Modelación Animal -GaMMA, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, Colombia.

²Empresa de Biotecnología Teriogén S.A.S. ³Grupo de Investigación en Reproducción, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Colombia.
E-mail: dahevasonri@hotmail.com

Introducción: el conocimiento y buen manejo reproductivo de los machos caprinos es igualmente fundamental para alcanzar óptimos parámetros en la producción lechera. **Objetivo:** evaluar la calidad seminal de machos caprinos por medio de análisis convencional y funcional. **Métodos:** se evaluaron ocho machos, seleccionados porque pertenecían a granjas con valor genético ya que habían hecho parte del control lechero y evaluación genética para producción de leche, grasa y proteína, ubicados en el área metropolitana de Medellín, a los cuales se les hizo evaluaciones convencionales y funcionales. **Resultados:** por métodos convencionales la media de la circunferencia escrotal fue 25,69 cm, volumen promedio de semen 0,51 mL, concentración $1,936 \times 10^6$ espermatozoides/mL, media de la motilidad individual 63,37%, vigor encontrado 4 y porcentaje de anomalías 7,75%. La motilidad individual está altamente correlacionada (directamente e inversamente) con características funcionales del semen como potencial de membrana mitocondrial ($r = 0,840$) y especies reactivas de oxígeno ($r = -0,91$), las cuales son características predictivas en la fertilización. La evaluación funcional mostró que en promedio 52,94% de las células evaluadas presentan potencial de membrana mitocondrial alto y 39,29% son necróticas, el índice de fragmentación del DNA fue 12,5%, las especies reactivas de oxígeno 38,68%, el análisis de lipoperoxidación de 7,33% y el análisis de la integridad de la membrana mostró que 54,77% de las células analizadas tienen la membrana plasmática intacta. **Conclusión:** los machos evaluados mostraron buenos parámetros, similares a los reportados en la literatura y en Colombia estos resultados permiten establecer parámetros de referencia, pudiendo confirmar que el semen de los machos caprinos evaluados es de buena calidad y es prometedor para utilizarlo en programas de I.A, por lo que se sugiere la necesidad protocolaria de evaluaciones andrológicas por métodos convencionales y funcionales.

Palabras clave: DNA, inseminación artificial, lipoperoxidación, producción caprina, reproducción.

Keywords: artificial insemination, DNA, goat production, lipid peroxidation, reproduction.

Aplicação de três protocolos em éguas receptoras acíclicas

Application of three protocols in acyclic recipient mares

Viviana Vallejo Aristizabal¹, Msc; Henry D Mogollón García¹, MSc; Elisa S Monteiro da Silva¹, Dra; Juan S Pineda, MV, José A Dell'acqua Junior¹, PhD.

¹Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" –UNESP, Brasil.
E-mail: vallaristy@gmail.com

Introdução: tratamentos com progestágenos em receptoras acíclicas tem se tornado uma alternativa comum na demanda de transferência de embriões (TE). Visando aumentar a produtividade ao longo do ano, diversas pesquisas estudam a eficácia da utilização destes protocolos. **Objetivo:** comparar a manutenção da gestação e a morte embrionária precoce em éguas receptoras cíclicas e acíclicas. **Método:** implementaram-se três protocolos diferentes em um total de 116 receptoras acíclicas mestiças com idade entre quatro e 10 anos. As éguas foram divididas aleatoriamente em: G1 (n=18): dose única de 10 mg de 17 B estradiol (17B) intramuscular (IM) no dia da ovulação da doadora e altrenogest oral (33 mg) diário, G2 (n = 81): dose única de 17B (10 mg) IM no dia da ovulação da doadora e altrenogest injetável (180 mg) a cada 7 dias, G3 (n = 16): dose única de 17 B IM (10 mg) no dia da ovulação da doadora e progesterona de longa ação (P4 LA) injetável (1500 mg) a cada sete dias. Além disso, o G4, compostas de 74 éguas cíclicas, não receberam tratamento devido a produção endógena de progesterona. Os tratamentos com progestágenos foram administrados dois dias após aplicação de 17B com previa confirmação de edema uterino e mantidos até os 90 dias de gestação. O diagnóstico de gestação foi realizado 12 dias após TE e avaliações ultrassonográficas foram realizadas a cada cinco dias até os 120 dias. Foi utilizado o teste de qui-quadrado do programa SAS versão 9.1 com o procedimento PROC FREQ. Considerou-se diferença quando $p < 0,05$. **Resultado:** não foi observada diferença nas variáveis analisadas. **Conclusão:** ao conseguir manter a gestação e apresentar perda embrionária dentro dos parâmetros normais, sugere-se a administração dos protocolos hormonais anteriormente avaliados.

Palavras chave: altrenogest, equinos, progesterona.

Keywords: altrenogest, horses, progesterone.

Associations among seminal plasma proteins and semen criteria in boars supplemented with a vitamin-mineral complex*

Asociación entre proteínas del plasma seminal y parámetros seminales en cerdos suplementados con un complejo vitamínico-mineral

Verónica González Cadavid^{1,2}, PhD; Jorge A M Martins², PhD; Tiago S Andrade², MV; Verónica Hoyos M², MSc; Arlindo A Moura², PhD.

*Financiado por: CAPES, Brasil. ¹Departamento de Producción Animal, Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín. ²Grupo de Investigación en Biología de la Reproducción, Universidad Federal de Ceará, Fortaleza, Brasil. E-mail: vgonzal@unal.edu.co

Introduction: seminal plasma (SP) proteins influence several sperm criteria, such as motility and capacitation. **Objective:** to study the effect of the supplementation with a vitamin-mineral complex on SP protein profile and the association between SP proteins and semen quality. **Methods:** semen samples from 14 sexually mature boars were evaluated and centrifuged to separate SP from sperm. SP samples collected before and after treatment (20 d, 1.5 mL/100 Kg BW) were subjected to sodium dodecyl sulfate Polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE). Differences were compared using Student's t and Wilcoxon's tests ($p < 0.05$). Correlations between sperm parameters and band intensities were determined by Pearson's method ($p < 0.05$). **Results:** ejaculates had $73.1 \pm 19.4\%$ motile sperm, with 3.5 ± 0.9 score for vigor, and $67 \pm 23.7\%$ normal sperm. Forty-one protein bands were found in the boar seminal plasma 1-D gels, from 14 to 165 kDa. Before supplementation, the intensity of two low molecular weight bands (14 and 28.8 kDa) were negatively associated with semen quality. The 28.8 kDa band was negatively associated ($r = -0.90$) with sperm membrane functionality, as measured by the number of reactive cells in the hypo-osmotic swelling test (HOST). The intensity of the 14-kDa band was associated with the frequency of proximal droplets on sperm (PD; $r = 0.64$). After supplementation, a 59-kDa band was correlated with better HOST results ($r = 0.71$), while a 74-kDa band was negatively related to PD ($r = -0.71$). **Conclusion:** our findings suggest that vitamin/mineral supplements might change SP protein composition, particularly those that regulate processes linked to the formation of proximal droplets and the reactive sperm on host. It is possible that 20 days after treatment was not long enough to allow significant improvements in semen quality and protein expression in the SP.

Keywords: boars, proteomics, semen.

Palabras clave: cerdos, proteómica, semen.

Caracterización seminal en ovinos criollos colombianos de pelo en la granja El Perico, Universidad de Sucre (Sincelejo)

Seminal characterization on Colombian Creole sheep in El Perico farm, Universidad de Sucre (Sincelejo)

Diego F Carrillo González, MVZ, MSc; Darwin Y Hernández Herrera, Zoot, MSc, PhD.

Grupo de Investigación en Reproducción y Mejoramiento Genético Animal, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Sucre, Colombia. E-mail: diego.carrillo@unisucra.edu.co

Introducción: los ovinos criollos poseen características de adaptación importantes como la capacidad de utilizar forrajes de escaso valor nutritivo y soportar las condiciones medioambientales propias de la región caribe. Su uso como potencial genético en la producción ovina colombiana, requiere del estudio de sus características seminales, para la aplicación de biotecnologías reproductivas. **Objetivo:** determinar las características seminales en ovinos criollos colombianos de pelo. **Métodos:** el estudio se llevó a cabo en la granja "El Perico" de la Universidad de Sucre (Km 7, vía Sincelejo - Sampedo, a 50 msnm, clima cálido seco y con formación vegetal típica de bosque seco tropical). Se utilizaron cuatro ovinos criollos adultos, no emparentados, los cuales fueron colectados cuatro veces a intervalos de cinco días, mediante la técnica de electroeyaculación con el equipo electrojac[®]. Se obtuvo un total de 15 eyaculados, donde se evaluaron sus características macroscópicas y microscópicas. **Resultados:** se encontró que el aspecto seminal más frecuente fue el cremoso (60%), seguido del lechoso (26,7%) y acuoso (13,3%), respectivamente; el color predominante fue blanco mate (66,7%) sobre el blanco brillante (33,3%). Se observó una movilidad masal de $3,77 \pm 0,12$ en escala de 1 - 5 con presencia de remolinos y movimientos moderados, mientras que la movilidad individual fue del $74,09 \pm 2,0\%$. La concentración media fue de $803,73 \times 10^6 \pm 165,65 \times 10^6$ espermatozoides/mL y se encontró una normalidad morfológica del $76,64\% \pm 1,99$. La anomalía más frecuente fue la pieza media reflejada distalmente, característica asociada a cambios bruscos de temperatura post-colecta. El test hiposmótico evidenció un $80,64\% \pm 1,28$ de espermatozoides con membrana celular intacta. **Conclusión:** las características seminales de los ovinos criollos de pelo, pueden permitir su utilización en técnicas de reproducción para mejoramiento genético. Se sugiere realizar pruebas de supervivencia seminal post-congelación.

Palabras clave: evaluación de semen, integridad de membrana, movilidad individual, semen de ovinos.

Keywords: individual mobility, membrane integrity, semen evaluation, ram semen.

Dinámica folicular en la búfala (*Bubalus bubalis*)***Follicular dynamics in the buffalo (*Bubalus bubalis*)**

Jorge A Sánchez Valencia¹, MVZ, MSc; Marlyn H Romero Peñuela¹, MVZ, MSc, PhD; Luis F Uribe V¹, MVZ, MSc, PhD.

*Financiado por: Patrimonio Autónomo Fondo Nacional de Financiamiento para la Ciencia, la Tecnología y la Innovación, Francisco José de Caldas. Universidad de Caldas VIP, Colombia.

¹Universidad de Caldas, Colombia.

E-mail: jorge.sanchez@ucaldas.edu.co

Introducción: los búfalos domésticos (*Bubalus bubalis*) son importantes en la economía agropecuaria en América Latina. Colombia cuenta con un inventario superior a 300.000 búfalos y no se han realizado estudios de la dinámica folicular de la búfala. **Objetivo:** caracterizar la dinámica folicular de la búfala en el trópico bajo. **Métodos:** el estudio se realizó en la región del magdalena medio colombiano, hacienda La Gloria, municipio de Puerto Salgar. Se realizó seguimiento ecográfico a 20 búfalas durante 90 días en tres ciclos estrales naturales, cada folículo con diámetro mayor de 2,0 mm fue registrado, el día de ovulación se definió como el día 0. **Resultados:** los datos de 21 ciclos estrales de 11 búfalas fueron registrados, 17 (80,95%) fueron catalogados como de longitud normal y cuatro (19,04%) ciclos estrales tuvieron duración anormal. Uno de los estros anormales presentó formación de un CL persistente (4,76%) y tres ciclos (14,28%) desarrollaron folículos quísticos. Ciclos de una onda se presentaron en dos ocasiones (9,52%), 11 ciclos de dos ondas (52,38%) y cuatro ciclos de tres ondas (19,04%). Emergencia de la primera onda se registró el día $0,5 \pm 0,7$; $2,2 \pm 1,6$; $1,25 \pm 1,2$, respectivamente para cada ciclo de una, dos o tres ondas. La emergencia de la segunda onda folicular fue el día $10,5 \pm 3,6$ en los ciclos de dos ondas y el día $7 \pm 2,8$ para los ciclos de tres ondas. La emergencia de la tercera onda folicular se observó el día $20,75 \pm 6$. La persistencia del folículo ovulatorio (días) fue de 11,5; 10,09; 10,7 para ciclos de una, dos o tres ondas. La duración del intervalo inter-ovulatorio (días) fue de: $12,5 \pm 3,5$; $20,45 \pm 4,2$; $28,7 \pm 2,8$. El cuerpo lúteo se extendió por $14 \pm 0,7$ días con un diámetro máximo de 1,1 cm, al día 7. **Conclusión:** el presente estudio muestra que los folículos en la búfala se desarrollan en un patrón de una, dos o tres ondas foliculares por ciclo estral, dos ondas foliculares es el patrón más frecuente. La duración de ciclo estral depende del número de ondas presentes, siendo mas extensos los ciclos de tres ondas que los de una onda folicular.

Palabras clave: ciclo estral, folículo, ondas foliculares.

Keywords: estrous cycle, follicle, follicular waves.

Efecto de cuatro métodos de separación seminal sobre la calidad y la capacidad fertilizante *in vitro* de espermatozoides equinos criopreservados**Effect of four sperm separation methods on quality and *in vitro* fertilizing capacity of cryopreserved stallion spermatozoa**

Giovanni Restrepo Betancur, Zoot, MV, MSc, PhD; Elizabeth Varela Giraldo, Ing Agrop; Juan D Montoya Páez, Ing Agrop; Juan E Duque Cortés, Ing Agrop; Daniel Ocampo Vélez, Ing Agrop; Mónica Ramírez Hernández, MV, MSc.

Facultad de Ciencias Agrarias, Politécnico Colombiano Jaime Isaza Cadavid, Medellín, Colombia.

E-mail: grestrepo@elpoli.edu.co

Introducción: existen diferentes métodos de separación y selección de espermatozoides, orientados a mejorar la calidad de las muestras de semen. Dichos métodos podrían ser útiles para seleccionar espermatozoides equinos después de la criopreservación. **Objetivo:** evaluar el efecto de cuatro métodos de separación seminal sobre la calidad y la capacidad fertilizante *in vitro* de espermatozoides equinos criopreservados. **Métodos:** cuarenta pajillas de semen equino se utilizaron para la separación espermática post-descongelación, por los métodos Androcoll, CushionFluid, EquiPure y Percoll. Mediante un sistema computarizado (SCA) se evaluó la movilidad espermática. Las sondas FITC-PNA y SYBR14/IP se utilizaron para evaluar la integridad acrosómica y la vitalidad, respectivamente. Se realizó la evaluación de la capacidad fertilizante *in vitro*, mediante la fertilización heteróloga de 600 oocitos bovinos, obtenidos por cada método de separación. Se evaluaron las tasas de clivaje después de tres días de cultivo *in vitro*. Se ajustaron modelos lineales generalizados (GLM) y las medias se compararon por la prueba de Tukey. **Resultados:** para la movilidad total, CushionFluid ($24,2 \pm 2,2\%$) y Androcoll ($22,0 \pm 6,1\%$) fueron superiores a EquiPure ($14,5 \pm 4,0\%$) y Percoll ($9,9 \pm 1,0\%$) ($p < 0,05$). Mientras para movilidad progresiva, VSL, VCL, VAP e integridad acrosómica, CushionFluid fue superior a los demás métodos ($p < 0,05$). Se encontraron medias superiores de vitalidad para Androcoll y Percoll ($p < 0,05$). Respecto a la capacidad fertilizante (clivaje), no se encontró diferencia entre los métodos (Androcoll $24,0 \pm 18,4\%$; CushionFluid $22,0 \pm 10,7\%$; EquiPure $21,7 \pm 14,0\%$ y Percoll $28,3 \pm 13,5$; $p \geq 0,05$). **Conclusión:** el semen equino seleccionado post-descongelación por el método CushionFluid, presenta mejores parámetros de calidad respecto a Androcoll, EquiPure y Percoll; sin embargo, no se evidencia diferencia entre los métodos de separación espermática para la capacidad fertilizante *in vitro*.

Palabras clave: clivaje, congelación, fertilización heteróloga.

Keywords: cleavage, freezing, heterologous fertilization.

Efecto de dos proteínas del plasma seminal sobre la congelabilidad del semen porcino

Effect of two seminal plasma proteins on pig semen freezability

Julián A Valencia Giraldo¹, MVZ; Walter R López², MSc; Henry Mesa Echeverry¹, PhD; Germán Gómez Londoño¹, MSc, PhD; Francisco J Henao Uribe¹, MSc, PhD.

¹Departamento de Producción Agropecuaria, Universidad de Caldas, Manizales, Colombia. ²Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad de Caldas, Manizales, Colombia.

E-mail: julian.valencia@ucaldas.edu.co

Introducción: la congelabilidad del semen porcino se asocia con diversas proteínas plasmáticas, como la proteína NPC2 (Niemann-pick disease type C2), acarreador de colesterol en membranas celulares, y la HSP90 (heat shock protein 90) mediadora de protección al estrés térmico. **Objetivo:** determinar el efecto de la proteína NPC2 y la HSP90 sobre la congelabilidad del semen porcino. **Métodos:** mediante evaluación seminal de seis verracos se identificaron el macho de mayor congelabilidad (MAC) y el de menor (MBC), de acuerdo con el porcentaje de espermatozoides funcionalmente competentes (EFC). El semen se congeló en pajillas de 0,5 mL, con Androhep Plus® y Androstar CryoPlus®. Posteriormente e inmediatamente después de la colección, se separaron por centrifugación el plasma seminal (PS) y los espermatozoides (spzs) de los machos seleccionados, se efectuaron las cuatro combinaciones posibles de ambos componentes, y se incubaron 3 horas. Las proteínas se visualizaron por Western Blot, y se cuantificaron con ImageLab-4 de BIO-RAD®. La evaluación seminal fue realizada post-descongelación. Se realizó ANOVA y análisis de correlación. **Resultados:** la proteína NPC2 mostró dos isoformas: 16 y 19 KDa, la de 16 no presentó diferencias entre los dos machos ($p > 0,05$), pero la de 19 KDa registró mayor concentración en PS de MAC ($0,61 \pm 0,0001$ vs. $0,13 \pm 0,006$ para MBC, $p < 0,01$). La HSP90 fue más alta en PS de MBC ($0,1 \pm 0,01$ vs. $0,006 \pm 0,01$ para MAC, $p < 0,01$) y post incubación aumento, siendo mayor el aumento en la mezcla con spzs de MBC, ($1,4 \pm 0,01$ vs. $0,9 \pm 0,01$, $p < 0,05$). Las correlaciones entre la concentración de cada proteína y las variables de calidad seminal fueron no significativas ($p > 0,05$) y fluctuaron entre -0,3 y 0,5. **Conclusión:** la NPC2 de 19 KDa y la HSP90 registraron diferencias en PS de alta y baja congelabilidad, y la HSP90 aumento al incubar con spzs de MBC, lo cual puede ser indicio de la relación entre estas dos proteínas y la congelabilidad seminal en cerdos.

Palabras clave: criopreservación, HSP90, NPC2.

Keywords: cryopreservation, HSP90, NPC2.

Efecto de dos protocolos de superovulación sobre los niveles de progesterona (P₄) en vacas donadoras en pastoreo en la región del Magdalena Medio santandereano

Effect of two protocols of superovulation on levels of progesterone (P₄) in donor cows grazing in the Magdalena Medio santandereano region

Elkin O Romero Cárdenas¹, Esp; Gustavo Arguello Rueda¹, Esp; María Georgina Quiñonez², Est MVZ.

¹Grupo de Investigación en Producción y Ciencia Animal -PROCA, Instituto Universitario de la Paz, Colombia. ²Instituto Universitario de la Paz, Colombia. E-mail: elkin.romero@unipaz.edu.co

Introducción: la superovulación permite aumentar la eficiencia reproductiva al obtener un mayor número de crías/animal/año. El éxito de la técnica radica en la mayor obtención de embriones óptimos para transferir, el priming de P₄ parece ser prerequisite para una diferenciación normal de las células de la granulosa, la expresión normal del celo y la ovulación. **Objetivo:** determinar la influencia de la aplicación de dos protocolos de superovulación sobre los niveles de progesterona en sangre en vacas Brahman. **Métodos:** se utilizaron cuatro hembras Brahman de condición corporal 3,5 y entre 2 y 3 partos, cíclicas y sin cría al pie. Los animales se distribuyeron completamente al azar en dos grupos de dos animales, los animales de T1 se superovularon mediante la aplicación de folitropina liofilizada FSH, el grupo T2 se superovuló mediante el uso combinado de FSH y luteotropina LH, ambos grupos estuvieron en pastoreo con *Brachiaria humidicola*. Se realizaron tres muestreos (días 4, 12 y 17 del protocolo) para la medición de P₄ en sangre mediante radioinmunoensayo. Se utilizó el diagrama de cajas o bigotes agrupados para describir los resultados de P₄ entre muestras y tratamientos. La comparación entre muestras para cada tratamiento se realizó a través de la prueba de Friedman, la comparación entre grupos de tratamiento mediante la prueba U de Mann-Whitney asumiendo un nivel de significación máximo de 0,05, el procesamiento estadístico se realizó con el programa IBM Statistics SPSS 22. **Resultados:** el valor de P₄ para T1 fue mayor en la muestra 3 (M3), con 3,53 ng/mL y menor para M1 con 0,09 ng/mL, para T2 el valor mínimo de P₄ fue de 0,79 ng/mL en M1 y el mayor de 10,94 ng/mL en M3, no se observó diferencia significativa entre muestreos para el mismo tratamiento ($p = 0,156$). Se encontró diferencia significativa entre tratamientos ($p = 0,041$). **Conclusión:** las hembras superovuladas con FSH y LH tuvieron mayores niveles de P₄ en sangre. No hubo variación respecto al tiempo de evaluación.

Palabras clave: gonadotropinas, hipófisis, ovulación.

Keywords: gonadotropins, ovulation, pituitary.

Efecto de la criopreservación, descongelación y manipulación del semen sobre la morfofisiología seminal en tres genotipos bovinos productores de leche

Effect of cryopreservation, thawing, and manipulation of the semen over seminal morphophysiology in three bovine milk producers' genotypes

Norberto Villa Duque¹, MSc; Julian Valencia Giraldo², MVZ; German Gómez Londoño², PhD; Francisco J Henao Uribe², PhD; Jorge H Contreras Castro¹, Esp.

¹Instituto Universitario de la Paz, Colombia. ²Universidad de Caldas, Colombia.
E-mail: norberto.villa@unipaz.edu.co

Introducción: la criopreservación e inseminación artificial (IA) implican cambios de las propiedades químicas, térmicas y eléctricas en organelos del espermatozoide, afectando su capacidad fecundante. **Objetivo:** evaluar la criopreservación del semen en laboratorio. La descongelación y manipulación en 32 ganaderías bovinas del centro de Colombia, además de valorar *in vitro* el efecto de errores sobre la integridad de membranas y morfología espermáticas. **Métodos:** se recolectaron los datos de la descongelación y manipulación en formato previo. El estudio *in vitro* se ejecutó en el Instituto de Biotecnología Agropecuaria (Universidad de Caldas), sometiendo pajillas comerciales de 0,5 mL de toros Holstein (H), Jersey (J) y Pardo Suizo (PS) a la técnica convencional y a cinco modificaciones (errores), mediante ANOVA de una vía. **Resultados:** el formato evidenció como errores frecuentes: descongelación a diferentes temperaturas, manipulación de pajillas por fuera del cuello del termo, descongelación en la axila y bajo nivel de nitrógeno líquido. La integridad acrosómica (IAs) e integridad estructural de la membrana plasmática (IEM) se afectó ($p < 0,05$) por la interacción genotipo x técnica instrumental; la resistencia de ambas membranas ($p < 0,01$) por el genotipo y la técnica instrumental. El valor más bajo para integridad y resistencia de membranas correspondió al semen de PS descongelado en la axila y almacenado con bajo nivel de nitrógeno. A pesar de que los porcentajes de gotas citoplásmicas y colas en látigo (< 7 y $< 11,3\%$, respectivamente) fueron superiores a lo esperado, el porcentaje de espermatozoides normales estuvo por encima del 70%, indicativo de que ninguno de los factores evaluados afectó de manera determinante la morfología. **Conclusión:** en las fincas no se aplicó correctamente la IA. La funcionalidad de las membranas se afectó por la interacción genotipo x técnica instrumental, por la técnica instrumental y por el genotipo. El semen más afectado fue el del genotipo PS.

Palabras clave: acrosoma, axila, espermática, inseminación, membrana.

Keywords: acrosome, armpit, insemination, membrane, spermatoc.

Efecto de la edad y del peso corporal al primer servicio sobre la fertilidad en novillas Cebú*

Effect of age and body weight at first service on fertility in Zebu heifers

Rubén D Uribe Valderrama¹, MV, MSc; Oscar Perea Eslava², MV.

*Financiado por: Empresa Ganadera Puerto Nuevo. ¹Programa de Medicina Veterinaria, Universidad de Santander – UDES, Colombia. ²Práctica privada.
E-mail: rubendaro10@hotmail.com

Introducción: los aspectos subjetivos al momento de seleccionar hembras de reemplazo han conllevado a utilizar novillas de bajo potencial reproductivo, disminuyendo la capacidad competitiva de una empresa ganadera. El uso de las medidas corporales, así como la edad, da una alternativa para realizar objetivamente la selección, logrando favorecer la fertilidad en los programas de inseminación artificial a tiempo fijo (IATF). **Objetivo:** relacionar la edad y el peso corporal al primer servicio con la fertilidad en novillas cebú, destinadas a programas de IATF. **Métodos:** las hembras del estudio estuvieron en un predio ubicado en municipio de Sabana de Torres (S). El tamaño de la muestra se determinó mediante una población de 200 vientres cebú blanco, y 95,5% de nivel de confianza con un error de 4%, que cumplieran los parámetros de inclusión; edad (≥ 20 meses), peso de ≥ 300 Kg y desarrollo del tracto reproductivo adecuado (ovarios ciclando, útero sin contenido patológico), condición corporal $\geq 2,5$. Los animales fueron evaluados por ecografía reproductiva, sometidos a un programa de sincronización de estros y 35 días después se determinó la preñez. **Resultados:** se estableció, una correlación positiva y alta entre la variable tasa de preñez y edad ($r = 0,956$). Para las variables peso y preñez ($r = -0,65$), igualmente para el diámetro del folículo dominante y tasa de preñez ($r = -0,93$), la correlación fue negativa y alta. De igual forma, se determinó que las hembras que obtuvieron mayores tasas de preñez, se encontraban en edades ≥ 41 meses, con pesos entre 335 - 350 Kg y diámetros foliculares $> 0,89$ a $\leq 1,09$ cm. **Conclusión:** la evaluación usando el peso corporal y la edad, genera una selección más objetiva de las novillas, destinadas a IATF, favoreciendo mejores resultados en los programas reproductivos a nivel de campo.

Palabras clave: *Bos indicus*, diámetro folículo dominante, medidas corporales.

Keywords: body measurements, *Bos indicus*, follicle diameter.

Efecto del ácido ascórbico sobre la criotolerancia de embriones bovinos *in vitro*

Ascorbic acid effect in cryopreservation of in vitro bovine embryos

John J Giraldo Giraldo¹, Zoot, Esp, MSc, Est Ph D; Natalia Jaramillo Bolívar², Biol, cMSc; Neil Vásquez Araque², Biol, MSc, PhD.

¹Corporación Universitaria Lasallista, Colombia. ²Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín.
E-mail: jogiraldo@lasallistadocentes.edu.co

Introducción: la vitrificación es una herramienta útil en tecnologías de reproducción asistida la cual puede ser usada como alternativa para la conservación de material genético. **Objetivo:** evaluar el efecto del antioxidante ácido ascórbico sobre la criotolerancia de embriones bovinos producidos *in vitro*. **Métodos:** En un modelo de bloques completos al azar, 60 embriones producidos *in vitro* fueron expuestos a una solución vitrificadora (SV) compuesta por dimetilsulfoxido DMSO + dimetilformamida DMF al 20%, suplementada con 0,5 M de sucrosa y 100 μ M de ácido ascórbico en medio TCM 199 y fueron empacados en pajillas abiertas y estiradas (open pulled Straw, OPS) para su inmersión en nitrógeno líquido. Los embriones vitrificados, fueron calentados en medio TCM-199 Hepes con 20% de suero fetal bovino SFB y 0,25 M de sucrosa, luego fueron transferidos a gotas de medio TCM-199 Hepes con 20% de SFB y 0,15 M de sucrosa y fueron cultivados en medio EVOLVE con 5% de SFB, 0,33 mM de piruvato de sodio, solución antibiótica y 100 μ M de ácido ascórbico a 38,5 °C. Se determinó el porcentaje de embriones re-expandidos y el mantenimiento del blastocele a las 24, 48 y 72 horas post-desvitrificación, y la tasa de eclosión. **Resultados:** el porcentaje promedio de re-expansión a las 72 horas mediante la prueba Shapiro-Wilk, muestra un 91,6% de re-expansión ($p < 0,05$) y la eclosión de los embriones observada post-cultivo *in vitro* fue de 70,3%, ($p < 0,05$). **Conclusión:** la inclusión del ácido ascórbico durante el cultivo y la vitrificación de embriones desvitrificados producidos *in vitro*, presenta una mayor criotolerancia, reflejada en mayores tasas de re-expansión y eclosión.

Palabras clave: *criopreservación, re-expansión, viabilidad embrionaria.*

Keywords: *cryopreservation, embryo viability, re-expansion.*

Efecto del método de extracción seminal sobre la calidad espermática mediante citometría de flujo en semen caprino criopreservado

Effect of the seminal extraction method over sperm quality by flow cytometry in cryopreserved goat semen

Leonardo Hernández Corredor¹, cPhD; Armando Quintero Moreno², PhD; Albeiro Torres Silva³, Zoot; Jorge Rubio Parada, cPhD¹; Mauricio Rojas López⁴, PostPhD.

¹Universidad Francisco de Paula Santander, Servicio Nacional de Aprendizaje, Universidad de Pamplona. ²Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela. ³Universidad de Pamplona -SIRA (SENA), Colombia. ⁴Universidad de Antioquia, Colombia.
E-mail: lehernandez@fa.luz.edu.ve

Introducción: la colección de semen es el paso inicial para implementar la utilización de la inseminación artificial, junto a la citometría de flujo, se ha cambiado la evaluación seminal en los últimos tiempos, y en la producción de semen caprino hasta ahora se hacen los primeros estudios. **Objetivo:** comparar la respuesta de dos métodos de extracción seminal, electroeyaculador (EE) y vagina artificial (VA) sobre la vitalidad (VE), integridad estructural de la membrana plasmática (IEMP) y daño mitocondrial (DM) de 220.000 espermatozoides provenientes de cuatro caprinos criollos. **Métodos:** se utilizaron dos diluyentes, uno con lecitina de soya (LS; citrato, fructosa, glicerol 7%) y el otro yema de huevo (YH; tris-citrato, fructosa, glicerol 6%). Una vez descongelado el semen, se tiñeron los espermios con tinciones fluorescentes de yoduro de propidio (PI) y DiOC₆, cuantificando los parámetros a valorar mediante un citómetro de flujo (BD FACSCanto II), lo cual generó cuatro grupos: 1 (PI+ DiOC₆+ : espermios muertos con daño en la membrana plasmática del espermatozoide), 2 (PI+ DiOC₆- : espermios moribundos), 3 (PI- DiOC₆- : espermios con daño mitocondrial) y 4 (PI- DiOC₆+ : espermios viables). Se realizó análisis estadístico mediante el programa SAS (V.9.1), con un arreglo factorial (ME: método, D: diluyente). **Resultados:** la VE post descongelación mostró diferencias significativas ($p \leq 0,01$) por el método de extracción (EE: $2,18 \pm 1,04$ % vs VA: $30,25 \pm 6,93$ %). Al igual DM (EE: $76,93 \pm 5,8$ % vs VA: $30,25 \pm 6,93$ %), para la IEMP no se observaron diferencias ($p \geq 0,005$). **Conclusión:** el método de extracción seminal VA presentó mejor desempeño en VE y DM, no diferenciándose del diluyente seminal. Como ya ha sido estudiado el uso del EE se obtiene un alto porcentaje de proteínas de bajo peso molecular, además se alteran los niveles de sodio y concentraciones de algunas proteínas en el plasma seminal, que pueden alterar la función de las mitocondrias y la vitalidad espermática.

Palabras clave: *caprino, espermia, método de extracción.*

Keywords: *extraction method, goat, sperm.*

Estadio de madurez sexual en toros jóvenes de la raza Nelore

Sexual maturity phase on Nelore young bulls

Camilo Ramírez López¹, MVZ; Clara Rugeles Pinto¹, MVZ, MSc; José Domingos Guimaraes², MV, MSc, PhD.

¹Universidad de Córdoba, Colombia. ²Universidade Federal de Vicosa, Brasil.
E-mail: camilo2407@gmail.com

Introducción: la madurez sexual en los toros, a diferencia del fenómeno presentado en las hembras, ocurre en distintos momentos de la pubertad, normalmente aconteciendo 16 a 20 semanas después de la pubertad. Esta fase del desarrollo somático animal es alcanzada cuando el crecimiento gonadal y corporal, conjuntamente con niveles de testosterona y desarrollo sexual se estabilizan. **Objetivo:** determinar el estado de madurez sexual de toros jóvenes de la raza Nelore y su relación con perímetro escrotal y características seminales. **Métodos:** se estudiaron 1.985 animales con edades comprendidas entre los 19 a 23 meses de edad, alimentados con pasturas tropicales (*Brachiaria brizantha*, *Brachiaria decumbes* y *Panicum maximum*) y evaluados a través de examen andrológico. Se valoraron las características físicas del eyaculado, morfología espermática, perímetro escrotal (PE) y formato testicular. Al examen andrológico los animales fueron clasificados como aptos a la reproducción (clase andrológica 1), aptos a la reproducción en régimen de monta natural (clase 2), no aptos para la reproducción temporalmente (clase 3) y descartados (clase 4). Para comparar las medias encontradas entre las clases andrológicas, se utilizó la prueba de Tukey con probabilidad del 5% de error y correlaciones simples de Pearson para verificar las relaciones entre las características estudiadas. **Resultados:** se encontró el 84,5% de los toros sexualmente maduros. El 39,75% de los animales aptos para la reproducción presentaron un PE mayor a 34 cm y sólo el 0,71% de la población estudiada exhibieron una circunferencia escrotal inferior a 28 cm. Se registraron correlaciones altas favorables entre PE y las características físicas del semen. Con relación al formato testicular el 100% de la población presentó testículos con formas alargadas, siendo el 10,1% largos, 88,5% largo-moderado y 1,4% largo oval. **Conclusión:** el PE es una excelente característica para evaluar y seleccionar toros jóvenes de la raza Nelore.

Palabras clave: evaluación andrológica, formato testicular, perímetro escrotal.

Keywords: andrological evaluation, scrotal perimeter, testicular shape.

Estandarización de la técnica de clonación manual y comparación con las técnicas de partenogénesis y fertilización *in vitro* en la producción y calidad de embriones bovinos

Standardizing handmade cloning technique and comparing parthenogenesis, and in vitro fertilization techniques in the production of bovine embryos and their quality

Natalia A Gómez Morales, Ing Biol, cMSc; Mónica M Ramírez Hernández, MV, MSc; Zulma T Ruiz Cortés, MV, MSc, PhD, PD.

Grupo de Investigación Biogénesis, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, Colombia.
E-mail: nataliogomezmo@gmail.com

Introducción: la clonación por transferencia nuclear (TN) es un instrumento que permite la multiplicación de animales de alto valor genético y fenotípico para fines productivos, además abre la posibilidad de crear animales transgénicos con propósitos agropecuarios y/o biomédicos. Procesos de clonación y controles partenogénéticos se presentan como una herramienta para el estudio de procesos biológicos tales como reprogramación celular, epigenética, activación del genoma embrionario y crecimiento pre y pos natal. **Objetivo:** estandarizar el proceso de clonación manual (CM) en condiciones locales y comparar las tasas de producción y calidad embrionaria entre clones y embriones obtenidos por partenogénesis y fertilización *in vitro* (FIV) en bovinos. **Métodos:** el cultivo primario de fibroblastos se estableció a partir de explantes de oreja, con dichos fibroblastos se estandarizó la técnica de clonación manual y se realizaron 10 procedimientos de clonaje, partenogénesis y FIV, la comparación de la producción y calidad embrionaria se realizó por medio de un ANOVA. **Resultados:** se estableció el cultivo de fibroblastos con características óptimas para ser usados como donantes del material genético necesario para el proceso de clonación. El grupo partenotes sin zona (PSZ) tuvo un mayor clivaje comparado con los demás grupos ($p < 0,05$). La producción de blastocistos entre clones (CL), partenotes con zona (PCZ), PSZ y FIV no presentó diferencia estadística significativa 29,7, 37,6, 33,8 y 35,2% respectivamente ($p > 0,05$). El número de blastómeros fue mayor para el grupo FIV ($109,81 \pm 11,70$) con respecto a PCZ ($73,73 \pm 7,09$), PSZ ($78,16 \pm 7,65$) y CL ($77,5 \pm 8,23$). **Conclusión:** se logró la estandarización de la técnica de CM y se obtuvo una tasa de producción embrionaria similar en todos los grupos, lo que abre posibilidades de investigación para el entendimiento de procesos biológicos de desarrollo embrionario, además de contribuir a la optimización de la técnica con fines comerciales en nuestro país.

Palabras clave: biología celular, material genético, técnicas de reproducción asistida.

Keywords: assisted reproductive techniques, cell biology, genetic material.

Evaluación computarizada del semen de búfalo (*Bubalus bubalis*) de las razas Murrah y Mediterránea

Computerized analysis of buffalo (*Bubalus bubalis*) semen of the Murrah and Mediterranean breeds

Benjamín Londoño Soto¹, Est Zoot; Daniel F Serna Gómez¹, Est Zoot; Luis F Gallego Arcila¹, Est Zoot; Sergio Montoya Botero¹, Est Zoot; Diana M Bolívar Vergara¹, Zoot, MSc, PhD; Jesús A Berdugo Gutiérrez², MV, MSc.

¹Grupo Pro-búfalos, Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín. ²Centro Latinoamericano para el Estudio del Búfalo, Medellín, Colombia.
E-mail: blondonos@hotmail.com

Introducción: la inseminación artificial con semen congelado en búfalos, tiene limitaciones asociadas con el poco conocimiento de los parámetros seminales post-descongelación. El análisis computarizado del semen (CASA) permite analizar los diferentes patrones de motilidad espermática en una muestra de semen. **Objetivo:** evaluar mediante análisis computarizado características del semen de búfalos de las razas Murrah y Mediterránea. **Métodos:** con un analizador CASA-IVOS Hamilton Thorne, se evaluaron ocho parámetros que describen la movilidad y uno sobre la morfología: velocidad media (VAP), velocidad curvilínea (VCL), velocidad rectilínea (VSL), amplitud de batido (ALH), frecuencia de batido (BCF), linealidad (LIN), rectilinealidad (STR), elongación (ELO) y área de la cabeza (AREA) en semen de las razas Murrah (10) y Mediterránea (3). Los parámetros del semen de las dos razas se compararon mediante la prueba de Manwhitney. **Resultados:** la concentración y movilidad fueron 23×10^6 esp/mL y 75% para el semen Mediterráneo y 69×10^6 y 91% en Murrah. Los resultados del análisis computarizado para semen Mediterráneo fueron: VAP ($88,43 \pm 35$ um/s), VCL ($142,5 \pm 62$ um/s), VSL ($80,20 \pm 35,2$ um/s), ALH ($4,53 \pm 1,87$), BCF ($45,1 \pm 10,23$ Hz), LIN ($56,67 \pm 16,63\%$), STR ($88,8 \pm 14,67\%$), ELO ($57 \pm 10,43\%$) y AREA ($4,93 \pm 1,47$ um²). Para Murrah: VAP ($53,59 \pm 33,18$ um/s), VCL ($94 \pm 53,63$ um/s), VSL ($41,52 \pm 29,40$ um/s), ALH ($6,15 \pm 2,59$), BCF ($29,24 \pm 12,82$ Hz), LIN ($43,70 \pm 18,60\%$), STR ($75,1 \pm 19,80\%$), ELO ($50,70 \pm 12,82\%$) y AREA ($4,93 \pm 2,43$ um²). Las dos razas presentaron diferencias significativas ($p < 0,05$) en todos los parámetros de movilidad, mientras que el AREA fue similar. **Conclusión:** el semen analizado cumple con los requisitos de la autoridad sanitaria nacional para ser usados comercialmente. El semen de búfalos Mediterráneo presentó mejores parámetros de movilidad. Es necesario realizar futuras investigaciones para determinar los parámetros que están asociados a fertilidad *in vivo* e *in vitro*.

Palabras clave: C.A.S.A, evaluación post-descongelación, motilidad.

Keywords: C.A.S.A, motility, post-defrost evaluation.

Evaluación de dos métodos de inseminación artificial en ovinos bajo tres sistemas de producción en el municipio de Soracá, Boyacá (Colombia)

Assessment of two artificial insemination methods in sheep on three farm systems at municipality of Soracá, Boyacá (Colombia)

Daniel F González Mendoza, MVZ, Esp; Erika E Toloza Gordillo, Mat; Yohana M López Robles, MV; Beiman Salamanca Rincón, MV.

Grupo de investigación -INPANTA, Facultad de Ciencias Agrarias, Programa de Medicina Veterinaria, Fundación Universitaria Juan de Castellanos Tunja, Boyacá, Colombia.
E-mail: dgonzalez@jdc.edu.co

Introducción: los pequeños rumiantes constituyen una de las producciones estratégicas de gran relevancia social en los sistemas de explotación pecuaria; lo anterior, se da gracias a la difusión que presenta especialmente la especie ovina dentro de las granjas, por su alta demanda de lana y carne para la elaboración de productos artesanales y de consumo, respectivamente. La inseminación artificial se ha convertido en una herramienta apropiada en el proceso de mejora genética por lo cual es importante la evaluación de sus respuestas con miras a buscar mayor eficiencia durante su implementación. La mayoría de explotaciones ovinas del municipio de Soracá presentan sistemas productivos con poca o baja introducción de prácticas biotecnológicas. **Objetivo:** evaluar dos métodos de inseminación artificial mediante las tasas de preñez en ovinos bajo tres sistemas productivos. **Métodos:** el trabajo se realizó en el sistema extensivo, semi-intensivo e intensivo con diferentes manejos nutricionales, sanitarios y reproductivos. Los métodos de inseminación artificial empleados fueron: laparotomía intrauterina y vaginal cervical, la muestra fue de 42 hembras, 14 para cada uno de los tres sistemas. El análisis estadístico se realizó con el programa SPSS versión 19.0. **Resultados:** los resultados obtenidos en la investigación presentaron diferencias significativas, con un valor p de ($p \leq 0,05$) con el método de laparotomía se obtuvieron tasas de preñez de 28,6% en los tres sistemas, mientras el método de vaginal cervical para los tres sistemas presentó una tasa de preñez de 19%. **Conclusión:** se concluye que el método más efectivo de inseminación artificial en ovinos es por laparotomía intrauterina, dado que la respuesta a los índices de preñez es mucho mejor por el método vaginal cervical; sin embargo para el método vaginal cervical, los resultados de tasa de preñez son moderados comparados con el método de laparotomía intrauterina.

Palabras clave: biotecnología, explotación, mejoramiento genético, ovejas, preñez.

Keywords: biotechnology, farm, genetic improvement, pregnancy, sheep.

Evaluación de dos preparaciones antibióticas en la criopreservación de semen equino

Evaluation of two antibiotic preparations in stallion semen cryopreservation

Leonardo Rodríguez Mazo, Ing Agrop; Juan E Duque Cortés, Ing Agrop; Giovanni Restrepo Betancur, Zoot, MV, MSc, PhD.

Facultad de Ciencias Agrarias, Politécnico Colombiano Jaime Isaza Cadavid, Medellín, Colombia.

E-mail: leroma03@hotmail.com

Introducción: los antibióticos son comúnmente utilizados en los diluyentes para semen equino, con el fin de controlar la proliferación de microorganismos como hongos y bacterias. Sin embargo, éstos pueden afectar negativamente la viabilidad de los espermatozoides. **Objetivo:** evaluar el efecto de dos preparaciones antibióticas, sobre la proliferación microbiológica y la calidad de semen equino sometido a criopreservación. **Métodos:** se colectó el semen de 10 caballos criollos colombianos mediante el método de vagina artificial. El semen fue criopreservado por congelación convencional en un diluyente suplementado con dos preparaciones antibióticas: P1 (penicilina 10.000 UI/mL, estreptomicina 10 mg/mL y anfotericina B 25 µg/mL) y P2 (penicilina 10.000 UI/mL, estreptomicina 10 mg/mL), se incluyó un control sin antibióticos. Post-descongelación, se realizó la evaluación de la movilidad total (MT) y progresiva (MP) con un sistema computarizado (SCA). Se realizó el conteo de unidades formadoras de colonias (UFC/mL) para bacterias y hongos, después del cultivo de muestras de semen en los agaros nutritivo (dos días) y PDA (8 días), respectivamente. El análisis estadístico se realizó mediante modelos lineales generalizados (GLM) y la comparación de medias por Tukey. **Resultados:** se encontraron diferencias ($p \leq 0,05$) para MT (%) entre P1 ($32,2 \pm 17,6a$), P2 ($34,4 \pm 19,1a$) y control ($39,7 \pm 16,5b$), al igual que para MP (%) entre P1 ($15,5 \pm 14,8a$), P2 ($17,9 \pm 16,5b$) y control ($19,6 \pm 14,1b$). Respecto a la proliferación microbiana se encontró diferencia significativa ($p \leq 0,05$), para bacterias (UFC/mL) entre P1 ($167,7 \pm 237,1a$), P2 ($240,1 \pm 321,0a$) y control ($464,4 \pm 448,5b$), mientras para hongos no se encontraron diferencias ($p \geq 0,05$). **Conclusión:** el uso de preparaciones de antibióticos basadas en penicilina, estreptomicina y anfotericina B, en la criopreservación de semen equino, reduce la proliferación de bacterias, pero produce una reducción en la movilidad espermática post-descongelación.

Palabras clave: bacterias, fertilidad, hongos.

Keywords: bacteria, fertility, fungi.

Evaluación de la alfalfa como coadyuvante en tratamientos de sincronización de celos en cabras criollas en el municipio de Jericó Boyacá, Colombia

Evaluation of the effect of alfalfa as adjuvant in synchronization treatments of creole goats in Jericó town, Boyacá, Colombia

Daniel F González Mendoza, MVZ, Esp; Jimmy F Avendaño Paredes, Ing Agrop; Erika E Toloza Gordillo, Mat; Yesid O González, MVZ, PhD.

Grupo de investigación INPANTA, Programa de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias Agraria, Fundación Universitaria Juan de Castellanos Tunja, Boyacá, Colombia.

E-mail: dgonzalez@jdc.edu.co

Introducción: en la zona de estudio la baja productividad y la alta consanguinidad son causadas por un manejo reproductivo inadecuado, y pueden ser tratadas con el uso de biotecnologías que solucionen estos problemas, y sean una opción a tener en cuenta por los productores caprinos, sumado que la alfalfa es el forraje más común en la región y no se conoce la interacción de esta a la implementación de tratamientos de sincronización. **Objetivo:** evaluar el efecto de la utilización de alfalfa en la dieta como coadyuvante de métodos de sincronización de celos en cabras criollas en el municipio de Jericó, Boyacá, **Métodos:** se utilizó una muestra de 40 hembras caprinas entre los 10 meses y 4 años de edad, todas con una condición corporal entre 2,5 y 3,5, adecuado estado sanitario, y no gestantes, estas fueron separadas en cuatro grupos al azar, el rango promedio de edad en los cuatro grupos fue de 12 a 24 meses de edad; evaluado por medio de cronometría y registros de la finca, se les administro a la mitad de ellas una dieta con un suplemento de alfalfa y al resto la dieta control con las mismas características nutricionales de la alfalfa, en través de concentrado comercial a base maíz y palmiste. Se aplicó a todas métodos de sincronización con esponjas intravaginales impregnadas con progesterona, dos de los cuatro grupos se les suministro estratégicamente gonadotropina coriónica equina purificada 200 UI/mL con suministro de alfalfa y el otro con la dieta control. **Resultados:** de los 20 animales sometidos a la dieta de alfalfa 14 quedaron gestantes que corresponden al 70% y 6 (30%) no quedaron gestantes, con el tratamiento 2, de los 20 animales sometidos a la dieta control, 11 gestantes el 55% y el 45% no quedaron gestantes. Con la prueba de Chi-cuadrado nivel de confianza del 95% donde se acepta la hipótesis nula de independencia entre las variables. **Conclusión:** el beneficio de la utilización de alfalfa como coadyuvante de tratamientos de sincronización en caprinos; y la aplicación de gonadotropina coriónica equina 200 UI/mL en tratamientos de sincronización de caprinos.

Palabras clave: biotecnología, caprinos, DIV, eCG, IATF.

Keywords: biotechnology, DIV, eCG, goats, IATF.

Evaluación de la calidad espermática post-descongelación de semen bovino criopreservado con el diluyente Triladyl® y suplementado con alfa-tocoferol

Evaluation of sperm quality after thawing of cryopreserved bovine semen diluent with Triladyl® and supplemented with alpha-tocopherol

Diego F Carrillo González¹, MVZ, MSc; José M Hernández Agudelo², Est MV; Leidy J Henao Henao³, Est MV; Tatiana I Perea Rueda³, Est MV.

¹Línea de Investigación en Teriogenología, Grupo de Investigación CENTAURO, Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. ²Línea de Investigación en Epidemiología y Salud Pública, Grupo de Investigación CENTAURO, Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, Colombia. ³Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, Colombia.
E-mail: fernando.carrillo@udea.edu.co

Introducción: la criopreservación de semen permite el almacenamiento de material genético para su futura utilización, sin embargo, se ha evidenciado que el semen bovino sometido a esta técnica presenta alteraciones estructurales y de toxicidad, disminuyendo su capacidad fecundante post-descongelación. En los últimos años se han probado compuestos tales, como los antioxidantes, que permitan garantizar una mayor calidad seminal después de la congelación, sin embargo algunos diluyentes comerciales, no contienen estos compuestos. **Objetivo:** evaluar la calidad espermática post-descongelación del semen bovino criopreservado con el diluyente comercial Triladyl® el cual fue suplementado con alfa tocoferol a una concentración de 50 µM. **Métodos:** se realizó un protocolo de recolección de semen con electroeyaculador, la muestra seminal se diluyó con Triladyl® y se refrigeró para ser transportada a la unidad de biotecnología reproductiva (UBR) de la Universidad de Antioquia, allí se realizó una segunda dilución llevando el semen a una concentración de 80 x 10⁶ espermatozoides/mL, en donde se adicionó el antioxidante. Posteriormente fueron empacadas en pajillas de 0,5 mL y llevadas a refrigeración por 4 horas. Se realizó una técnica de criopreservación por método rápido. **Resultados:** al azar se descongelaron pajillas de semen control y las suplementadas en donde se analizaron bajo visión de microscopio, el vigor (2,77 ± 0,38 y 2,69 ± 0,42 respectivamente), la movilidad individual (39,8 ± 7% y 43 ± 8%) y vitalidad (89,9 ± 8,5% y 89,4 ± 6,8%) del semen. No se encontró diferencia significativa (p<0,05) sobre la calidad del semen congelado y suplementado con alfa tocoferol. **Conclusión:** el proceso de suplementación de Triladyl® con alfa-tocoferol, no tiene efecto aditivo sobre la calidad espermática pos-descongelación. Se sugiere realizar más estudios.

Palabras clave: antioxidante, biotecnología, congelación, reproducción.

Keywords: antioxidant, biotechnology, freezing, reproduction.

Evaluación de la concentración y los niveles de oxidación de proteínas del plasma seminal de asnos criollos colombianos

Assessment of concentration and oxidation levels of seminal plasma proteins of Colombian creole donkeys

Giovanni Restrepo Betancur¹, Zoot, MV, MSc, PhD; Juan D Montoya Paéz¹, Ing Agrop; Benjamín Alberto Rojano², Qco, MSc, PhD.

¹Facultad de Ciencias Agrarias, Politécnico Colombiano Jaime Isaza Cadavid, Medellín, Colombia. ²Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín.

E-mail: grestrepo@elpoli.edu.co

Introducción: las proteínas del plasma seminal participan en la maduración, la capacitación, la fecundación y la unión de los espermatozoides al aparato genital femenino, e incluso se han asociado con la criotolerancia del semen. La oxidación de las proteínas del plasma seminal a causa del estrés oxidativo, puede alterar dichas funciones. En equinos, se ha observado una reducción de la movilidad y la vitalidad espermática producto de la oxidación proteica. **Objetivo:** evaluar la concentración y los niveles de oxidación de las proteínas del plasma seminal de asnos criollos colombianos. **Métodos:** El semen de 4 asnos criollos colombianos (2 eyaculados por animal) se colectó por el método de vagina artificial. Se realizó la separación del plasma seminal mediante la centrifugación del semen a 1200 x g durante 15 minutos. Se evaluó la concentración de las proteínas del plasma seminal por el método de Bradford, basado en la detección colorimétrica en un espectrofotómetro a 595 nm. La oxidación de las proteínas del plasma seminal se evaluó por la medición del contenido de grupos carbonilo en el plasma, cuantificada espectrofotométricamente a través de su reacción con DNPH (2,4-dinitrofenilhidrazina) a 360 nm. Las lecturas se hicieron por triplicado. Se realizó un análisis estadístico descriptivo y la comparación de medias por animal mediante la prueba de Tukey. **Resultados:** Se encontraron valores promedio de concentración proteínas de 12,84 ± 1,42 mg BSA/mL y de oxidación proteica de 0,018 ± 0,013 nMol carbonilos/mg de proteína. Se hallaron diferencias estadísticas (p<0,05) entre los asnos evaluados, para la concentración de proteínas: 14,5 ± 1,1a; 13,3 ± 0,3a; 12,8 ± 1,2a y 10,7 ± 1,0b; y la oxidación proteica: 0,023 ± 0,014a; 0,012 ± 0,001b; 0,010 ± 0,001bc y 0,08 ± 0,001c. **Conclusión:** Es posible evaluar los niveles de proteínas y oxidación proteica en el plasma seminal de ejemplares asnales. En estos resultados preliminares son evidentes las diferencias entre individuos.

Palabras clave: équidos, estrés oxidativo, fertilidad.

Keywords: equids, fertility, oxidative stress

Evaluación de parámetros poblacionales de la tortuga Caná (*Dermodochelys coriacea*) en la Playona, Chocó*

Evaluation of population parameters of the leatherback sea turtle (Dermodochelys coriacea) at La Playona, Chocó

Laura B Bernal Ortega¹, Est MV; Carol E Rodríguez Rugeles¹, Est MV; María P Vélez Montoya¹, Est MV; Claudia P Ceballos Fonseca¹, MV, PhD; Feliciano Chaverra², Bach.

*Financiado por: Facultad de Ciencias Agrarias, Comité para el Desarrollo de la Investigación -CODI, Universidad de Antioquia, Colombia. ¹Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. ²Fundación Mamá Basilia. E-mail: laurita24_11@hotmail.com

Introducción: la tortuga Caná se encuentra clasificada según la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza como una especie críticamente amenazada (CR) en Colombia y vulnerable (VU) a nivel mundial. **Objetivo:** analizar información secundaria colectada entre el 2008 y 2012 para estimar parámetros poblacionales de la colonia de *Dermodochelys coriacea* que anida en la Playona, Chocó: número de hembras anidantes anual, morfometría, tamaño del nido e intervalo de reanidación. **Métodos:** las variables poblacionales fueron calculadas usando estadística descriptiva y correlaciones lineales en el software R. **Resultados:** el número de hembras avistadas por temporada fue de 211 en 2008, 136 en 2009, 162 en 2010 y 264 en 2012 que corresponde a un total de 773 hembras durante los 4 años de estudio, de las cuales sólo el 77% anidó. El promedio del largo curvo del caparazón fue de 150 cm (rango: 94 - 178 cm) y el del ancho curvo del caparazón fue de 109 cm (rango: 54 - 150,5 cm). El tamaño del nido promedio fue de 107 huevos (72,4% fértiles y 27,6% infértiles), el cual no se asoció a la morfometría de la hembra ni al número de anidaciones por temporada. El 75% de las hembras se avistó una vez en la misma temporada y el intervalo de remigración fue de dos años. **Conclusión:** los datos analizados deben considerarse como la actividad mínima de la especie en esta playa. Los datos sugieren que no hay una tendencia de cambio poblacional sostenida, es decir ni aumenta ni disminuye en forma constante en el tiempo analizado. Se sugiere continuar con el monitoreo en forma sistemática para cubrir una ventana de tiempo más amplia que pueda evidenciar el estado de conservación real de esta población.

Palabras clave: conservación, *Dermodochelyidae*, Mar Caribe, tortuga marina.

Keywords: Caribbean Sea, conservation, *Dermodochelyidae*, sea turtle.

Evaluación de un diluyente formulado para la congelación de semen equino

Assessment of a formulated extender for freezing stallion semen

Juan E Duque Cortés, Ing Agrop; Juan D Montoya Páez, Ing Agrop; Giovanni Restrepo Betancur, Zoot, MV, MSc, PhD.

Facultad de Ciencias Agrarias, Politécnico Colombiano Jaime Isaza Cadavid, Medellín, Colombia. E-mail: duque8778@hotmail.com

Introducción: la criopreservación de semen es un proceso fundamental para el desarrollo de tecnologías de reproducción asistida en equinos. El estudio de diferentes formulaciones de diluyentes para la congelación de semen equino, se ha constituido en alternativa para mejorar la calidad seminal post-descongelación. **Objetivo:** formular y evaluar un diluyente para la congelación de semen equino. **Métodos:** el semen de tres caballos de la raza Criollo Colombiano fue colectado por el método de vagina artificial (tres eyaculados por animal). El semen fue sometido a congelación convencional, en presencia de un diluyente formulado en base a leche descremada, caseinatos de sodio, sacarosa (0,5M) y plasma seminal equino (10%). A modo de control una fracción de cada eyaculado fue congelada en el diluyente INRA96[®]. Al momento de la congelación ambos diluyentes fueron suplementados con dimetilformamida (5%) y yema de huevo (4%). Post-descongelación, se evaluaron mediante un sistema computarizado (SCA[®]), los parámetros de movilidad total (MT), movilidad progresiva (MP), velocidad curvilínea (VCL), velocidad lineal (VSL) y velocidad media (VAP). Mientras la vitalidad espermática (VE), la morfología normal (MN) y la integridad de la membrana plasmática (HOS), se evaluaron mediante los ensayos SYBR/IP, eosina-nigrosina y test hipoosmótico, respectivamente. Se ajustaron modelos mixtos y las medias se compararon por la prueba de Tukey. **Resultados:** se encontraron resultados para MT (38,9 ± 1,5a y 41,1 ± 1,4a), MP (10,4 ± 1,4a y 11,9 ± 1,3b), VCL (51,6 ± 1,6a y 52,8 ± 1,6a), VSL (21,7 ± 1,5a y 22,9 ± 1,5a), VAP (31,9 ± 1,6a y 33,7 ± 1,6a), VE (35,3 ± 1,8a y 41,4 ± 1,8b), MN (75,2 ± 1,0a y 76,4 ± 1,0a) y HOS (31,1 ± 2,0a y 32,9 ± 1,9a) para los diluyentes formulado e INRA 96[®], respectivamente. **Conclusión:** el diluyente formulado, es equiparable en términos de calidad seminal post-descongelación al diluyente INRA 96[®], con la excepción de la MP y la VE, donde INRA 96[®] mostró ser superior.

Palabras clave: Caballo Criollo Colombiano, calidad espermática, criopreservación.

Keywords: Colombian Creole Horse, cryopreservation, sperm quality.

Evaluación del efecto de la centrifugación sobre los espermatozoides equinos mediante tres ensayos fluorescentes

Evaluation of centrifugation effect on equine spermatozoa by three fluorescent assays

Jésica M Cantero Nanclares, Ing Agrop; Juan D Montoya Paéz, Ing Agrop; Giovanni Restrepo Betancur, Zoot, MV, MSc, PhD.

Facultad de Ciencias Agrarias, Politécnico Colombiano Jaime Isaza Cadavid, Medellín, Colombia.

E-mail: jescant91@hotmail.com

Introducción: la centrifugación es utilizada para la separación de los espermatozoides equinos del plasma seminal, con fines de concentración, procesamiento o criopreservación. Sin embargo, se conoce el efecto deletéreo que ésta puede ejercer sobre las células espermáticas. Los ensayos fluorescentes para la evaluación de la calidad seminal, permiten realizar mediciones más objetivas y precisas. **Objetivo:** evaluar el efecto de la centrifugación sobre los espermatozoides equinos mediante tres ensayos fluorescentes. **Métodos:** se colectó el semen de 10 caballos criollos colombianos por el método de vagina artificial. El semen fue diluido en proporción 1:1 y cada muestra fue dividida en cuatro alícuotas, entre las cuales, tres fueron centrifugadas de forma separada a una de tres fuerzas de centrifugación (600, 1.200 y 1.800 g), durante 10 minutos. La cuarta alícuota no fue centrifugada (control). Cada ensayo se realizó por triplicado. Se evaluó el potencial de membrana interna mitocondrial (PMM), la vitalidad espermática (VE) y la integridad del acrosoma (IA), mediante los ensayos fluorescentes JC1, SYBR/IP y FITC/PNA, respectivamente. Las lecturas se realizaron en un microscopio de fluorescencia mediante el conteo individual de 200 espermatozoides. La evaluación estadística se realizó mediante el ajuste de modelos lineales generalizados y las medias se compararon por la prueba de Tukey. **Resultados:** se encontraron valores promedio y diferencias estadísticas ($p \leq 0,05$), para PMM (%) de $62,7 \pm 10,9a$, $53 \pm 12,7b$, $51,9 \pm 15,7b$ y $48,8 \pm 16,3b$; para VE (%) de $54,4 \pm 13,6a$, $48,1 \pm 8,7a$, $47 \pm 14,5a$ y $45,9 \pm 15,5b$; y para IA (%) de $75,5 \pm 14,1a$; $66,8 \pm 15,2b$, $66 \pm 14,8b$ y $63 \pm 15,1b$, para los tratamientos control, 600 g, 1.200 g y 1.800 g, respectivamente. **Conclusión:** la centrifugación altera el PMM, la IA y la VE de los espermatozoides equinos. La vitalidad espermática presenta una mayor tolerancia a los efectos deletéreos de la centrifugación.

Palabras clave: acrosoma, mitocondria, semen, vitalidad.

Keywords: acrosome, mitochondria, sperm, vitality.

Evaluación del efecto de suplementación del diluyente AndroMed® con alfa-tocoferol sobre la calidad espermática pos-descongelación en semen bovino

Evaluation of the effect of supplementation of AndroMed® extender with alpha-tocopherol on sperm quality after thawing in bovine semen

Diego F Carrillo González¹, MVZ, MSc; José M Hernández Agudelo², Est MV; Leidy J Henao Henao³, Est MV; Tatiana I Perea Rueda³, Est MV.

¹Línea de investigación en Teriogenología, Grupo de investigación CENTAURO, Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia. ²Línea de Investigación en Epidemiología y Salud Pública, Grupo de Investigación CENTAURO, Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia. ³Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia.

E-mail: fernando.carrillo@udea.edu.co

Introducción: la calidad fecundante de los espermatozoides sometidos a procesos de criopreservación se afecta negativamente debido a las alteraciones estructurales y de toxicidad, asociadas a la producción de especies reactivas de oxígeno durante la congelación. Por lo tanto la adición de antioxidantes durante el proceso de criopreservación podría reducir tal efecto. **Objetivo:** evaluar el efecto del alfa tocoferol sobre la calidad espermática en semen bovino procesado con el diluyente Andromed®. **Métodos:** se utilizaron seis toros adultos de diferentes grupos raciales que fueron colectados mediante electroeyaculación con PulsatorIV®, las muestras seminales se diluyeron con Andromed®, refrigeraron y transportaron a la Unidad de Biotecnología Reproductiva de la Universidad de Antioquia, en donde se realizó una segunda dilución a una concentración final de 80×10^6 espermatozoides/mL, la mitad de la dilución fue suplementada con alfa tocoferol a $50 \mu\text{M}$. Ambas fracciones fueron empacadas en pajillas de 0,5 mL y refrigeradas por cuatro horas. Se utilizó la técnica de criopreservación por método rápido en nitrógeno líquido. Los resultados fueron analizados mediante la aplicación de una ANOVA y comparación entre medias por test de Tukey. **Resultados:** se descongelaron 60 pajillas de cada tratamiento (con y sin suplemento de antioxidante) y fueron analizadas bajo visión con microscopio de contraste. Se encontró que el vigor fue de $1,56 \pm 0,42$ y $1,12 \pm 0,27$, la movilidad individual el $6 \pm 2\%$ y $2 \pm 1\%$ y en la vitalidad porcentajes del $75,5 \pm 17\%$ y $80,5 \pm 21\%$ respectivamente. No se observó diferencia significativa ($p < 0,05$) entre los tratamientos. **Conclusión:** el diluyente AndroMed® al ser suplementado con alfa tocoferol $50 \mu\text{M}$, no presenta efectos aditivos sobre la calidad seminal respecto al diluyente no suplementado. Se sugiere realizar pruebas sobre la osmolaridad en el diluyente al y hacer mediciones de la producción de especies reactivas de oxígeno en espermatozoides criopreservados.

Palabras clave: antioxidante, biotecnología, congelación, producción animal, reproducción.

Keywords: animal production, antioxidant, biotechnology, freezing, reproduction.

**Evaluación en fresco y post-descongelación
de los parámetros de calidad seminal en la especie ovina
(*Ovis aries*) en el municipio de Bello (Antioquia)**

***Evaluation in fresh and post-thawing of seminal quality
parameters in sheep specie (*Ovis aries*) in Bello town
(Antioquia)***

Jonathan A Agredo Palechor¹, Ing Agrop; Juan C Álvarez Balvin², Ing Agrop,
MSc; Mónica M Ramírez Hernández², MV, M.Sc.

¹Universidad del Cauca, Colombia. ²Grupo de Investigación en Biotecnología
Animal -GIBA, Politécnico Colombiano Jaime Isaza Cadavid, Colombia.
E-mail: jhonalex94@hotmail.com

Introducción: para la adopción de tecnologías y manejo de parámetros reproductivos de la especie ovina, se planteó la evaluación seminal para estimar el potencial reproductivo del carnero. **Objetivo:** evaluar en fresco y post descongelación parámetros de calidad seminal ovina, involucrando la caracterización del sistema productivo. **Método:** se analizaron condiciones productivas para posterior selección de dos reproductores de la raza Katahdin y uno Santa Inés, entre uno y cuatro años de edad; se obtuvo en fresco un promedio de 4,3 eyaculados por animal diluido en Andromed[®], y 58 pajillas post-descongelación. Se evaluó la movilidad total (MT) y progresiva (MP), velocidades curvilínea (VCL), rectilínea (VSL) y media (VAP), morfología (AN), integridad de membrana (HOST) y vitalidad (VIT) mediante el sistema análisis seminal (CASA). Los datos fueron analizados en SAS 9.0. **Resultados:** se encontró diferencia significativa ($p < 0,05$) en el efecto de congelación-descongelación para la mayoría de las variables excepto AN; obteniendo los siguientes resultados en fresco y post-descongelado respectivamente: MT $93,39 \pm 3,98\%$ y $41,20 \pm 20,66\%$; MP $83,47 \pm 6,69\%$ y $27,64 \pm 16,61\%$; VCL $155,54 \pm 15,81 \mu\text{m/s}$ y $108,50 \pm 22,86 \mu\text{m/s}$; VSL $79,49 \pm 21,47 \mu\text{m/s}$ y $52,94 \pm 18,53 \mu\text{m/s}$; VAP $120,48 \pm 17,56 \mu\text{m/s}$ y $88,92 \pm 22,88 \mu\text{m/s}$; AN $7,47 \pm 5,22\%$ y $7,79 \pm 6,13\%$, HOST $77,07 \pm 9,27\%$ y $35,09 \pm 11,59\%$; VIT $87,64 \pm 5,74\%$ y $36,28 \pm 16,74\%$ con la técnica eosina-nigrosina y VIT $40,74 \pm 13,76\%$ por fluorescencia post-descongelación. La comparación de medias entre machos reportó diferencia significativa ($p < 0,05$). **Conclusión:** la calidad seminal en fresco está en el rango reportado para la especie, con una reducción significativa post-descongelación; identificando mediante el análisis descriptivo una posible interacción de aspectos claves como raza y edad, sobre la calidad y la estandarización del procesamiento del material seminal ovino.

Palabras clave: calidad seminal, caracterización, congelación, descongelación, especie ovina, sistema CASA.

Keywords: CASA system, characterization, freezing, seminal quality, sheep specie, thawing.

**Evaluación seminal de toros en servicio natural en sistemas
de producción lechera con pastoreo rotacional**

***Seminal evaluation of natural service bulls in dairy
production systems with rotational grazing***

Dario A Vallejo Timarán¹, MV, Esp; Carlos A Chaves Velásquez¹, MV, Esp; Jean P Erazo Ruiz², MV, Esp; Juan M Astaiza Martínez¹, MV, MSc; Bolívar Lagos Figueroa³, MV, Esp.

¹Grupo de Investigación en Medicina Interna y Farmacología Veterinaria.
Universidad de Nariño, Colombia. ²Práctica privada. ³Grupo de Investigación
BUIATRIA. Universidad de Nariño, Colombia.
E-mail: dariovallejo1@gmail.com

Introducción: en condiciones de monta natural (manejo reproductivo predominante en los departamentos de Nariño y Putumayo) se debe aplicar un método adecuado para evaluar, monitorear y mejorar el desempeño de los toros. En la región, se desconoce la aptitud reproductiva de los reproductores, no se seleccionan los toros por calidad seminal y no se conoce si el sistema de pastoreo limita la eficiencia de los toros destinados a la reproducción. **Objetivo:** evaluar la calidad seminal de toros en servicio rotacional en sistemas de producción lechera con pastoreo rotacional y rotacional en estaca. **Métodos:** se realizó un estudio cualitativo de tipo descriptivo en sistemas de producción lechera de Nariño y Putumayo en 48 toros mestizos seleccionados con base en el criterio de inclusión (toros en servicio natural, con libido y capacidad de monta alta, con crías nacidas o hembras servidas y confirmadas) de sistemas de pastoreo rotacional “tradicional” con pasturas naturales; pastoreo rotacional “en estaca” con pasturas naturales y pastoreo rotacional “en estaca” con pasturas mejoradas. Se realizó examen clínico, cuadro hemático, parcial de orina, medición de circunferencia escrotal y se tomaron dos muestras seminales por toro mediante electroeyaculación determinando: densidad, motilidad masal, motilidad individual, proporción espermatozoides vivos/muertos y morfología espermática. Se clasificaron como satisfactorios, insatisfactorios o diferidos. **Resultados:** en los sistemas rotacionales “en estaca” se encontraron toros insatisfactorios en un 75% (pasturas naturales) y 50% (pasturas mejoradas). En el sistema rotacional tradicional el 87,5% de los toros fueron satisfactorios y ningún toro fue clasificado insatisfactorio. **Conclusión:** el estudio permitió determinar un mejor desempeño reproductivo de los toros que provienen de sistema rotacional tradicional. Lo anterior puede explicarse por el alto impacto que tiene la nutrición en el desempeño reproductivo de los reproductores.

Palabras clave: aptitud, bovino, macho, reproducción.

Keywords: attitude, bovine, male, reproduction.

Evaluation of sperm function and integrity of frozen epididymal sperm harvested following orchietomy in Colombian Creole stallions

Evaluación de la integridad y función en espermatozoides epididimales criopreservados obtenidos luego de orquiectomía en sementales Criollos Colombianos*

Juan C Hernández Avilés¹, Est MV; Juan M Castillo Herrera¹, MV; Mónica A Vergara Galván¹, MV, cMSc; Jorge L Zambrano Varón¹, DVM, MPVM, PhD, DiplACT; Claudia Jiménez Escobar¹, DVM, MSc, DVSc.

*Financiado por: División de Investigación, Sede Bogotá, Programa de Financiación de Semilleros de Investigación 2013-2015, Universidad Nacional de Colombia. ¹Laboratorio de Biotecnología Reproductiva, Grupo de Investigación en Teriogenología y Salud de Hato, Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá. E-mail: juchernandezav@unal.edu.co

Introduction: cryopreservation of epididymal sperm in stallions is used to preserve semen from genetically valuable stallions that are not capable to ejaculate by injuries or sudden death. Criteria for epididymal sperm must be addressed in order to predict sperm integrity and function. **Objective:** to estimate parameters of sperm quality in frozen semen that was collected after bilateral orchietomy in Colombian Creole stallions. **Methods:** four (n = 4) stallions were referred to the Teaching Hospital for elective orchietomy. After bilateral castration, testes were transported in a Styrofoam box at 37 °C to the Reproductive Biotechnology Laboratory. The vas deferens and the tail of the epididymis were dissected from the testis and its content flushed with 10 mL of skim milk based extender (with 4% of Dimethylformamide and 4% egg yolk). Epididymal sperm was packaged into 0,5 mL straws at a concentration of 300 - 400 x 10⁶ sperm/mL and cooled to 5 °C. The straws were exposed to nitrogen vapors for 10 minutes and plunged into liquid nitrogen at -196 °C. Sperm quality parameters reported as proportions were: progressive motility (PM), normal sperm morphology (NSM), hypoosmotic swelling test (HOST+), plasma membrane integrity (PMI), acrosome membrane integrity (AMI), mitochondrial function (MMF), and simultaneous estimation of plasma membrane, acrosome and mitochondrial integrity (IPIAH). **Results:** mean proportions of sperm quality parameters were: PM (47 ± 6,71; 58 ± 2,74; 66 ± 5,48; 46 ± 5,48%); NSM (61 ± 3,54; 62 ± 1,87; 58,2 ± 5,40; 60 ± 1,87%); HOST+ (35,2 ± 1,48; 47 ± 4,95; 47,4 ± 3,36; 36,4 ± 2,41%); PMI (28 ± 2,45; 61 ± 1,87; 64,2 ± 2,17; 45,2 ± 3,03%); AMI (88 ± 2,12; 94,6 ± 1,82; 95,6 ± 2,61; 90,4 ± 3,91); MMF (62,2 ± 3,63; 78,4 ± 4,77; 71 ± 2,55; 60,8 ± 2,49%) and IPIAH (25,6 ± 1,52; 51,4 ± 3,36; 51 ± 1,22; 35 ± 2,74%). **Conclusion:** these results show a decreased plasma membrane and mitochondrial integrity and function, similar to the reported changes for cryopreserved ejaculated stallion sperm.

Keywords: acrosome, mitochondria, plasma membrane, sperm cryopreservation, stallion epididymal sperm.

Palabras clave: acrosoma, criopreservación de espermatozoides, espermatozoide epididimal en equinos, membrana plasmática, mitocondria.

Identificación del sexo fetal en yeguas gestantes a partir de ADN libre de células en plasma materno por PCR cuantitativa

Identification of fetal sex in pregnant mares from cell free DNA in maternal plasma by quantitative PCR

Francisco J Valencia Alaix, MSc; Juan D Torrenegra Rico, Ing Biol.

Alianza Appligen (Gentech - Iagen).
E-mail: contact@iagen.com.co

Introducción: la alianza Appligen (Gentech - Iagen), logra establecer la identificación del sexo fetal por PCR cuantitativa (qPCR), herramienta sensible, específica reproducible y rentable, que favorece la aplicación de estos métodos en beneficio de la actividad pecuaria nacional. La identificación del sexo en cualquier momento de la gestación en una yegua, es muy atractivo, debido a las diferencias económicas entre gestaciones de hembras y machos siendo las primeras las más apetecidas. El método de qPCR, empleado, es la continuación del desarrollo previo realizado por este grupo con la técnica de PCR punto final. **Objetivo:** establecer las condiciones necesarias para la validación del método de qPCR en la identificación del sexo fetal a través de plasma materno. **Métodos:** se colectaron muestras de sangre a ocho yeguas con gestaciones superiores a los 4 meses, las cuales contaban con registros de manejo a cargo de un médico veterinario. La sangre materna, se centrifugó con protocolos para favorecer la separación de células sanguíneas y el plasma, donde predomina el ADN fetal, el que se procesó para purificar el ADN con un método comercial basado en columnas. La qPCR se realiza con cebadores para cromosoma Y y X, teniendo en cuenta en la reacción controles negativos (agua) y positivos (un macho de fertilidad probada), el marcaje de la reacción se realizó con el fluoróforo SYBER Green. **Resultados:** en las hembras paridas, los resultados de la qPCR coincidieron, con el sexo fenotípico al nacimiento en las crías evaluadas, siendo todas hembras. **Conclusión:** el método desarrollado, permite identificar bajo las condiciones reportadas en el estudio, el sexo de la cría a través del plasma materno, es un método rápido, rentable, sensible y reproducible, que permite tomar con mayor confianza decisiones en relación a las gestaciones presentes en un criadero.

Palabras clave: ADN libre, qPCR, sexo fetal.

Keywords: fetal sex, free DNA, qPCR.

Índices de consanguinidad y su relación con la calidad del semen en el Caballo Criollo Colombiano

Inbreeding rates and their relationship with semen quality in Colombian Creole Horse

Katherine Bedoya Rodas¹, Ing Agrop; Alexandra Úsuga Suárez², MVZ, cPhD; Giovanni Restrepo Betancur¹, Zoot, MV, MSc, PhD.

¹Facultad de Ciencias Agrarias, Politécnico Colombiano Jaime Isaza Cadavid, Medellín, Colombia. ²Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad CES, Medellín, Colombia.
E-mail: ktr621@hotmail.com

Introducción: la consanguinidad se genera por el apareamiento de animales que están más estrechamente relacionados entre sí, que el promedio de la población. Esto provoca una disminución del rendimiento de caracteres de baja heredabilidad, entre los cuales, muchos están relacionados con la fecundidad. Para la especie equina, se ha reportado que la consanguinidad genera efectos negativos sobre la calidad y la capacidad de producción de semen. **Objetivo:** evaluar el efecto de los índices de consanguinidad sobre la calidad seminal de Caballos Criollos Colombianos. **Métodos:** el semen de 24 equinos criollos colombianos fue colectado mediante el método de vagina artificial. Para cada eyaculado se evaluaron la movilidad total (MT) y progresiva (MP), mediante un sistema de análisis computarizado (SCA[®]); la vitalidad (VE) y la morfología espermática (MA), mediante la técnica de tinción eosina-negrosina; y la integridad de la membrana plasmática mediante la prueba hipoosmótica (HOS). Se determinó el índice de consanguinidad individual (F) y la pérdida de heterocigosidad (PH) para cada uno de los equinos mediante el software Breeders Assistant for Horses versión 5.4 y se crearon grupos de acuerdo al rango de los índices de consanguinidad (alto, medio y bajo). Para la evaluación estadística se ajustaron modelos lineales generalizados (GLM) y las medias entre los grupos de consanguinidad se compararon por la prueba de Tukey. **Resultados:** las medias encontradas para los parámetros de calidad seminal MT, MP, VE, MA y HOS fueron 81,3% ± 14,6; 48,6% ± 20; 82,7% ± 9,1; 27% ± 13,2 y 64,4% ± 13,1 respectivamente; para el índice de consanguinidad fue de 2,73% ± 2,97 y para la pérdida de heterocigosidad de 0,17 ± 0,19. Se encontró significancia (p<0,05) para los efectos del grupo de consanguinidad y la pérdida de heterocigosidad sobre la variable MT. **Conclusión:** existe una asociación entre los índices de consanguinidad y la movilidad total del semen de Caballos Criollos Colombianos.

Palabras clave: equino, esperma, heterosis.

Keywords: equine, sperm, heterosis.

Integridad y funcionalidad de semen equino suplementado post-descongelación con tres moléculas antioxidantes

Integrity and functionality of post-thaw stallion semen supplemented with three antioxidant molecules

Giovanni Restrepo Betancur¹, Zoot, MV, MSc, PhD; Juan E Duque Cortés¹, Ing Agrop; Juan D Montoya Páez¹, Ing Agrop; Benjamín A Rojano², Qco, MSc, PhD.

¹Facultad de Ciencias Agrarias, Politécnico Colombiano Jaime Isaza Cadavid, Medellín, Colombia. ²Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín.
E-mail: grestrepo@elpoli.edu.co

Introducción: se ha descrito un rápido descenso en la calidad post-descongelación del semen equino. **Objetivo:** evaluar la acción antioxidante de la ergotioneina, la quercetina y la pentoxifilina en el semen equino descongelado, y su efecto sobre la integridad y la funcionalidad de los espermatozoides. **Métodos:** el semen de cinco caballos de la raza Criollo Colombiano (dos eyaculados por animal), fue congelado mediante un protocolo convencional. Post-descongelación, se evaluó la capacidad de los tres antioxidantes para la inhibición de la producción de especies reactivas de oxígeno (ERO), mediante la técnica de la fluoresceína diacetato (H2DCFDA). El semen fue suplementado con los antioxidantes a las concentraciones de máxima inhibición de ERO, y fue almacenado a 5 °C. Después de 0, 6, 12 y 24 horas se evaluaron la movilidad total (MT), movilidad progresiva (MP), velocidad lineal (VSL), velocidad curvilínea (VCL) y velocidad media (VAP), mediante un sistema computarizado (SCA); la vitalidad espermática (VE) y el potencial de membrana mitocondrial (PMM), mediante las sondas SYBR/IP y JC1, respectivamente; la integridad de membrana plasmática mediante la prueba hipoosmótica (HOS) y la peroxidación lipídica (PL) por la metodología TBARS. La evaluación estadística se realizó mediante modelos lineales generalizados (GLM) y la prueba Tukey. **Resultados:** se encontraron valores máximos de inhibición de ERO de 73, 13 y 37%, para quercetina (250 µM), ergotioneina (150 µM) y pentoxifilina (4.000 µM), respectivamente. Las medias para MP y VAP fueron superiores (p ≤ 0,05) para ergotioneina y quercetina, a las 6 horas de refrigeración. Para VCL se encontraron medias superiores para quercetina a las 6 horas, y para ergotioneina a las 6 y 12 horas de refrigeración. La comparación de medias para los demás parámetros no arrojó diferencias estadísticas (p ≤ 0,05). **Conclusión:** la ergotioneina y la quercetina tienen un efecto protector de la MP, la VCL y la VAP del semen equino descongelado.

Palabras clave: calidad seminal, criopreservación, estrés oxidativo.

Keywords: cryopreservation, oxidative stress, sperm quality.

Luteinizing hormone: endocrine responses after the use of progesterone or prostaglandins in sheep during oestrous cycle in Sao Paulo, Brazil

*Hormona luteinizante: respuestas endocrinas después del uso de progesterona o prostaglandinas en ovejas durante el ciclo estral en Sao Paulo, Brasil**

Luis F Uribe Velásquez¹, MVZ, MSc, PhD; Maria I Lenz Souza², MV, MSc, PhD
Adriana Correa Orozco³, MVZ, MSc.

*Financiado por: FAPESP – SP, Brazil and VIP, Universidad de Caldas, Colombia. ¹Departamento de Salud Animal, Universidad de Caldas, Colombia. ²Center for Biological and Health Sciences, UFMS, Campo Grande, MS, Brazil. ³Grupo de investigación en Ciencias Veterinarias. Universidad de Caldas, Colombia.
E-mail: lfuribe@ucaldas.edu.co

Introduction: luteining hormone is a key for ovulation. **Objective:** the effects of progesterone (P_4) and prostaglandin ($PGF_{2\alpha}$) on reproductive endocrinology were studied in female sheep in Sao Paulo, Brazil. **Methods:** experiment 1: ewes were synchronized using prostaglandin- $PGF_{2\alpha}$ (PG) and randomly divided in two groups ($n = 7/\text{group}$): control group and progesterone-treated group (CIDR) after ovulation. Daily were collected blood samples for determine P_4 concentrations. For profile of luteinizing hormone (LH) pulses, blood samples were collected at 30 min intervals for a period of 8h on days one and six. Experiment 2: Ewes were randomly divided in two groups ($n = 7/\text{group}$): T1 synchronized with two injections of PG, given 7 days apart, and T2, female showing natural estrous. Blood samples were collected from one day before PG and during experiment for steroidal determination. For profile of LH pulses, blood samples were collected at 30 min intervals for a period of 8h on days one, six and 12. Hormones concentrations were determined by RIA. Data were evaluated by SAS. **Results:** differences in LH pulse frequency on day one ($p < 0.01$) were observed with values of 2.55 ± 0.09 pulses/8 h in control group and 1.49 ± 0.11 pulses/8h in treated-group. On day six, control group showed higher values ($p < 0.05$) for LH pulse frequency (2.20 ± 0.09 pulses/8h) than treated-group (1.22 ± 0.11 pulses/8h). Mean concentrations of P_4 ($p < 0.001$) were different between groups during P_4 administration on day one and six of the estrous cycle. These data suggest that of exogenous progesterone reduced LH pulse. Mean concentrations of P_4 ($p < 0.001$) were different between groups, days ($p < 0.0001$) and interaction treatment by day. The LH pulse amplitude on day six ($p < 0.01$) differed between the two groups. Differences in LH pulse frequency on day six ($p < 0.05$) were observed. **Conclusion:** these data suggest that use of PG alters plasma concentrations of P_4 and it could reduce LH pulse frequency.

Keywords: CIDR, estradiol, estrous cycle, LH, sheep, progesterone.

Palabras clave: CIDR, ciclo estral, LH, ovejas, progesterona.

Modificación del protocolo Ovsynch mediante el uso de la pre-sincronización con prostaglandina en programas de inseminación artificial en Búfalos de Agua

Modification of Ovsynch protocol by using pre-synchronization with prostaglandin in a Water Buffalo artificial insemination program

Alejandro Saldarriaga Saldarriaga¹, Est Zoot; Benjamín Londoño Soto¹, Est Zoot; Daniel F Serna Gómez¹, Est Zoot; Luis F Gallego Arcila¹, Est Zoot; Jesús A Berdugo Gutiérrez², MV, MSc; Diana M Bolívar Vergara³, Zoot, MSc, PhD.

¹Grupo Pro-búfalos, Universidad Nacional de Colombia. ²Grupo Pro-búfalos, Centro Latinoamericano para el Estudio del Búfalo, Medellín, Colombia. ³Grupo Pro-búfalos, Grupo BIOGEM, Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín.
E-mail: asaldarriagas@unal.edu.co

Introducción: la inseminación artificial en búfalos de agua (*Bubalus bubalis*) se está ampliando en el país. Con el uso de técnicas de sincronización del celo e inseminación artificial a tiempo fijo, se está logrando una tasa de preñez del 30% en promedio, la cual es baja. **Objetivo:** evaluar el efecto de la pre-sincronización con prostaglandina, del peso y de la condición corporal (CC) en la tasa de preñez de búfalos en un programa de inseminación a tiempo fijo. **Métodos:** se utilizaron 41 búfalas paridas, multiparas, vacías ciclando normal; se estimó la CC mediante observación visual con una escala de 1 a 5 y se pesaron al inicio del experimento. Las búfalas se asignaron al azar a cada uno de los tratamientos. Tratamiento 1: pre-sincronización con prostaglandina más protocolo Ovsynch convencional; Tratamiento 2: protocolo Ovsynch convencional. Las búfalas fueron inseminadas 16 horas después de la última aplicación de la GnRH, utilizando semen de un solo macho al que se le hizo evaluación mediante C.A.S.A (Computer Assisted Semen Analysis). La preñez se confirmó mediante ecografía a los 45 días después de la IATF. El porcentaje de preñez obtenido con los dos tratamientos fue comparado con una prueba de Chi-cuadrado. Las relaciones entre las variables CC y peso, con preñez, fueron analizadas con la prueba de Mann Whitney y una regresión logística, respectivamente. **Resultados:** la CC fue $3,7 \pm 0,26$, y el peso 406 ± 44 Kg. La tasa de preñez global fue 27%; en el tratamiento 1 con pre-sincronización la preñez fue del 19%, mientras que en el tratamiento 2 fue del 35%, sin embargo no se halló diferencia estadísticamente significativa ($p > 0,05$). **Conclusión:** la tasa de preñez no estuvo relacionada con CC y peso. En ambos protocolos la preñez obtenida fue muy baja, siendo importante realizar otros trabajos para evaluar la dinámica folicular en búfalos que sean sometidas a diferentes protocolos de ovulación.

Palabras clave: inseminación a tiempo fijo, protocolo Ovsynch, sincronización.

Keywords: Ovsynch protocol, synchronization, timed-artificial insemination.

Motilidad y vitalidad de semen caprino criopreservado en diferentes diluyentes*

Motility and vitality of goat sperm cryopreserved at different diluents

Albeiro Silva Torres¹, Tec Agrop, Est Zoot; Leonardo Hernández Corredor², cPhD.

*Financiado por: SENA. ¹Universidad de Pamplona –SIRA, Semillero de Investigación Reproducción Animal-SENA Cedrum. ²Universidad Francisco de Paula Santander-Servicio Nacional de Aprendizaje-Universidad de Pamplona, Colombia.

E-mail: albeirosilva91@hotmail.com

Introducción: en el proceso de congelación seminal, la evaluación post-congelación, se tienen en cuenta al menos cuatro parámetros básicos: viabilidad (tinción), morfología espermática, número de espermatozoides (con motilidad progresiva) por dosis a inseminar y la integridad de la membrana plasmática. Por ende, los mejores reproductores del área metropolitana de Cúcuta han sido evaluados en el estudio **Objetivo:** evaluar parámetros de motilidad (M), Progresividad (PROG) y vitalidad de espermatozoides (V) caprinos post-descongelación criopreservados en tres diferentes medios de dilución. **Métodos:** se seleccionaron cuatro machos en edad reproductiva activos, a los cuales se les colectó semen dos veces por semana: una vez con vaginal artificial (VA) y a la siguiente electroeyaculador (EE), durante ocho semanas. Las muestras fueron diluidas y mantenidas en los diluyentes comerciales: AndroMed[®] (A), Triladyl[®] (T) y Ovixcell[®](O), hasta la centrifugación (800 x g por 5 minutos). Se retiró el sobrenadante y el pellet de espermatozoides se re-diluyó en alícuotas para tres diluyentes. El proceso de congelación seminal se llevó a cabo por 10 minutos. Para la evaluación fueron seleccionadas y descongeladas a 37 °C dos pajillas por tratamiento, se realizó la tinción de eosina-nigrosina y la motilidad se evaluó con el sistema de análisis computarizado (C.A.S.A). **Resultados:** el mejor método de extracción fue VA y congelado con el diluyente T mostrando los mejores resultados en los parámetros V: 80,08 ± 14,75% y M: 63,67 ± 30,17% y PROG 23,80 ± 4,7%. Seguido por el tratamiento con A y colectado con VA, obteniendo los valores V: 66,87 ± 11,63%, M: 36,58 ± 15,19% y PROG: 11,42 ± 2,3%. **Conclusión:** se encontraron diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre los diluyentes, siendo el Triladyl[®] el medio que presentó mejores resultados en cuanto a calidad espermática, de igual forma el método más favorable de extracción seminal fue la vagina artificial.

Palabras clave: AndroMed[®], cabras, extracción seminal, Ovixcell[®], Triladyl[®].

Keywords: AndroMed[®], goat, Ovixcell[®], seminal extraction, Triladyl[®].

Oxidación proteica y lipídica del plasma seminal y su relación con la calidad post-descongelación del semen equino

Protein and lipid oxidation of seminal plasma and their relationship with post-thawed quality of stallion semen

Giovanni Restrepo Betancur¹, Zoot, MV, MSc, PhD; Alexandra Úsuga Suárez², MVZ, cPhD; Benjamín A Rojano³, Qco, MSc, PhD.

¹Facultad de Ciencias Agrarias, Politécnico Colombiano Jaime Isaza Cadavid, Medellín, Colombia. ²Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad CES, Medellín, Colombia. ³Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín.

E-mail: grestrepo@elpoli.edu.co

Introducción: uno de los factores más relacionados con la baja fertilidad del semen equino criopreservado, es el estrés oxidativo que experimentan las células espermáticas, por el incremento en los niveles de especies reactivas de oxígeno (ERO). **Objetivo:** evaluar el efecto de la peroxidación lipídica y la oxidación proteica del plasma seminal sobre la calidad post-descongelación del semen equino. **Métodos:** el semen de 30 caballos criollos colombianos se colectó por el método de vagina artificial. Se realizó la separación del plasma seminal mediante centrifugación a 1.200/g durante 15 minutos. En el plasma se evaluó la oxidación lipídica (OL) por la metodología del ácido tiobarbitúrico (TBARS), y la oxidación de las proteínas (OP) por la medición del contenido de grupos carbonilo, cuantificada espectrofotométricamente a través de su reacción con DNPH (2,4-dinitrofenilhidrazina). El semen fue suplementado con 10% de plasma seminal y congelado mediante un protocolo convencional. Post-descongelación se evaluaron, movilidad total (MT), movilidad progresiva (MP), velocidad lineal (VSL), velocidad curvilínea (VCL), velocidad promedio de trayectoria (VAP), amplitud lateral de la cabeza (ALH) y frecuencia de batido (BCF), mediante un sistema computarizado (SCA); la vitalidad espermática (VE) mediante las sondas fluorescentes SYBR/IP, la integridad de membrana plasmática mediante la prueba hipoosmótica (HOS) y la morfología normal (MN) mediante eosina-nigrosina. Se realizó el ajuste de modelos lineales generalizados y un análisis de correlación de Pearson. **Resultados:** se encontraron valores promedio de 3,27 nMol MDA/L para OP y de 0,03 nMol carbonilos/mg de proteína para OP. Se halló significancia ($p \leq 0,05$) de los efectos de VSL, VAP y MN sobre la OL y de los efectos de MT, MP, VSL, VAP, ALH y VE sobre la OP. Se encontraron coeficientes de correlación significativos ($p \leq 0,05$) de OL con VSL (-0,16) y VAP (-0,22) y de OP con MN (-0,22). **Conclusión:** los niveles de oxidación lipídica y proteica del plasma seminal están asociados con la calidad post-descongelación del semen equino.

Palabras clave: criopreservación, estrés oxidativo, fertilidad.

Keywords: criopreservation, fertility, oxidative stress.

Parámetros de evaluación seminal en ovinos usando dos diluyentes y dos temperaturas de conservación

Seminal parameters evaluation in rams using two semen extenders and two conservation temperatures

José A Ortiz Ramírez¹, Est Ing Agrop; Mónica Ramírez Hernández², MV, Msc; Juan D Montoya², Ing Agrop, cMSc; Jorge Gómez Oquendo², MV.

¹Politécnico Jaime Isaza Cadavid, Colombia. ²Grupo GIBA, Politécnico Jaime Isaza Cadavid, Colombia.
E-mail: jaortiz1922@gmail.com

Introducción: el crecimiento de la ovinocultura en nuestro país ha estimulado la aplicación de biotecnologías reproductivas con el fin de aumentar la eficiencia productiva. **Objetivo:** evaluar parámetros de calidad de semen ovino conservado a temperaturas de enfriamiento y refrigeración. **Métodos:** fueron seleccionados dos reproductores de las razas Dorper y Katahdin, se obtuvo semen fresco de cinco eyaculados; las muestras fueron divididas en dos alícuotas y diluidas en Triladyl[®] y AndroMed[®], luego se realizó el descenso de temperatura gradual hasta 17 °C y 5 °C. El semen fue evaluado cada 24 horas para MT (movilidad total), MP (progresiva), VCL (velocidad curvilínea), VSL (velocidad rectilínea) y VAP (velocidad media) por medio del sistema SCA[®]. Se realizaron evaluaciones de integridad de membrana (test hipo-osmótico), y de vitalidad y morfología (prueba supravital). Se ajustaron modelos lineales y se realizó la prueba de Tukey. **Resultados:** Triladyl[®] presentó MT mayor que AndroMed[®] (86,5 vs. 82,4%), para MP, VCL, VSL y VAP, AndroMed[®] presentó promedios superiores (63,6%, 100,8, 48,7 y 80,3 μm/s, respectivamente). La calidad espermática medida por conteo de espermatozoides vivos y morfológicamente normales fue superior para Triladyl[®] (84,1 y 9,8% vs. 82,0 y 13,2%). La refrigeración a 5 °C presentó porcentajes superiores de MT, MP y VCL comparado con el enfriamiento a 17 °C (85,3%, 62,4% y 101,9 μm/s vs. 83,6%, 58,6% y 89,0 μm/s) al igual que para la vitalidad (84,6 vs. 81,5%; p<0,05). Todas las muestras seminales conservaron los parámetros de calidad hasta las 72 horas de evaluación. **Conclusión:** basados en los resultados, ambos diluyentes pueden ser usados en la conservación de semen ovino a 5 °C con un tiempo no superior a 72 horas, se hace necesario realizar trabajos donde se puedan comparar con resultados de tasas de preñez. Los resultados del presente estudio contribuyen a la estandarización del procesamiento de semen en la especie ovina.

Palabras clave: espermatozoides, muestras seminales, ovinocultura, sistema CASA.

Keywords: ovine breeding, SCA system, semen samples, sperm.

Peroxidación lipídica en los embriones bovinos producidos *in vitro* sometidos al proceso de vitrificación

Lipid peroxidation of in vitro bovine embryos submitted to the vitrification procedure

John J Giraldo Giraldo¹, Zoot, Esp, MSc; Neil Vásquez Araque², Biol, MSc, PhD.

¹Corporación Universitaria Lasallista, Colombia. ²Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín.
E-mail: jogiraldog@lasallistadocentes.edu.co

Introducción: la peroxidación lipídica es un proceso complejo y constituye un patrón cuando se trata de identificar la función de los radicales libres en algún tipo de daño celular. **Objetivo:** cuantificar la peroxidación lipídica en embriones bovinos producidos *in vitro* sometidos al proceso de vitrificación. **Métodos:** sesenta y dos embriones producidos *in vitro* fueron vitrificados en pajillas abiertas y estiradas (OPS: open pulled straw), de acuerdo a los grupos de estudio (T1: dimetilsulfoxido DMSO + dimetilformamida DMF 15%, T2: DMSO + DMF 20% y control: etilenglicol EG + DMSO 20%) en un modelo de bloques completos al azar. Luego de la devitrificación, los embriones fueron cultivados en medio EVOLVE con 5% SFB, 0,33 mM de piruvato de sodio y solución antibiótica a 38,5 °C, se cuantifico la peroxidación lipídica en los embriones, incubándolos con la sonda fluorescente cis ácido parinárico CAP, registrando la fluorescencia inicial y a los 15 minutos, en donde la pérdida de fluorescencia es debida a la detección de procesos de oxidación en los embriones. Los datos fueron transformados a porcentaje de fluorescencia, teniendo en cuenta la fluorescencia inicial como el 100%. **Resultados:** El porcentaje más alto de fluorescencia CAP, se encontró en el grupo T2 (78,43%), el cual muestra una diferencia estadística significativa (p<0,05) con respecto a los grupos T1 (39,09%) y control (41,21%), sin embargo, no se encontró diferencia estadística significativa (p>0,05) al comparar los grupos T1 y control 39,09 y 41,21%, respectivamente. **Conclusión:** la peroxidación lipídica, puede ser utilizada como biomarcador del estrés oxidativo y como criterio de viabilidad de embriones devitrificados.

Palabras clave: criopreservación, embriones bovinos, peroxidación lipídica, vitrificación.

Keywords: bovine embryo lipid peroxidation, cryopreservation, vitrification.

Semen descongelado de ovino probado mediante pruebas heterólogas*

Sheep thawed semen proved by heterologous test

Karen Copas Medina¹, MSc; Álvaro Domínguez Rebolledo², Dr; Benjamín Ortiz de la Rosa¹, PhD; Alejandra Juárez Pérez¹, IQB; Julio Ramón Ugalde¹, Dr V.

*Proyecto CONACYT Ciencia Básica 164592. ¹División de Estudios de Posgrado e Investigación, Instituto Tecnológico de Conkal. ²Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias.
E-mail: copas.karen@gmail.com

Introducción: en zonas tropicales, no está descrita la utilización de la técnica de fertilización *in vitro* (FIV) heteróloga. **Objetivo:** evaluar la capacidad fecundante de semen ovino descongelado en ovocitos de vacuno mediante un test de penetración. **Métodos:** a través de la técnica de disección de folículos en 134 ovarios se obtuvieron 800 ovocitos que se fertilizaron con semen descongelado de cuatro razas de ovino: Black Belly (BB), Pelibuey (PB), Dorper (DP) y Katahdin (KT), de cada raza se evaluaron cinco sementales. El día -1, los ovocitos se maduraron en una incubadora de atmósfera controlada, con 5% de CO₂ y 5% de O₂ a una temperatura de 38,5 °C por 24 horas en un medio de cultivo adicionado con LH y FSH. El día 0, se realizó la FIV heteróloga, los ovocitos se denudaron con pipeteo mecánico y se colocaron en una caja de Petri dentro de gotas con un medio de cultivo enriquecido con minerales, aminoácidos y suero de oveja en celo (SOF+SOC). El semen descongelado se analizó, centrifugó y preparó para la fertilización. A cada gota se le añadió 5 µl de semen y las placas se incubaron 24 horas. El día 1, los ovocitos se cambiaron de medio para eliminar los espermatozoides muertos y añadir nutrientes para acelerar la división. El día 2, se continuó con la observación de los cigotos híbridos y se diferenciaron los fertilizados (F) de los no fertilizados (NF). **Resultados:** el número total de ovocitos F fue de 156, 101, 136 y 120 para KT, BB, PB y DP respectivamente. Los resultados medios obtenidos en ovocitos F muestran una tendencia favorable ($p < 0,1$) hacia la raza KT ($31,2 \pm 4,1$) respecto a BB ($20,2 \pm 2,7$), PB ($27,2 \pm 4,4$) y DP ($24,0 \pm 4,6$), así mismo PB respecto a BB y DP, y finalmente DP respecto a BB. El número total de ovocitos NF fue de 44 ($8,8 \pm 4,1$), 99 ($19,8 \pm 2,7$), 64 ($12,8 \pm 4,4$) y 80 ($16,0 \pm 4,6$) para KT, BB, PB y DP, respectivamente. **Conclusión:** aun cuando se observan tendencias favorables, los resultados obtenidos no permiten obtener conclusiones definitivas.

Palabras clave: capacidad fecundante, espermatozoides, FIV heteróloga.

Keywords: fertilizing capacity, heterologous IVF, sperm.

Uso de la coloración Cresyl Blue para evaluación morfológica de oocitos *Bos indicus* inmaduros y madurados *in vitro*

Use of Cresyl Blue dye for morphologic evaluation of Bos indicus immature and in vitro matured oocytes

Niber A Avendaño Patiño¹, Est MV; Juan F Martínez Castaño¹, Est MV; Viviana Torres², IB, MSc; Stephania Madrid², Zoot, MSc; Rodrigo A Urrego³, Zoot, MSc, PhD; Nérida Rodríguez Osorio⁴, MV, MSc, PhD.

¹Programa de Medicina Veterinaria, Universidad de Antioquia, Colombia. ²Grupo Biogen Universidad Nacional de Colombia. ³Grupo INCA-CES, Universidad CES, Colombia. ⁴Grupo CENTAURO, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, Colombia.
E-mail: niber987@hotmail.com

Introducción: la selección y maduración *in vitro* (MIV) de oocitos *Bos indicus* se hace con base en características morfológicas. Los parámetros finales para determinar la calidad de los oocitos son las tasas de clivaje y de producción de blastocistos. A los oocitos que se someten a MIV se les evalúa diámetro del citoplasma (mayor a 115 µm), zona pelúcida (entre 14 y 25 µm), integridad y granulación del citoplasma, y número de capas de células de la granulosa (mayor a 3). El Cresyl Blue (BCB), una tinción vital, tiñe de azul el citoplasma de oocitos que terminaron su crecimiento y pueden usarse para maduración (BCB+). En contraste, los oocitos aun en crecimiento presentan citoplasma incoloro (BCB-). **Objetivo:** evaluar la relación de la tinción Cresyl Blue con la morfología de oocitos *Bos indicus* y con las tasas de maduración. **Métodos:** se obtuvieron complejos cúmulo-ooocito por aspiración folicular post mortem y se clasificaron en tipo I (bueno), tipo II (regular) y tipo III (malo), según características morfológicas. Oocitos de los tres grupos se incubaron por 90 minutos con Cresyl Blue (130 µM) a 39 °C, con 5% de CO₂ y se clasificaron en BCB+ y BCB- según su tinción. Los oocitos se separaron de acuerdo a su tinción y se maduraron por 24 horas. La maduración se determinó por la expansión de las células del cúmulo. **Resultados:** el porcentaje de oocitos BCB+ fue mayor en tipo I, comparados con tipo II y tipo III (82,7, 64,7 y 49,5% respectivamente). Hubo diferencia significativa en la proporción de BCB+ entre tipo I y tipo III ($p = 0,0001$). Para el tipo I, la maduración fue mayor en oocitos BCB+ comparado con los otros tipos (80%). Los resultados de esta investigación son similares a los reportados por otros autores. **Conclusión:** la tinción Cresyl Blue es una técnica confiable, que brinda asistencia al momento de seleccionar oocitos y que unida a parámetros morfológicos permite una mejor predicción del potencial de maduración de los oocitos.

Palabras clave: azul de cresilo, complejo cúmulo-ooocito, *cumulus oophorus*, ooocito bovino.

Keywords: bovine oocyte, cresyl blue, cumulus-oocyte complex, *cumulus oophorus*.

Uso de software Image J para análisis de imágenes de oocitos y embriones con pre-maduración SPOM y maduración convencional

Use of Image J software for image analysis of oocytes and embryos with SPOM pre-maturation and with conventional maturation

Santiago Duque Arias¹, Est MV; Jose F Pérez Cadavid¹, Est MV; María C Polanco Rodríguez¹, Est MV; Nélida Rodríguez Osorio², MV, MSc, PhD.

¹Programa Medicina Veterinaria, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

²Grupo CENTAURO, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, Colombia.

E-mail: duque_444@hotmail.com

Introducción: en la producción *in vitro* de embriones bovinos, la maduración de los oocitos es crítica, a pesar de los avances en el desarrollo de medios de maduración. La caída en los niveles de AMP cíclico (cAMP) del oocito tras la aspiración folicular, es una de las causas de las bajas tasas de desarrollo embrionario a partir de oocitos madurados *in vitro*. Una alternativa para mejorar las tasas de maduración y de producción embrionaria *in vitro* es la pre-maduración de oocitos o SPOM (por abreviatura en inglés maduración fisiológica simulada del oocito), que mantiene altos niveles de cAMP y permite mejor maduración. Un indicador de calidad embrionaria es el número de células del blastocisto. Existen programas computacionales para conteo de células embrionarias, muchos de ellos costosos y difíciles de usar. **Objetivo:** evaluar la eficiencia del software FIJI (Image J[®]) para el conteo de células de blastocistos derivados de oocitos con y sin SPOM. **Métodos:** se estandarizó el procedimiento para el conteo de células de blastocistos usando FIJI (Image J[®]) y se comparó con conteo manual para determinar su precisión. La serie de comandos se guardaron en forma de "Macro" y se usaron para análisis simultáneo de todas las imágenes de blastocistos. Este proyecto fue aprobado por el comité de Ética para la Experimentación con Animales de la Universidad de Antioquia por medio de un aval expedito. **Resultados:** las tasas de clivaje y de blastocistos fueron significativamente superiores para los oocitos sometidos a pre-maduración SPOM (clivaje: 66% vs. 59% p=0,0053; blastocistos 54% vs. 39%, p=0,0001). El promedio del número de células de los blastocistos obtenidos de oocitos SPOM fue 79 ± 23 células y de 109 ± 91 células para blastocistos producidos por maduración convencional. **Conclusión:** no hubo diferencia estadísticamente significativa entre el número de células en los blastocistos de ambos grupos (p=0,2837). El software FIJI permite realizar conteo preciso y rápido del número de células.

Palabras clave: AMP cíclico, blastocistos, Fiji[®], maduración *in vitro*, SPOM.

Keywords: blastocysts, cyclic AMP, Fiji[®], *in vitro* maturation, SPOM.

Vitrificación y calentamiento en pajilla modificada de blastocistos bovinos producidos *in vitro*

Vitrification and modified in-straw warm method of in vitro bovine blastocysts

John J Giraldo Giraldo¹, Zoot, Esp, MSc; Natalia Jaramillo Bolívar², Biol cMSc; Neil Vásquez Araque², Biol MSc, PhD.

¹Corporación Universitaria Lasallista, Colombia. ²Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín.

E-mail: jogiraldo@lasallistadocentes.edu.co

Introducción: los embriones tienen una elevada sensibilidad a la criopreservación, debido a sus características morfológicas, que los diferencia de otras estructuras tales como células y tejidos; presentan diferente respuesta ante la presencia de los agentes crioprotectores dada su naturaleza multicelular. **Objetivo:** adaptar un método de vitrificación que permita realizar la transferencia directa de los embriones vitrificados. **Métodos:** se expusieron 40 embriones producidos *in vitro* a una solución vitrificante (SV) compuesta por DMSO + DMF al 20%, 0,5 M sucrosa, en medio TCM199 y se empacaron en una pajilla modificada que permite emplear un volumen de medio mínimo, esta pajilla se introdujo en el interior de una pajilla de 0,25 mL previamente enfriada y cargada con una columna de 7 mm de medio de calentamiento (MC) compuesto por TCM199 Hepes con 20% SFB y 0,25 M sucrosa, una columna de aire y una última columna de MC para su inmersión en nitrógeno líquido. Los embriones vitrificados se calentaron por 3 s al aire y seguidamente se introdujeron en agua 41 °C por 10 s, para lograr la descongelación del MC, se retira la pajilla modificada con un ligero movimiento de rotación quedando los embriones en el interior de la pajilla. Los embriones fueron cultivados en medio EVOLVE con 5% suero fetal bovino SFB, 0,33 mM de piruvato de sodio y solución antibiótica a 38,5 °C. Se determinó el porcentaje de embriones re-expandidos a las 24, 48 y 72 horas post-desvitrificación, y la tasa de eclosión. **Resultados:** los datos se analizaron mediante un diseño de bloques completos al azar, las tasas de supervivencia a las 2 horas post-calentamiento fueron de aproximadamente 70% y se mantuvo sin variaciones a las 48 horas. Los porcentajes de eclosión alcanzaron el 70%, aumentando 48 horas después del calentamiento, comparativamente con las tasas obtenidas a las 24 horas, (p<0,05). **Conclusión:** el método de empaque y calentamiento del embrión, permite obtener resultados de criotolerancia aceptables.

Palabras clave: criopreservación, re-expansión, viabilidad embrionaria.

Keywords: cryopreservation, embryo viability, re-expansion.