

Resúmenes para el área de
BIOTECNOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN

Producción de embriones *in vivo* a partir de oocitos inmaduros en ganado

Andrea Pacheco-Munevar¹, Gerardo Maldonado-Castro¹, Héctor Sierra-Vivas¹, Johana Lancheros-Buitrago^{1,2}, José Luis Porras-Vargas¹

¹Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia.

²GIDIMEVETZ. andreapachecomunevar@gmail.com, gerarmaca91@gmail.com, shectorv2499@gmail.com, djohalb87@gmail.com, joseluisporrasv@hotmail.com.

Resumen

La tecnología de producción de embriones bovinos es ampliamente utilizada para mejorar el impacto de animales de alta genética y reducir el intervalo reproductivo en los sistemas ganaderos. Sin embargo, el uso de laboratorios especializados para la obtención del material genético y la viabilidad inferior de los embriones derivados de la producción *in vitro* (PIV) limitan la eficiencia de las técnicas convencionales de producción embrionaria. A este respecto, recientemente la aplicación de la Transferencia Intrafolicular de Oocitos Inmaduros (TIFOI) en donde oocitos inmaduros obtenidos por Ovum Pick-Up (OPU) son transferidos, madurados y cultivados en hembras bovinas previamente sincronizadas, ha demostrado ser efectiva en la obtención de embriones bovinos suprimiendo los efectos negativos de la PIV y prescindiendo de todos los componentes de laboratorio. En Colombia, no se conocen reportes de la implementación de TIFOI por lo que el objetivo de este estudio será producir embriones bovinos *in vivo* empleando la Transferencia Intrafolicular de Oocitos Inmaduros. Seis hembras bovinas de la raza Brahman entre los cuatro y seis años de edad, serán asignadas aleatoriamente a 2 grupos. Los grupos serán invertidos para recibir el tratamiento opuesto. En los animales del grupo 1(n=3) se realizará aspiración folicular OPU, fertilización y cultivo *in vitro* hasta obtener embriones en estadio de blastocitos, los cuales serán vitrificados. Simultáneamente, se conformará un grupo 2 (n=3), en el que oocitos inmaduros obtenidos por aspiración folicular OPU serán transferidos a tres vacas ovuladoras previamente sincronizadas, que serán inseminadas y sometidas 7 días después a lavado uterino con solución de PBS para la recolección

de embriones que serán congelados con etilenglicol. Se espera producir embriones bovinos con óptimas características en cuanto a normas de calidad, resistentes a sistemas de criopreservación y que se ajusten a los parámetros mínimos para transferencia embrionaria en bovinos. Sin substituir los sistemas tradicionales actuales de producción de embriones, se estaría ofreciendo una alternativa sencilla y accesible que eliminaría las desventajas de la PIV, reduciría los costos en la producción de embriones y optimizaría el uso de animales de alto valor genético.

Palabras clave: Oocitos, biotecnología, embriones, bovino, vitrificación, TIFOI



***In vivo* embryo production from immature oocytes in cattle**

Keywords: Oocytes, biotechnology, embryos, bovine, vitrification, TIFOI (IOIT).

Abstract

Technology for cattle embryo production is widely used to improve the impact of high genetic animals and reduce the reproductive interval in cattle systems. However, the use of specialized labs to obtain genetic material and the inferior viability of embryos derived from *in vitro* production (IVP), limit the efficiency of the traditional embryo production techniques. Regarding it, recently, the application of Immature Oocyte Intrafollicular Transfer (IOIT), where immature oocyte are collected through Ovum Pick-Up (OPU) are transferred, matured and cultivated in female bovine previously synchronized, has shown to be effective when obtaining bovine embryo, suppressing negative effects of IVP and thus putting aside all the lab components. In Colombia reports of implementation of IOIT are unknown, in this way, the objective of this study will be to produce *in vivo* bovine embryo implementing the Immature Oocyte Intrafollicular Transfer technique. Six female Brahman ranging from four to six years of age, will be randomly assigned to two groups. The groups will be reversed to receive the opposite treatment. In animals form group 1(n=3), OPU follicular aspiration, fertilization and *in vitro* culture will be performed, until embryos in the state of blastocyst are obtained, which will be vitrified. Simultaneously, a group 2 will be conformed (n = 3), in which the immature oocytes obtained through OPU follicular aspiration, will be transferred to three ovulating cows previously synchronized, which will be inseminated and subjected to uterine lavage 7 days later using PDS to collect the embryos which will be freeze with ethylene glycol. It is expected to produce bovine embryos with optimal characteristics regarding quality norms, resistant to cryopreservation systems and adjustable to the minimal standards for bovine embryo transfer. Without substituting the current systems, an easy and accessible way that eliminates the disadvantages of IVP would be offered, reducing the cost in embryo production and optimizing the use of animals of high genetic value.

Relación entre movimiento y morfometría de la cabeza espermática en semen criopreservado de búfalo (*Bos bubalis*)

Carla Osorio-Meléndez¹, Héctor Nava-Trujillo^{1,2}, Leonardo Hernández-Corredor^{1,3}, Lilian Lozano-García¹, Armando Quintero-Moreno¹

¹Universidad del Zulia (LUZ). Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV). Laboratorio de Andrología. ²IIAP, Universidad de los Andes, Mérida Venezuela. ³Universidad Francisco de Paula Santander. Norte de Santander, Colombia. armando.quintero@fcv.luz.edu.ve

Resumen

Se realizó un experimento en semen criopreservado de búfalos Murrah (n=6) y Mediterráneo (n=15) con el fin de asociar mediante una correlación de Pearson las dimensiones morfométricas de la cabeza espermática (CaEs) con las características de movimiento y/o desplazamiento. Para tal fin se utilizó el Análisis Computarizado de la Motilidad (CASA) y Morfometría (ASMA) Espermática diseñado por Microptic® (Barcelona-España) valorando la motilidad progresiva (MP), motilidad no progresiva (MNP), espermatozoides rápidos (ER), con velocidad media (EM), lentos (ELEN) y estáticos (EE), además de las dimensiones de la cabeza y forma: longitud (L), ancho (W), área (A), perímetro (P), elongación (ENL), elipticidad (ELI), regularidad (REG), rugosidad (RUG). Los resultados mostraron una correlación negativa y significativa entre EE y la RUG ($r = -0.64$; $P < 0,04$), lo cual indica que a menor rugosidad de la superficie de la CaEs mayor será la posibilidad de que el espermatozoide se encuentre estático. Del mismo modo, se encontró una correlación positiva entre el P de la CaEs y el porcentaje de EE ($r = 0,62$, $p < 0,05$) y una correlación negativa entre el P con el porcentaje de ER ($r = -0,65$, $P < 0,03$); lo cual sugiere que los espermatozoides con menor perímetro de la CaEs son más rápidos, en cambio, aquellos espermios con mayor dimensión de la CaEs presentan mayor posibilidad de encontrarse estáticos. A pesar de que solo se pudo evidenciar asociación en tres de las variables analizadas, los resultados obtenidos demuestran que existe relación entre la forma-tamaño de la cabeza del

espermatozoide y la cinética espermática en semen criopreservado de búfalos.

Palabras clave: Búfalo, semen, espermatozoide, biometría, motilidad.

Relationship between sperm motility and morphometric characteristics in thawed semen of buffalo (*Bos bubalis*)

Abstract

An experiment with thawed buffalo semen of the breeds Murrah (n=6) and Mediterranean (n=15) was conducted with the aim of associate, through Pearson correlation, the morphometric dimensions of the sperm head with the characteristics of movement and/or displacement. To this end, we used the Computerized Analysis of Spermatic Motility (CASA) and Morphometry (ASMA) designed by Microptic® (Barcelona-Spain) assessing progressive motility (MP), non-progressive motility (NPM), rapid sperm (ER), sperm with average speed (EM), slow (ELEN) and static (EE), in addition to the dimensions of the head and shape: Length (L), width (W), area (A), perimeter (P), elongation (E), ellipticity (ELI), regularity(REG), rugosity (RUG). Results showed a negative and significant correlation between EE and RUG ($r = -0.64$; $P < 0,04$), which shows the fewer rugosity of the surface of the CaEs the bigger the chance for the sperm to be static. In the same way, it was found a positive correlation between the P of the CaEs and the percentage of EE ($r = -0.64$; $P < 0,04$) and a negative correlation between P with the percentage of ER ($r = -0,65$, $P < 0,03$); which suggests that sperm with less perimeter of the CaEs present a higher possibility to be static. Although, it was only possible to evidence association in three of all the analyzed variabilities, the results obtained show the existence between the shape-size of the head of the sperm and the sperm Kinetic in cryopreserved/thawed buffalo semen.

Keywords: Buffalo, semen, sperm, biometry, motility.

Evaluación de los diámetros ovocitarios con relación a talla y peso de *Brycon henni* (Sabaleta)

Asbleidy Montoya Zuluaga*; Felipe Jiménez Rave*; Gustavo Lenis Sucerquia*¹,
Henry Cardona Cadavid*²

*Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia.

¹Grupo de Investigación en Ciencias Agrarias, GRICA, Universidad de Antioquia. ²Grupo de Investigación en Genética, Mejoramiento y Modelación Animal, GaMMA,

Universidad de Antioquia. e-mail de contacto:

asbleidy.montoya@udea.edu.co;

felipe.jimenezr@udea.edu.co

Resumen

El presente estudio evaluó los diámetros ovocitarios de Sabaletas, *Brycon henni* de acuerdo al peso y talla de las hembras como criterio de selección de madurez gonadal. Este trabajo se desarrolló en la estación piscícola San José del Nus en el municipio de San Roque. Se realizaron 6 muestras, una mensual, se tomaron 10 hembras al azar por cada muestreo, en los cuales se midieron la talla y peso de los ejemplares; de estas hembras se obtuvieron los ovocitos mediante la técnica de biopsia ovárica y se le midió a cada uno su diámetro ovocitario. Se analizaron estadísticamente las variables talla y peso con respecto al diámetro por correlación y regresión, adicionalmente se diseñó un modelo donde se analizó el diámetro en función del mes y la talla tanto en dimensión lineal como cuadrática, y ya que el peso no dio significancia, este no se incluyó en el modelo. Se observó un rango de diámetro ovocitario que oscila entre 1130 a 2107µm, promedio general de 1468.80 ± 109.39µm, peso y talla máxima de 135g y 23cm respectivamente. Se encontró diferencia significativa en los meses de octubre y noviembre con respecto a la correlación y regresión de talla-diámetro. Los diámetros ovocitarios encontrados en esta investigación se relacionan con el estadio III de madurez gonadal, por lo cual, al igual que lo reportado en otros trabajos en Colombia con esta misma especie, es posible decir que las hembras del estanque estaban en capacidad de recibir tratamientos hormonales para una reproducción inducida, ya que pueden madurar en todos los meses del año en estanques a temperaturas del agua que fluctúan

de 24 a 25°C. Se infiere que no toda hembra de esta especie la cual tenga una mayor talla y peso, va tener los diámetros ovocitarios más grandes, por lo que todas estas Sabaletas pueden ser sujetos de protocolos de inducción hormonal para una reproducción inducida sin importar las variables de talla y peso, ya que las hembras están maduras sexualmente.

Palabras clave: Peces nativos Colombia, biopsia ovárica, tratamientos hormonales, reproducción inducida.

Agradecimientos

A la Estación Piscícola de San José del Nus, sede de regionalización para prácticas académicas e investigativas de la Universidad de Antioquia, por permitirnos acceder a las muestras e instalaciones para realizar el proyecto, a la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad de Antioquia por su apoyo logístico y académico.

* Proyecto aprobado por: Comité de Ética para la Experimentación Animal de la UdeA: Acta 113 del 17 de octubre de 2017



Evaluation of oocyte diameters relative to size and weight of *Brycon henni* (Sabaleta)

Abstract

This study assessed the oocyte diameters of Sabaletas, *Brycon henni*, according to weight and size of females as a criteria of selection of gonadal maturity. This work was conducted in the fish farm San Jose de Nus, in the municipality of San Roque. 6 samples, 1 monthly, were made, in which 10 random females were taken on each sample, measuring weight and size; from these females oocytes were obtained through ovarian biopsy and each one of them was measured on oocyte diameter. The variabilities of weight and size were statistically analyzed with respect to the diameter by correlation and regression, additionally it was designed a model where the diameter was analyzed according to the month and the size in both linear and quadratic dimensions, and since the weight was not significant, it was not included in the model. A range an oocyte diameter was observed ranging from 1130 to 2107µm, general average of $1468.80 \pm 109.39\mu\text{m}$, maximum weight and size of 135g and 23 cm respectively. A significant difference was found in the months of November and October regarding the correlation and regression of size-diameter. The oocyte diameters found in this research are related with the III state of gonadal maturity, that's why, as reported in other works in Colombia with this same species, it is possible to state that female in the fishpond were in capacity to receive hormonal treatment for induced reproduction, as they can mature in all the months of the year in fishponds with water temperatures ranging from 24 to 25 ° C. It can be stated that not all females from this species with more weight and size, are going to have a greater number of oocyte diameter, reason why all these Sabaletas may be subjects of hormonal induction protocols for an induced reproduction regardless of the variables of weight and size, since the females are sexually mature.

Keywords: Native fish Colombia, ovarian biopsy, hormonal treatments, induced reproduction.

Evaluación de dos protocolos de ovulación múltiple (Pluset® o Folltropin®) en transferencia de embriones ovinos

Daniel Fernando González Mendoza¹, Erika Eliana Toloza Gordillo², Claudia Jiménez Escobar³

¹M.V.Z., Esp. en Producción Animal. Estudiante Maestría Salud Animal Grupo Investigación Reproducción Animal y Salud de Hato, Universidad Nacional de Colombia, dafgonzalezme@unal.edu.co Docente tiempo completo Grupo investigación INPANTA Fundación Universitaria Juan de Castellanos. E – mail: dgonzales@jdc.edu.co.

²Matemática. MsC(c) Matemáticas Aplicadas Asesora estadística Docente UPTC, Grupo investigación INPANTA Fundación Universitaria Juan de Castellanos. E – mail: erika.toloza@uptc.edu.co. ³DVM, MSC, DVSC, DACT Profesor Asociado Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia Universidad Nacional de Colombia. Grupo investigación Reproducción Animal y Salud de Hato, cjimeneze@unal.edu.co.

Resumen

El objetivo de este estudio preliminar es determinar el mejor protocolo de superovulación para transferencia embriones ovinos in vivo. Para el estudio se utilizan ovinos de razas Katadin Pelibuey y Dorset, seleccionando 10 hembras adultas entre primero y sexto parto, las cuales estarán en buenas condiciones sanitarias y nutricionales, se sincronizan mediante esponjas vaginales impregnadas con 60mg de Acetato Medroxiprogesterona, por 13 días. El tratamiento de superovulación se realizará entre el día 11 al 14, con dosis decrecientes de Folltropin 160mg de la hormona folículo estimulante -pFSH y en Pluset 250 UI los cuales se aplican intramuscular cada 12h. Concomitante con la remoción del dispositivo vaginal en el día 13, se detectará celo con el macho vasectomizado y se realizará monta natural controlada con los machos reproductores; al día siete de la monta, se realiza la recolección por medio de laparotomía, luego evaluación y clasificación de embriones de acuerdo a protocolo de la IETS. Hasta el momento en los resultados obtenidos no hay diferencias significativas en cuanto a respuesta porcentaje de superovulación, el número de embriones recuperados producidos por oveja fue similar, con valores de 8 y 7 embriones/oveja para Folltropin® y Pluset® respectivamente; el porcentaje de embriones producidos de acuerdo a estadios embrionarios y

calidad fue similar en Folltropin® y Pluset®; el menor costo por embrión producido por oveja se obtuvo con Pluset®. De acuerdo a estos resultados preliminares se recomienda el uso de Pluset® solo por ser un poco menor la inversión por embrión, ya que no hay diferencias significativas entre tratamientos.

Palabras clave: Criopreservación, ovejas, devitrificación, pajilla abierta (OPS), pajilla 0,25 cc

Agradecimientos

Fundación Universitaria Juan De Castellanos, Escuela Posgrado Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia Universidad Nacional Colombia sede Bogotá, Colciencias.

Evaluation of two multiple ovulation protocols (Pluset® or Folltropin®) in transfer of ovine embryos

Abstract

The objective of this study is to determine the most suitable protocol of superovulation for in vivo bovine embryo transfer. For this study bovines from the breeds Katahdin Pelibuey and Dorset were used, selecting 10 grown female ranging from their 1st to 6th parturition, which will be in good nutritional and sanitarian conditions, they were synchronized through vaginal sponges impregnated with 60mg of Acetate Medroxyprogesterone, during 13 days. The superovulation treatment will be held from day 11 to 14, with decreasing doses of Foltropin 160mg of the follicle-stimulating hormone – pFSH and in pulset 250 IU which are applied intramuscularly every two hours. Concomitantly with the removal of the vaginal device in day 13, the heat with the vasectomized male will be detected and a natural and controlled mating will be conducted with the reproductive males; the day after the mating, a collection through laparotomy will be carried out, after that an evaluation and classification of the embryos obtained according to the IETS protocol will take place. So far there are no significant differences on the results obtained regarding a response to superovulation, the number of retrieved embryos for sheep was similar, with values of 8 and 7 embryo/sheep Folltropin® y Pluset® respectively; the percentage of embryos produced according to the embryo states and quality was similar in both Folltropin® y Pluset®; the lowest cost per embryo produced by a sheep was obtained with Pluset®. According to these preliminary results it suggested the use of Pluset® just for the fact of being a bit lower the cost of the investment per embryo, since there are no significant differences between the treatments.

Keywords: Cryopreservation, sheep, devitrification, open-pulled straw, pulled 0,25cc.

Determinación de la cantidad, y calidad de embriones obtenidos en tratamientos de superovulación en ovejas de uno y más partos de la FUJDC

Becerra Abril, Jessika Lucia¹, González Mendoza Daniel Fernando², Toloza Gordillo Erika Eliana³, Jiménez Escobar Claudia⁴

¹Tecnóloga en producción agropecuaria ecológica. Estudiante VIII Ingeniería Agropecuaria Fundación Universitaria Juan De Castellanos Grupo investigación INPANTA Email: jlbecerra@jdc.edu.co. ²M.V.Z., Esp. en Producción Animal. Estudiante Maestría Salud Animal Grupo Investigación Reproducción Animal y Salud de Hato, Universidad Nacional de Colombia, dafgonzalezme@unal.edu.co Docente tiempo completo Grupo investigación INPANTA Fundación Universitaria Juan de Castellanos. E – mail: dgonzalez@jdc.edu.co. ³Matemática. MsC(c) Matemáticas Aplicadas Asesora estadística Docente UPTC, Grupo investigación INPANTA Fundación Universitaria Juan de Castellanos. E – mail: erika.toloza@uptc.edu.co. ⁴DVM, MSC, DVSC, DACT Profesor Asociado Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia Universidad Nacional de Colombia. Grupo investigación Reproducción Animal y Salud de Hato, cjimenez@unal.edu.co.

Resumen

La reproducción en pequeños rumiantes en el departamento de Boyacá se desarrolla mediante prácticas tradicionales obteniendo una cría anual a partir de montas libres, acarreado la no renovación de la genética que conlleva a pérdidas económicas en el aumento de la mortalidad embrionaria, siendo necesario incursionar en las biotecnologías reproductivas como herramienta de desarrollo paulatino, con el fin de generar técnicas de transferencia embrionaria capaz de introducir la genética deseada a niveles de calidad obtenida desde las donantes, y con resultados de expresión fenotípica deseada al ambiente incursionado, es por ende que el objetivo de este estudio es la evaluación en calidad y cantidad de embriones viables para transferencia *in vivo* en ovinos con cruce de las razas Dorset, Kathadin y Pelibuey del rebaño de la Fundación Universitaria Juan de Castellanos, ubicado en el municipio de Soracá (Boyacá), a una altura de 2942 msnm y temperatura promedio de 13°C, empleando diez (10) hembras de una población de 25, las cuales son divididas completamente al azar en dos grupos dependiendo del número de partos (uno y

más partos), para ser sometidas a un tratamiento de superovulación con esponja intravaginal impregnadas con 60mg de Acetato Medroxiprogesterona por 13 días , seguido de la detección de celo y servidas en monta natural en los días 15 -16, la recuperación embrionaria se realizará en el séptimo día después de la monta mediante laparotomía y por arrastre con solución PBS suministrada por medio de sonda Foley ubicada en el tercio del cuerno uterino, para luego ser llevados a caja de Petri y posterior observación bajo estereoscopio (10X y 40X) con propósito de cualificar su calidad mediante estadística descriptiva, según lo establecido por la Sociedad Internacional de Transferencia Embrionaria (IETS) y cuantificar su viabilidad para llevarlo a tasa de recuperación, esperando obtener el 60% de embriones viables en estado mórula y blastocito para los dos grupos de estudio.

Palabras clave: Biotecnología, blastocito, donadoras, laparotomía, mórula, transferencia *in vivo*.

Agradecimientos

Fundación Universitaria Juan De Castellanos, Escuela Posgrado Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia Universidad Nacional Colombia sede Bogotá, Colciencias.



Determination of the quantity and quality of embryos obtained in the treatment of superovulation in sheep of one and more births of the FUJDC

Abstract

Reproduction in small ruminants in Boyacá department is carried out through traditional practices, obtaining one brood a year out of free mating. This leads not to renovate the genetic line which causes economic losses due to the rising of the embryo mortality, being thus necessary to venture into reproductive biotechnologies as tools for gradual development, with the aim of generating techniques of embryo transfer capable to introduce the desired genetics to levels of quality obtained from the donors and with results of optimal phenotypic expression to the used environment. Thus, the main objective of this study is the quality and quantity assessment of embryo viability for *in vivo* transfer in sheep with crossing of races Dorset, Kathadin and Pelibuey from the herd of Fundación Universitaria Juan de Castellanos, located in the municipality of Soracá (Boyacá), with a height of 2942 meters above sea level and average temperature of 13 ° C, using 10 females from a group of 25, which were randomly divided in two groups depending on the number of parturitions (One and more parturitions), to be putted under a hyper ovulation treatment with intra vaginal sponges impregnated with 60mg of Acetate Medroxyprogesterone, during 13 days; this will be followed to a heat detection and natural mating during the days 15 to 16. The embryo retrieving will be carried out in the 7th day after the mating, through laparotomy and by dragging with PBS solution applied through Foley probe located in the third of the uterine horn. Later they will be taken to Petri cage and to observation through stereoscope (10x and 40x), with the purpose of assessing their quality through descriptive statistic, as established by the International Embryo Technology Society (IETS), and to quantify their viability, and then take them to recuperation rate, hoping to obtain a rate of 60% of viable embryos in morula and blastocyst state, for the two groups of study.

Keywords: Biotechnology, blastocyst, donor, laparotomy, morula, *in vivo* transfer.

Perfiles electroforéticos unidimensionales de proteínas del fluido uterino, en el estro de vacas Cebú y Sanmartinero

José H Velásquez Penagos¹; José G Velásquez Penagos¹; Jaime A Cardozo Cerquera¹; Fabian Rueda¹; Eliana Neira Rivera¹; Sonia Lucia Gutierrez P¹; Lidy V Castillo Barón¹; William Correal¹.

¹Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, AGROSAVIA, Grupo de investigación Reproducción Tropical. e-mail: jvelasquezp@corpoica.org.co

Resumen

El objetivo de este estudio fue determinar los perfiles unidimensionales de las proteínas de fluido uterino en el día del estro de vacas de primer parto Cebú y Sanmartinero. Se realizaron 10 perfiles electroforéticos 1D SDS PAGE, 5 por raza el día del primer celo postparto. La información se analizó mediante estadística descriptiva. Las diferencias estadísticas entre razas se determinaron mediante una prueba de t. El análisis de las imágenes de los geles permitió evidenciar un número de 20 bandas de proteína en el fluido uterino con pesos moleculares entre 7 y 210 kDa. Las bandas de proteínas que se expresaron con mayor frecuencia fueron las de peso molecular (PM) de 12, 13, 25, 28, 33, 42, 48, 52 y 65 kDa, mientras que las de menor frecuencia de presentación fueron las bandas de proteína de PM 7, 9, 10, 18, 38, 57 y 77 kDa. En los perfiles electroforéticos de las vacas Sanmartinero y Cebú las bandas de mayor concentración fueron las de 77, 65, 52 y 25 kDa (55,4%), en tanto que las de concentración $\leq 5\%$ fueron las de 10, 12, 13 y 16 kDa. En este trabajo no se encontraron diferencias estadísticas ($p > 0,05$) entre razas para los valores de concentración relativa de las bandas de 25, 52, 65 y 77 kDa. La expresión, presentación y concentración de bandas de proteína del fluido uterino el día del celo para este estudio no evidenció diferencias entre las razas Cebú y Sanmartinero.

Palabras clave: Cebú, Sanmartinero, expresión, banda de proteína, fluido uterino, perfil proteico.

One-dimensional electrophoretic profiles of uterine fluid proteins in the estrus of Cebu and Sanmartinero cows

Abstract

The main objective of this study was to determine the one-dimensional electrophoretic profiles of uterine fluids in the estrus of cows in their first parturition in races Cebu and Sanmartinero. 10 electrophoretic profiles were carried out 1D SDS PAGE, 5 for every breed in the day of the first birth postpartum. The information was analyzed through descriptive statistic. The statistic differences were determined between the races through a T test. The analysis of the images of the gels allowed to evidence a 20 protein band number in the uterine fluid with molecular weights ranging from 7 to 210 kDa. The protein bands expressed with the most frequency were the ones with molecular weight (MW) of 12, 13, 25, 28, 33, 42, 48, 52, 65 kDa, meanwhile the ones with the less frequency were the protein bands PM 7, 9, 10, 18, 38, 57 and 77 kDa. In the electrophoretic profiles of the Sanmartinero and Cebu cows the bands with the most concentration were 77, 65, 52 and 25 kDa (55,4%), while the ones with concentration of $\leq 5\%$ were 10, 12, 13 and 16 kDa. In this work we could not find statistic differences ($p > 0,05$), between races for the relative concentration values of the bands 25, 52, 65 and 77 kDa. The expression, presentation and concentration of the protein bands of the uterine fluid in the heat day did not show differences between the breeds Cebu and Sanmartinero.

Keywords: Zebu, Sanmartinero, expression, band protein, uterine fluid, protein profile.



Estabilidad de membrana y actividad mitocondrial del semen bovino congelado con LDL y trehalosa

Elizabeth Varela G^{1,3}, Mauricio Rojas L^{2,4},
 Giovanni Restrepo B^{1,5}

¹Grupo de Investigación en Biotecnología Animal (GIBA), Universidad Nacional de Colombia - Politécnico Colombiano Jaime Isaza Cadavid – Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín. ²Grupo de Inmunología Celular e Inmunogenética (GICG), Sede de Investigación Universitaria (SIU), Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia. ³e-mail: elvarelagi@unal.edu.co. ⁴e-mail: mauricio.rojas@udea.edu.co. ⁵e-mail: grestre0@unal.edu.co.

Resumen

El proceso de criopreservación causa la desestabilización de la membrana plasmática del esperma, dando lugar a efectos secundarios negativos tales como la criocapacitación prematura, la apoptosis y la baja actividad mitocondrial de los espermatozoides bovinos. Los efectos adversos del proceso de criopreservación se pueden minimizar mediante la utilización de agentes crioprotectores. El objetivo de este estudio fue evaluar la estabilidad de la membrana plasmática y observar la actividad mitocondrial del semen bovino criopreservado cuando se suplementan diferentes fuentes de lipoproteínas de baja densidad (LDL) y Trehalosa (T). Diez eyaculados seleccionados a partir de cinco toros fueron criopreservados bajo los tratamientos: lipoproteínas de baja densidad (LDL, 8%, v/v), trehalosa (T, 100 mM), LDL y T (TLDL, 8% v/v y 100 mM), yema de huevo centrifugada (YHC, 20% v/v) y yema de huevo (YH, 20% v/v) como control. Posteriormente, después de la descongelación del semen, se evaluaron la estabilidad de la membrana plasmática y la actividad mitocondrial del semen bovino criopreservado mediante citometría de flujo a través de las tinciones M-540/Yopro-1 y DIOC6/PI; se utilizó un modelo completamente al azar. Las fuentes de variación se evaluaron mediante un modelo lineal generalizado y la comparación de las medias ajustadas entre tratamientos se realizó mediante la prueba de Tukey. Los diluyentes con YHC y LDL tuvieron un efecto superior sobre la criocapacitación y la actividad mitocondrial de los espermatozoides

criopreservados en comparación con T, LDLT y YH (p<0.05), no se encontraron diferencias entre YH y LDL en términos de espermatozoides criocapacitados y actividad mitocondrial, las LDL no difirieron en la actividad crioprotectora con respecto a TLDL (p <0.05). Se concluyó que los diluyentes YHC y LDL generan un efecto crioprotector superior a la YH, T y TLDL.

Palabras clave: Lipoperoxidación, estrés oxidativo, crioprotector.



Membrane stability and mitochondrial activity of bovine semen frozen with LDL and trehalose

Abstract

The cryopreservation process causes destabilization of the plasmatic membrane of the sperm, leading to negative secondary effects such as premature cryocapacitation, apoptosis and low mitochondrial activity of the bovine spermatozooids. The adverse effects of the process of cryopreservation can be reduced through the use of cryoprotective agents. The aim of this study was to assess the stability of the plasmatic membrane and observe the mitochondrial activity of cryopreserved bovine semen, when different sources of low density lipoproteins (LDL) and Trehalose (T) are supplemented. Ten semen samples selected from five bulls were cryopreserved under the treatments: low density lipoproteins (LDL, 8%, v/v), trehalose (T, 100 mM), LDL y T (TLDL, 8% v/v y 100 mM), centrifuged egg yolk (YHC, 20% v/v) and egg yolk (YH, 20% v/v) as control. Later, after the semen thawing, the stability of the plasma membrane and the mitochondrial activity of the cryopreserved bovine semen were evaluated by flow cytometry through the M-540 / Yopro-1 and DIOC6 / PI stains; a completely random model was used. The sources of variation were evaluated through the Tukey test. The diluents with YHC and LDL had a superior effect on the cryocapacitation and the mitochondrial activity of the cryopreserved spermatozoa compared to T, LDLT and YH ($p < 0.05$), no differences were found between YH and LDL in terms of cryopreserved spermatozoa and mitochondrial activity, LDL did not differ in the cryoprotective activity with respect to TLDL ($p < 0.05$). It was concluded that the YHC and LDL diluents generate a cryoprotective effect superior to YH, T and TLDL.

Keywords: Lipid peroxidation, oxidative stress, cryoprotectant.

Actividad enzimática antioxidante del semen bovino criopreservado con LDL y trehalosa

Elizabeth Varela G.^{1,3}, Jorge Gómez Oquendo^{1,4}, Benjamín A. Rojano.^{2,5}, Giovanni Restrepo B.^{1,6}

¹Grupo de investigación en Biotecnología Animal, Politécnico Colombiano Jaime Isaza Cadavid – Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín, Antioquia, Colombia.

²Grupo de Investigación en Química de los Alimentos y los Productos Naturales, Universidad Nacional de Colombia sede Medellín, Antioquia, Colombia. ³E-mail: elvarelagi@unal.edu.co. ⁴E-mail: jegomez@elpoli.edu.co.

⁵E-mail: brojano@unal.edu.co. ⁶E-mail: grestre0@unal.edu.co

Resumen

La criopreservación reduce la calidad posdescongelación de los espermatozoides porque provoca un aumento en la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), que inducen alteraciones espermáticas; la actividad antioxidante enzimática del semen puede minimizar estos efectos. El objetivo de este estudio fue evaluar la capacidad antioxidante enzimática del semen bovino criopreservado con diferentes fuentes de lipoproteínas de baja densidad (LDL) y trehalosa (T). Diez eyaculados seleccionados a partir de cinco toros fueron criopreservados bajo los tratamientos: LDL (8% m/v), T (100 mM), TLDL (T 100 mM y LDL 8% m/v), Yema de huevo centrifugada (YHC, 20% v/v) y Yema de huevo (YH, 20% v/v) como tratamiento control. Después del proceso de descongelación del semen, se evaluó la capacidad enzimática antioxidante de la Catalasa (CAT), la Superóxido Dismutasa (SOD) y la Glutación Peroxidasa (GPx) del semen bovino por espectrofotometría y su relación con los parámetros cinéticos espermáticos. Se utilizó un modelo completamente al azar; la normalidad de las variables se validó mediante la prueba de Kolmogórov-Smirnov, las fuentes de variación se evaluaron a través de un modelo mixto, la comparación de las medias entre los tratamientos se llevó a cabo utilizando la prueba de Tukey. Los tratamientos YH, YHC y LDL aumentaron la actividad antioxidante de CAT y GPx y se correlacionaron positivamente con los parámetros cinéticos y la integridad de la membrana espermática ($p < 0,05$); no se encontraron diferencias entre LDL y TLDL con respecto a la

actividad de CAT y GPx ($p < 0,05$); la actividad enzimática de SOD no mejoró con ninguno de los diluyentes en comparación con el control (YH) ($p < 0,05$); T no mejoró la actividad antioxidante de las enzimas utilizadas. Se concluye que los diluyentes con YH, YHC y LDL mejoran la actividad antioxidante de CAT y GPx, generando una correlación positiva con la calidad seminal.

Palabras clave: Antioxidantes, criopreservación, estrés oxidativo.

Enzymatic antioxidant activity of bovine semen cryopreserved with LDL and trehalose

Abstract

Cryopreservation reduces the quality after the thawing in the sperm because it causes a rising in the production of species reactive to oxygen (ROS), which induces spermatic alterations; the enzymatic antioxidant activity of the semen can minimize this effects. The aim of this study is was to assess the enzymatic antioxidant capacity of cryopreserved bovine semen with different sources of low density lipoproteins (LDL) and trehalose (T). Ten semen samples from 5 bulls were cryopreserved under the treatments: LDL (8% m/v), T (100 mM), TLDL (T 100 mM y LDL 8% m/v), centrifuged Egg Yorlk (YHC, 20% v/v) and Egg Yolk (YH, 20% v/v) as control treatment. After the semen thawing process, the antioxidant enzymatic capacity of Catalase (CAT), Superoxide Dismutase (SOD) and Glutathione Peroxidase (GPx) of bovine semen was evaluated by spectrophotometry and its relation with spermatic kinetic parameters. A random model was used; the normality of the variables was validated through a Kolmogórov- Smirnov test; the variation sources were assessed through a mix model and the comparison of the measures between the treatments was carried out by using the Tukey test. The YH, YHC and LDL treatments increased the antioxidant activity of CAT and GPx and were positively correlated with the kinetic parameters of the integrity of the spermatic membrane ($p < 0,05$); there were no differences between LDL and TLDL with respect to the CAT and Gpx ($p < 0.05$) activity; the enzymatic activity of SOD did not improve with any of the diluents in comparison with the control (YH) ($p < 0,05$): T did not improve the antioxidant capacity of the implemented enzymes. It is concluded that diluents with YH, YHC and LDL, improve the antioxidant activity of CAT and GPx, generating a positive correlation with the sperm quality.

Keywords: Antioxidants, cryopreservation, oxidative stress.



Comparación de dos protocolos de criopreservación utilizando diferentes medios diluyentes en toros de raza Brahman empleando dos métodos de congelación

Anggie K, González¹, José D, Pallarez², Astrid P. Cañon³, Jair Pérez Osorio⁴.

^{1,2,3}Medico Veterinario, Universidad de la Salle, Facultad de Ciencias Agropecuarias. ⁴Profesor Titular, Grupo Remeat, Universidad de la Salle, Facultad de Ciencias Agropecuarias.

Resumen

El objetivo de este trabajo fue comparar dos protocolos de criopreservación empleando diferentes medios diluyentes (Botu-Bov® y Tris citrato yema de huevo) en semen bovino utilizando diferentes tecnicas de congelación. Para esto se utilizaron 14 toros de la raza Brahman con edades (entre 3 y 5 años), previamente evaluados a traves del examen clínico andrológico, con fertilidad comprobada, libres de enfermedades infecto contagiosas, sometidos al mismo manejo en sistemas semintensivo, alojados en potreros en pastoreo rotacional de *Brachiaria Brizantha* y *Brachiaria Decumbens*, localizados en la región de la Danta – Antioquia. El semen se obtuvo por medio de la técnica de electroeyaculación, para cada muestra seminal se determinaron características (microscopicas y macroscopicas seminales). Posteriormente calculado el numero total de celulas viables en el eyaculado total, y para ajustar la concentración por pajilla de 0,5 ml a 60 millones. Inmediatamente cada eyaculado fue fraccionado en dos partes iguales para realizar la dilución final con dos medios diluyentes: T1 con Botu-Bov® y T2 con Tris Citrato, y fueron evaluadas las características espermaticas nuevamente y realizado el envase en pajillas. Posteriormente se realizó una curva de enfriamiento para Botu-Bov® de 6 horas, y una curva de 12 horas para Tris Citrato, luego se realizó la curva de congelación en caja de vapor de nitrogeno liquido a una distancia de 7 cm del vapor de nitrogeno por 15 minutos e inmersión de las pajillas en el nitrógeno líquido y posterior almacenamiento en el tanque de nitrogeno. En el proceso post-descongelamiento, fueron realizadas cuatro pruebas específicas: integridad y funcionalidad de

la membrana plasmática en la cola del espermatozoide mediante la prueba HOST; la viabilidad espermática por medio de la prueba de termo resistencia, la morfología espermática por medio de coloraciones. Fue empleado el programa Statgraphics y realizado el test t Student para comparar los dos grupos experimentales: G1 diluyente Botu-Bov®; G2 diluyente Tris Citrato utilizando análisis de varianza. No fue posible de observar diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los grupos y tratamientos. Con este estudio se demuestra que con el uso de diluyentes a base yema de huevo se pueden obtener buenos índices de viabilidad pos-descongelación que permiten utilizar muestras en protocolos de IATF.

Palabras clave: Bovino, espermatozoide, criopreservación, crioprotector.



Comparison of two cryopreservation protocols using different diluent media in Brahman bulls using two methods of freezing

Abstract

The objective of this work was to compare the protocols of cryopreservation using different diluents (Botu-Bov® and Tris citrato egg yolk) in bovine semen using different techniques for freezing. For this purpose 14 Brahman bulls were used with ages ranging from 3 to 5 years, previously evaluated through a andrology clinical examination, with proved fertility, free of any infectious contagious disease, submitted all of them to the same treatment in the semi intensive system, hosted in rotational grazing paddocks, located in the region of La Danta - Antioquia. The semen was obtained through the electro ejaculation technique, for every seminal sample some characteristics were determined (microscopic and macroscopic). Later, the total amount of viable cells was calculated in the total ejaculation, and to adjust the concentration per straw from 0.5 ml to 60 million. Immediately, every ejaculation was fractioned in two equal parts to do the final distribution with two diluent ways: T1 with Botu-Bov® and T2 with Tris Citrato, and the spermatic characteristics were evaluated again and a packing on straws was made. Subsequently, a cooling curve for Botu-Bov® of 6 hours was made, and a curve of 12 hours for Tris Citrato, then, the liquid nitrogen vapor box freezing curve was performed at a distance of 7 cm from the nitrogen vapor for 15 minutes and immersion of the straws in the liquid nitrogen and subsequent storage in the nitrogen tank. In the post- freezing process, 4 specific tests were made: integrity and functionality of the plasmatic membrane in the tail of the sperm through HOST test; the spermatic viability through the thermo-resistant test, the spermatic morphology through colorations. The Statgraphics program was used and the Student t test was carried out to compare the two experimental groups: G1 diluent Botu-Bov®; G2 diluent Tris Citrate using analysis of variance. It was not possible to observe significant differences ($p > 0.05$) between the two groups and treatments. With this study it is shown that with the use of egg yolk based diluents good post-

thawing feasibility indices can be obtained which allow to use samples in protocols of IATF.

Keywords: Cattle, sperm, cryopreservation, cryoprotectant.

Establecimiento de un protocolo de criopreservación empleando INRA82 + dimetilfomamida y Kenney + glicerol en los parámetros espermáticos post descongelación en ponis de raza Falabella

Diana C. Preciado¹, Sergio I. Pulido², Astrid. P. Cañón³, Jair Perez Osorio⁴.

^{1,2,3}Medico Veterinario, Universidad de la Salle, Facultad de Ciencias Agropecuarias. ⁴Profesor Titular, Grupo Remeat, Universidad de la Salle, Facultad de Ciencias Agropecuarias.

Resumen

El planteamiento de esta investigación fue determinar la eficiencia de dos crioprotectores y dos medios diluyentes, Kenney + Glicerol e INRA82 Dimetilfomamida, con el objetivo de conocer y mejorar los parámetros espermáticos post descongelación en la raza de ponis Falabella, este es el primer estudio que se realiza en Colombia. Se utilizó eyaculado de 6 ponis de la sabana de Bogotá, para evaluar parámetros como motilidad, morfología, vigor e integridad de la membrana plasmática. El semen se fraccionó en dos partes iguales y se diluyó con medio diluyente sin crioprotector. Posteriormente las muestras se centrifugaron a 2500 rpm, 12 minutos, se retiró el sobrenadante y fue ajustada la concentración a 150×10^6 spz/ml. Inmediatamente se adicionaron los medios INRA82+dimetilfomamida y Kenney + glicerol, se evaluaron los parámetros espermáticos y se sometieron las muestras a una curva de enfriamiento de 5°C durante 120 minutos y exposición a vapor de nitrógeno durante 15 minutos en caja de icopor, posteriormente se almacenó en nitrógeno líquido. Se estimó la motilidad total, progresiva y el vigor en microscopía óptica. La morfología de las células se evaluó usando tinción de eosina nigrosina y la integridad de la membrana plasmática de la cola de los espermatozoides mediante el test Hiposmótico. No fue posible observar diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los dos crioprotectores, pero sí hubo un cambio significativo ($p < 0.05$) en el tiempo (minuto 60) con el tratamiento de dimetilformamida + INRA82 modificado. Concluyendo que la dimetilformamida, en el INRA 82 modificado, mejora las características espermáticas pos

descongelación, ya que este crioprotector presenta una alta y rápida difusión a través de la membrana celular y ejerce diferentes mecanismos de crioprotección en las células.

Palabras clave: Criopreservación, dimetilformamida, glicerol, ponis, semen.



Establishment of a cryopreservation protocol using INRA 82 + dimethylformamide and Kenney + glycerol in post-thawing sperm parameters in Falabella breed ponies

Abstract

The approach of this research was to determine the efficiency of two cryoprotectants and two diluents, Kenney + Glicerol e INRA82 Dimetilfomamida, with the objective of knowing and improving the post- thawing spermatic parameters, in the breed Fallabella. This is the first study of this kind in Colombia. The sperm of 6 ponys from Sabana de Bogota was used, to assess the parameters of motility, morphology, vigor and integrity of the plasmatic membrane. This semen was fractured in two equal parts and diluted in half diluent without cryoprotectant. Later the samples were centrifuged to 2500 rpm, 12 minutes, the supernatant was removed and the concentration was adjusted to 150×10^6 spz/ml. immediately the INRA82+dimetilfomamida and Kenney + glycerol mediums were added, the spermatic parameters were evaluated and the samples were subjected to a cooling curve of 5°C for 120 minutes and exposure to nitrogen vapor for 15 minutes in a polystyrene box, then stored in liquid nitrogen. The total and progressive motility was estimated, so as the vigor in microscopic optics. The morphology of the cells was evaluated using nigrosine eosin stain, and the integrity in the plasmatic membrane of the tail of the sperm through a Hypoosmotic test. It was not possible to observe significative differences ($p > 0.05$) between the two cryoprotectants, but there was a significative change ($p > 0.05$) in the time (minute 60) with the treatment with Dimethylformamide + INRA 82 modified. Concluding that dimethylformamide, in the IINTRA 82 modified, improves the post-thawing spermatic characteristics, since this cryoprotectant has a high and quick diffusion in the cellular membrane and performs different mechanisms for cellular cryopreservation.

Keywords: Cryopreservation, dimethylformamide, glycerol, ponies, semen.

Efecto de la liofilización sobre la actividad mitocondrial y la integridad del ADN de los espermatozoides equinos

Giovanni Restrepo^{1,4}, Elizabeth Varela^{2,5}, Juan Esteban Duque^{2,6}, Jorge Enrique Gómez^{2,7}, Mauricio Rojas^{3,8}

¹Faculty of Agricultural Sciences, Universidad Nacional de Colombia, Medellín, Colombia. ²Faculty of Agricultural Sciences, Politécnico Colombiano Jaime Isaza Cadavid, Medellín, Colombia. ³Institute of Medical Research, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. ⁴Email: grestre0@unal.edu.co. ⁵Email: elvarelagi@unal.edu.co. ⁶Email: juanduque@elpoli.edu.co. ⁷Email: jegomez@elpoli.edu.co. ⁸Email: mauricio.rojas@udea.edu.co

Resumen

La liofilización ha sido usada para la preservación de esperma de diferentes especies. Esto ha sido posible siempre que la esperma ha sido inyectada en los occitos usando ICSI sin que sea necesario que estén móviles. El objetivo de este estudio fue evaluar la actividad mitocondrial y la integridad del ADN de semen equino sometido a liofilización. Ocho eyaculaciones obtenidas de cuatro caballos criollos colombianos fueron sometidas a congelamiento programable (Control) y a liofilización. Después del descongelamiento o rehidratación, la movilidad espermática fue evaluada a través del sistema CASA. El potencial de la membrana mitocondrial ($\Delta\Psi M$) y el índice de fragmentación del ADN (DFI) de los espermatozoides fueron evaluados por citometría de flujo usando el DiOC6 (3) y tintes fluorescentes de yoduro de propidio (PI). El análisis estadístico se llevó a cabo vía modelos lineales (GML) y comparaciones de medias mediante la prueba de Duncan. El semen congelado-descongelado tuvo resultados de motilidad total y progresiva de $37.2 \pm 12.9\%$ y $19.4 \pm 3.9\%$, respectivamente. No se observó motilidad para los espermatozoides liofilizados después de la rehidratación. Se encontró una mayor tasa de espermatozoides con una $\Delta\Psi M$ alta para la liofilización ($40.2 \pm 21.9\%$) en comparación con la congelación ($21.8 \pm 15.1\%$) ($p < 0.05$). El DFI de las muestras de espermatozoides congelados ($0.03 \pm 0.05\%$) y liofilizados ($0.02 \pm 0.03\%$) no fue diferente ($p > 0.05$). La liofilización tiene una mayor capacidad

para preservar la actividad mitocondrial de los espermatozoides equinos en comparación con la congelación

Palabras clave: Equino, liofilización, semen.

Effect of freeze-drying on mitochondrial activity and DNA integrity of equine sperm

Abstract

Freeze-drying has been used for sperm preservation from different species. This has been possible whenever sperm is injected into the oocytes using ICSI without requiring them to be mobile. The aim of this study was to assess the mitochondria activity and DNA integrity of equine sperm subjected to freeze-drying. Eight ejaculates obtained from four Colombian Creole horses were subjected to programmable freezing (control) and freeze-drying. After thawing or rehydration, sperm motility was assessed through a CASA system. The mitochondrial membrane potential ($\Delta\Psi M$) and DNA fragmentation index (DFI) of the spermatozoa were assessed by flow cytometry using the DiOC6 (3) and propidium iodide (PI) fluorescent dyes. The statistical analysis was conducted via generalized linear models (GLM), and mean comparisons via Duncan test. Frozen-thawed semen had total and progressive motility results of $37.2 \pm 12.9\%$ and $19.4 \pm 3.9\%$, respectively. No motility was observed for the freeze-dried spermatozoa after rehydration. A higher rate of spermatozoa with a *high*- $\Delta\Psi M$ was found for freeze-drying ($40.2 \pm 21.9\%$) compared to freezing ($21.8 \pm 15.1\%$) ($p < 0.05$). The DFI of frozen ($0.03 \pm 0.05\%$) and freeze-dried spermatozoa ($0.02 \pm 0.03\%$) samples were not different ($p > 0.05$). Freeze-drying has a greater capacity to preserve the mitochondrial activity of equine sperm compared to freezing.

Keywords: Equine, freeze-drying, sperm.

Efecto de la quercetina sobre la integridad y funcionalidad de espermatozoide de carnero criopreservado*

Mariano E Acosta Lobo¹, Biol, MSc, (c) PhD;
Jorge Gil², DMV, MSc, PhD; Diego Correa
Silveira³, MV; Guzmán I Álvarez Touron⁴, Lic
Bioq, PhD

¹Fundación Universitaria Autónoma de las Américas, Colombia. mariano.acosta@uam.edu.co. ²Universidad de la República, Facultad de Veterinaria-CENUR-Litoral norte, Uruguay. jujogil@gmail.com. ³Facultade de Veterinaria, Universidade Federal de Pelotas, RS, Brasil. dcsilveira12@gmail.com. ⁴Universidad de la República, Laboratorio de moléculas bioactivas -CENUR- Litoral Norte, Uruguay. guzmanalvarezlqo@gmail.com

Resumen

La industria ovina requiere mejorar la inseminación artificial (IA) intrauterina con semen congelado. Sin embargo, con el semen congelado las tasas de fertilidad han sido bajas debido al estrés osmótico y oxidativo sufrido por el espermatozoide durante la congelación-descongelación. En este estudio se investigó si la suplementación con el antioxidante quercetina (Q) durante la criopreservación podría mejorar la integridad y funcionalidad del espermatozoide ovino. Para este propósito se evaluaron la integridad de membrana plasmática y la cinemática posdescongelación en la presencia o ausencia de RS (10, 25, 50, y 100 μ M). Se utilizó la prueba hiposmótica y el análisis espermático asistido por computador (CASA). La Q a 10 y 25 μ M mejoró los porcentajes de integridad de membrana (IM), motilidad total (MT), motilidad progresiva (MP) y espermatozoides rápidos (ER) con respecto al control (IM:42,5 y 50,7 vs 29,6), (MT: 53,4 y 61,6 vs 46,2) (MP: 29,7 y 35,2 vs 20,5) (ER: 21,3 y 25,2 vs 14,7) ($p<0.05$). La MT fue utilizada como indicador de viabilidad. Con la concentraciones de 50 y 100 μ M la Q disminuyó todos los porcentajes de variables respuesta analizados con respecto al control (IM: 16,4 y 11,7 vs 29,6) (MT: 31,4 y 22,5 vs 46,2) (MP: 18,9 y 12,8 vs 20,5) (ER: 9,3 y 6,9 vs 14,7) ($p<0.05$). Con estos resultados se concluye que la suplementación del diluyente de congelación con quercetina 10 y 25 μ M durante la criopreservación mejoró la integridad y funcionalidad de membrana y los parámetros

cinemáticos de los espermatozoides posdescongelación, teniendo en cuenta los porcentajes de MT, MP y ER, criterios utilizados en el cálculo de dosis viables para inseminación intrauterina en ovinos.

Palabras clave: Antioxidantes, criopreservación, quercetina, semen, cinemática posdescongelación, inseminación intrauterina



Effect of the quercetin on the integrity and functionality of cryopreserved ram sperm

Abstract

The ovine industry wants to improve the intrauterine Artificial Insemination (AI) with frozen semen. However with the use frozen semen the fertility rates have been low due to the osmotic and oxidative stress caused to the sperm during the freezing and thawing process. In this study it was studied whether the supplementation with the antioxidant quercetin (Q) during cryopreservation might improve the integrity and functionality of the ovine sperm. For this purpose it was assessed the integrity of the plasmatic and cinematic membrane post -thawing, in the presence or absence of RS (10, 25, 50, y 100 μM). A hypo-osmotic test and the spermatic analysis assisted by computer (CASA) were used. The Q at 10 and 25 μM improved the percentages of membrane integrity (MI), total motility (MT), progressive motility (MP) and rapid sperm (ER) with respect to the control (IM:42.5 y 50,7 vs 29,6), (MT: 53, 4 y 61,6 vs 46.2) (MP: 29,7 y 35,2 vs 20,5) (ER: 21,3 y 25,2 vs 14,7) ($p < 0.05$). The MT was used as an indicator of viability. With the concentrations of 50 and 100 μM the Q decreased all the percentages of response variables analyzed with respect to the control (MI: 16.4 and 11.7 vs 29.6) (MT: 31.4 and 22.5 vs 46, 2) (MP: 18.9 and 12.8 vs 20.5) (ER: 9.3 and 6.9 vs 14.7) ($p < 0.05$). With these results it is concluded that the supplementation of the freezing diluent with quercetin 10 and 25 μM during the cryopreservation improved the membrane integrity and functionality and the kinetic parameters of the post-thaw sperm, taking into account the percentages of MT, MP and ER, criteria used in the calculation of viable doses for intrauterine insemination in sheep.

Keywords: Antioxidants, cryopreservation, semen, quercetin, Post-thawing kinematic, insemination intrauterine.



Comparación de modelos para la evaluación genética de peso al año en ganado Blanco Orejinegro

Londoño Gil, M., Naranjo Guerrero, L.F., López Herrera, A., González Herrera, L.G.

Grupo de investigación en biodiversidad y genética molecular (BIOGEM). Departamento de producción animal. Universidad Nacional de Colombia sede Medellín. Calle 59 A N 63-20 Medellín, Colombia. Teléfono (+57 4) 4309059. Autores para correspondencia e-mail: malondonogi@unal.edu.co; lfnaranjog@unal.edu.co; alherrera@unal.edu.co; luggonzalezhe@unal.edu.co

Resumen

Para estimar valores genéticos confiables y conseguir mayores progresos genéticos, es importante identificar el modelo que mejor describe la variación de la característica, especialmente en razas donde los programas de mejoramiento son incipientes, como ocurre con la raza criolla colombiana Blanco Orejinegro (BON). El objetivo del trabajo fue comparar 5 modelos de evaluación genética para la característica peso al año (PA) en ganado BON. Se utilizaron datos de PA y genealogía de 154 y 461 animales respectivamente, de la Hacienda Bohemia (La Virginia-Risaralda). Todos los modelos, incluyeron efectos aleatorios del animal y del error. Los demás efectos incluidos por modelo fueron: **1)** efecto fijo de Grupo Contemporáneo (GC), compuesto por Año de Nacimiento (AN) y sexo; **2)** efectos fijos GC y Orden de Parto (OP); **3)** efectos fijos GC y OP, y efecto aleatorio materno (covarianza entre efecto materno y directo diferente de cero); **4)** efectos fijos GC, OP y efecto aleatorio materno (covarianza entre efecto materno y directo de cero); **5)** efectos fijos de AN, sexo y OP. Los modelos se compararon bajo los criterios de AIC, BIC, media de confiabilidad de los valores genéticos y error estándar (e.e.) de la heredabilidad (h^2). Las h^2 , sus respectivos e.e. y las confiabilidades medias de los valores genéticos fueron: $0,47 \pm 0,17$ y $0,47$; $0,56 \pm 0,26$ y $0,37$; $1 \pm 0,45$ y $0,41$; $0,48 \pm 0,26$ y $0,41$ y $0,36 \pm 0,26$ y $0,35$ para los modelos **1**, **2**, **3**, **4** y **5** respectivamente. Los valores de AIC y BIC variaron entre 746 y 1080, siendo más alto para el modelo **1**. El valor de h^2 (1,00) para el modelo **3**, supone dificultad para separar los componentes

de varianza. Por consiguiente, el modelo con mejor ajuste a los datos fue el **1**, aclarando que se tuvo prioridad a la hora de elegir el modelo, por los criterios de confiabilidad media de los valores genéticos y e.e. h^2 , por estar más relacionados con las estimativas de interés en un programa de mejoramiento genético. Utilizar el modelo **1**, con el efecto de GC en la raza criolla BON permitió el mejor ajuste a los datos en la evaluación genética para PA.

Palabras clave: Ajuste, confiabilidad, heredabilidad, progreso genético, mejoramiento genético, raza criolla.

Agradecimientos

Al Dr. Felipe Buitrago Sanint por el suministro de información de la Hacienda la Bohemia y a COLCIENCIAS, por el apoyo económico para el desarrollo del proyecto código 110177658049 “Conociendo nuestros recursos criollos: análisis genómico y búsqueda de regiones del genoma asociadas a características productivas, reproductivas y de salud en ganado blanco orejinegro (BON)”, que está en curso.



Comparison of models to the genetic evaluation for weight at year in Blanco Orejinegro breed

Keywords: Adjustment, reliability, heritability, genetic progress, genetic improvement, creole breed.

Abstract

To be able to estimate reliable genetic values, and getting higher genetic progress, it is important to identify the model that best describes the variation of the characteristics, especially in breeds where the improvement programs are inefficient, just as it happens in the Colombian creole breed Blanco Orejinegro (BON). The aim of this work was to compare 5 models of genetic evaluation for the characteristic of weight in a year (PA) in BON cattle. The data of PA and genealogy of 154 and 461 animals respectively were used, from la Bohemia Ranch (La Virginia- Risaralda). All the models, included aleatory effects from the animal and the mistake. The effects included by model were: 1) Fixed effect of the Contemporary Group (CG), composed of the Year of Birth (NA) and sex; 2) Fixed effects GC and Order of Labor (OP); 3) fixed effects GC and OP, and maternal random effect (covariance between maternal and direct effect different from zero); 4) fixed effects GC, OP and maternal random effect (covariance between maternal and direct effect of zero); 5) Fixed effects of AN, sex and OP. The models were compared under the AIC, BIC criteria, mean of reliability of the genetic values and standard error (e.e.) of the heritability (h^2). The h^2 , their respective e.e. and the reliability means of the genetic values were: : $0,47 \pm 0,17$ y $0,47$; $0,56 \pm 0,26$ and $0,37$; $1 \pm 0,45$ y $0,41$; $0,48 \pm 0,26$ and $0,41$ and $0,36 \pm 0,26$ and $0,35$ for all the models 1,2,3,4 and 5 respectively. The values of AIC and BIC varied between 746 and 1080, being higher the model 1. The value of h^2 (1.00) for model 3, implies difficulty in separating the components of variance. Thus, the model the best fitting to the data was 1, clarifying that there was a priority at the time of choosing the model, by the criteria of average reliability of the genetic values and e.e. h^2 , because they are more related to the estimates of interest in a breeding program. Using model 1, with the effect of GC in the BON Creole breed allowed the best adjustment to the data in the genetic evaluation for PA.

Técnicas de recolección seminal en gallos de raza criolla *Gallus domesticus* bajo condiciones de confinamiento

Martha Isabel Abaunza Carreño¹ MVZ, Esp, Yazmin Andrea Calvo Rodríguez². Mvz. Esp, Claudia Liliana Santos León³. Mvz. Esp, Ana Leonor Silvera⁴. Mvz, Ricci Terraza Martínez⁵. Bacteriólogo, Darwin Antonio García Rojas⁶. Mvz. Esp, Aleyda Judith Pimienta Charry⁷. M.V.Z. Esp, Neidy Canchila Roa⁸. M.V.Z. Esp, Jorge Humberto Contreras Castro⁹. Biólogo Msc, Norberto Villa Duque¹⁰. M.V.Z. Msc.

¹Docente Escuela de MVZ, Instituto Universitario de la Paz, Barrancabermeja-Santander.

martha.abaunza@unipaz.edu.co; ²Docente Escuela de MVZ, Instituto Universitario de la Paz, Barrancabermeja-Santander yazmin.calvo@unipaz.edu.co; ³Docente Escuela de MVZ, Instituto Universitario de la Paz, Barrancabermeja-Santander liliana.santos@unipaz.edu.co;

⁴Egresado Escuela de M.V.Z., Instituto Universitario de la Paz, Barrancabermeja-Santander anysilvera@gmail.com;

⁵Docente Escuela de MVZ, Instituto Universitario de la Paz, Barrancabermeja-Santander ricci.terrazza@unipaz.edu.co; ⁶Docente Escuela de MVZ, Instituto Universitario de la Paz, Barrancabermeja-Santander darwin.garcia@unipaz.edu.co; ⁷Docente Escuela de MVZ, Instituto Universitario de la Paz, Barrancabermeja-Santander aleyda.pimienta@unipaz.edu.co;

⁸Docente Escuela de MVZ, Instituto Universitario de la Paz, Barrancabermeja-Santander neidy.canchila@unipaz.edu.co; ⁹Docente Escuela de MVZ, Instituto Universitario de la Paz, Barrancabermeja-Santander jorge.contreras@unipaz.edu.co;

¹⁰Docente Escuela de MVZ, Instituto Universitario de la Paz, Barrancabermeja-Santander norberto.villa@unipaz.edu.co.

Resumen

El uso de biotecnologías en la reproducción se ha tornado fundamental en el desarrollo de la actividad pecuaria, actualmente en las producciones se utilizan constantemente en especies como la bovina, porcina, equina entre otras, pero su uso en la actividad avícola es muy limitada y los estudios e información al respecto son escasos, por lo que se debe empezar a dar importancia al uso de estas, para mejorar la reproducción de aves, se debe realizar un enfoque en los gallos reproductores ya que sin ellos no habría perpetuidad de la especie, se hace necesario realizar estudios sobre las técnicas de recolección de semen como primer paso para su posterior congelamiento, por tanto es necesario

saber cuál técnica más apropiada y su efecto sobre las características macroscópicas y microscópicas de la muestra para realizar una adecuada manipulación; Por lo cual el objetivo del estudio será evaluar el efecto de dos técnicas de recolección de semen (masaje y monta directa) sobre la calidad seminal en gallos de raza criolla *Gallus domesticus* por subespecie *morus*, *Gallus domesticus* por subespecie *ecaudatos* bajo condiciones de confinamiento. El trabajo de investigación se llevará a cabo en las instalaciones del Centro Experimental Santa Lucía UNIPAZ; en el núcleo académico y de investigación de aves, en un periodo de tiempo de 30 días. Para el desarrollo de la investigación se seleccionarán al azar 20 gallos, estos animales se separan en 4 grupos, cada grupo contara con 5 animales por corral bajo las mismas condiciones de comida, ambiente, manejo; todos los animales estarán bajo un sistema de producción de piso. Con el grupo número uno se realizará monta directa con gallina para la recolección del semen, en el grupo número dos se realizará la recolección con masaje dorso abdominal, posterior a la recolección se realizara la evaluación macroscópica y microscópica del semen; Para comparar los resultados de la evaluación de las variables se realizará estadística inferencial (ANAVA), estadística descriptiva, con un nivel de significancia del 95% y se utilizara el programa SPSS 21.0 para el análisis estadístico de los datos.

Palabras clave: Técnica de recolección, semen, calidad seminal, *Gallus domesticus*.

Seminal collection techniques in creole gallus cross *Gallus domesticus* under conditions of confinement

Keywords: Collection technique, semen, seminal quality, *Gallus domesticus*.

Abstract

The use of biotechnologies of reproduction has turned to be fundamental in the development of the livestock production. Currently, it is constantly used in the production of species such as the bovine, porcine, equine, among others, but its use in the poultry is very limited and the study and information regarding it are very few. To improve the poultry reproduction, it must be used an approach in the reproductive roosters, since, without them, there would not be perpetuity of the species. It is necessary to make studies about the semen collection techniques as a first step for their subsequent freezing. Thus, it is important to know what technique is the most suitable and its effect on the macroscopical and microscopical characteristics of the sample to make an adequate manipulation. That is why, the objective of this study will be to assess the effect of two semen collecting techniques (Massaging and direct mating) on the seminal quality in creole roosters from the breed *Gallus Domesticus* by subspecies *morus*, *Gallus domesticus* by subspecies *ecaudatos* under confining conditions. The research will be carried out in the experimental center Santa Lucia Unipaz, during the academical and poultry research nucleus, in a time of 30 days. For the development of the research 20 rosters will be randomly selected; they will be separated in 4 groups, every one of them counting with 5 animals at a cage with the same feeding, environment and management conditions. All the animals will be held under a floor production system. With the group number 1 direct mating with hens will be applied to collect the semen. In group number 2 the semen collection will be carried out through abdominal back massage. After collecting of the semen, it will be macroscopically and microscopically evaluated. To compare the results of the evaluation of the variables inferential statistics will be applied (ANAVA), descriptive statistics, with a significance level of 95% and the SPSS 21.0 program will be used for the data statistics analysis.

Evaluación del porcentaje de fertilidad en huevo de codorniz conservado 7 días a 12-14 grados centígrados

¹Miguel Hernando Marin Silva, ²Isabela Marin Rodríguez

¹Zootecnista, Especialista en Administración y Gerencia Institucional, Magister en Reproducción Animal, instructor investigador Sena Regional Risaralda Centro Atención Sector sede Pereira. Grupo de investigación en Ciencias Agropecuarias ICARUS miguel.marins@misena.edu.co.

²Estudiante de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Fundación Universitaria Autónoma de las Américas. Sede Pereira. Isabela.marin@uam.edu.co

Resumen

El éxito de la propagación de las codornices empieza en el periodo previo de la incubación. Los huevos se deben recolectar varias veces al día y almacenarse a una temperatura de 12-14 grados centígrados, los mejores resultados se obtienen cuando los huevos se mantienen no más de una semana antes de colocarlos en la incubadora. Se van a trabajar 3 machos por cada 7 hembras, la temperatura de incubación que se va a manejar es de 36,9 a 37,3 grados centígrados y una humedad relativa de 60-65% durante 15 días, los tres días restantes pasaran a la nacedora con una temperatura promedio de 37 grados centígrados y una humedad relativa del 85%. Se realizarán tres incubaciones con un promedio de 18.000 huevos fértiles conservados a una temperatura de 12-14 grados centígrados durante siete días. Se espera un porcentaje de fertilidad igual o superior al 90%.

Palabras clave: Fertilidad, humedad, temperatura.

Fertility evaluation percentage on quail eggs conserved at 12-14 degrees celsius during 7 days

Abstract

The success in the propagation of quail starts in the time prior to the incubation. Eggs must be collected several times a day and stored in temperatures ranging from 12 to 14°C. The best results are obtained when the eggs are kept no longer than a week before putting them in the incubator. 3 males for every 7 females will be used to work on this project. The incubation temperatures that will be used range from 36,9 to 37,3°C and a relative humidity of 60-65% during 15 days, the tree remaining days they will be taken to the incubator with an average temperature of 37°C and with a relative humidity of 85%. Three incubations will be done with an average of 18.000 fertile eggs kept on a temperature of 12 to 14° C during 7 days. It is expected a rate of fertility equal or superior to 90%.

Keywords: Fertility, humidity, temperature.

Uso de análogo de GnRH en la inducción de doble ovulación en hembras equinas

Nadya Nathalie Martínez García¹, José Luis Porras Vargas², Claudia Jiménez Escobar³

¹MVZ Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Tunja, Colombia. nadyanathalie@gmail.com, Tunja. ²MVZ, MSc. Profesor asociado, Facultad de Ciencia Agropecuarias Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Tunja, Colombia. joseluisporrasv@hotmail.com. ³MV, MSc, DVSc. Profesor asociado, Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Universidad Nacional de Colombia. cjimeneze@unal.edu.co, Sede Bogotá.

Resumen

Las biotecnologías reproductivas en equinos como la inseminación artificial y la transferencia de embriones son las utilizadas con mayor frecuencia en la industria de reproducción, permitiendo un manejo adecuado de hembras con fines de mejoramiento genético en las diferentes razas. La obtención de embriones se ve limitada en gran porcentaje a un solo embrión por lavado, debido a las características anatómicas y fisiológicas del sistema reproductivo de las yeguas, enfáticamente en los ovarios, los cuales presentan una estructura y organización de capas diferente a otras especies, donde se evidencia que la corteza se ubica en la parte interna y la medula en la externa. El objetivo del estudio es evaluar un protocolo de inducción de doble ovulación; con el uso de prostaglandina im (2,5mg litalize®) al día 8 post ovulación para la ruptura del cuerpo lúteo (Cl), aplicaciones seriadas de análogos de la hormona GnRH (hormona generadora de gonadotropinas) Deslorelina 150 µg im para el crecimiento de folículos cuando estos se encuentran en un tamaño de 20-23 mm, al igual que el uso de hCG (gonadotropina coriónica humana) Fertivet® 2000UI iv como inductor de la ovulación en presencia de edema uterino score 2-3 y estructuras foliculares ≥ 35 mm, con el fin de obtener dos óvulos que sean fertilizados y generen dos estructuras embrionarias viables para la transferencia en el lavado embrionario al día 8. Se evalúan los días de aplicación que se necesitan para la emergencia y dominancia de dos folículos, el tamaño de los folículos para la inducción y el número de estructuras obtenidas por cada lavado embrionario. Se han obtenido doble onda folicular

en las hembras donadoras y dos estructuras con calificación y clasificación de embriones viables.

Palabras clave: Equino, folículo, doble ovulación, embrión, GnRH, hCG,

Use analogue of GnRH in induction of double ovulation in equine mares

Abstract

Reproductive technologies in equines such as artificial insemination and embryo transfer are used with more frequency in the reproductive industry, allowing the adequate management of females aiming the genetic improvement in different breeds. Embryo collection is limited on a high rate to a single embryo every lavage, due to the anatomical and physiological characteristics of the reproductive systems in mare, emphatically on ovaries, which present a structure and organization of layers different to other species, where is evidenced that the crust is located in the inner part and the outside medulla. The object of this study is to assess a double ovulation protocol of induction; with the use of prostaglandin im (2.5 mg litalize®) to the day 8 post ovulation for the rupture of the corpus luteum (Cl), (Cl), serial applications of analogues of the hormone GnRH (gonadotropin-generating hormone) Deslorelin 150 µg im for the growth of follicles when these are in a size of 20-23 mm, like the use of hCG (human chorionic gonadotropin) Fertivet® 2000UI iv as an inducer of ovulation in the presence of uterine edema score 2-3 and follicular structures ≥ 35 mm, in order to obtain two ovules which are fertilized and generate two viable embryonic structures for the transfer in the embryonic wash at day 8. The application days needed for the emergence and the dominance of the two follicles are evaluated, the size of the follicles for the induction and the number of obtained structures for every embryonic wash. Double wave follicles were obtained in the donor females and two structures with viable embryo qualification and classification.

Keywords: Equine, embryo, follicle, double ovulation, GnRH, hCG.



Características espermáticas (morfología y supervivencia) por técnicas de recolección seminal en gallos criollos *Gallus domesticus*

Neidy Canchila Roa, M.V.Z. Esp; Claudia Liliana Santos León, Mvz. Esp; Martha Isabel Abaunza Carreño, MVZ, Esp; Yazmin Andrea Calvo Rodríguez, Mvz. Esp; Ana Leonor Silvera Mvz; Aleyda Judith Pimienta Charry, M.V.Z. Esp; Emiro Rafael Canchila Asencio, Mvz. PhD; Ricci Terraza Martínez, Bacteriólogo; Darwin Antonio García Rojas, Mvz. Esp; Jorge Humberto Contreras Castro, Biólogo Msc; Norberto Villa Duque, M.V.Z. Msc.

Instituto Universitario de la Paz,
 neidy.canchila@unipaz.edu.co;
 liliana.santos@unipaz.edu.co;
 martha.abaunza@unipaz.edu.co;
 yazmin.calvo@unipaz.edu.co; anysilvera@gmail.com;
 aleyda.pimienta@unipaz.edu.co;
 Emiro.canchila@unipaz.edu.co;
 ricci.terrazza@unipaz.edu.co; darwin.garcia@unipaz.edu.co;
 jorge.contreras@unipaz.edu.co;
 norberto.villa@unipaz.edu.co

Resumen

La evolución del desarrollo de las tecnologías reproductivas se ha tornado fundamental en el desarrollo de la actividad pecuaria, ya que permite evidenciar ventajas económicas y las asociadas a la conservación de la variedad genética. Una de las claves en el desarrollo de la reproducción, es la utilización de las diferentes técnicas empleadas para potencializar el nivel reproductivo y productivo de las diferentes especies animales como en la aviar, lo que hace necesario realizar estudios que permitan evaluar la calidad seminal. Por lo anterior, el presente estudio tiene como objetivo evaluar el efecto de dos técnicas de recolección de semen (masaje y monta directa) sobre la calidad seminal (características microscópicas morfología y supervivencia) en gallos de raza criolla *Gallus domesticus* por subespecie *morus*, *Gallus domesticus* por subespecie *ecaudatos* bajo condiciones de confinamiento en piso. El trabajo de investigación se llevará a cabo durante 30 días en la unidad académica y de investigación MVZ aves ubicada en las instalaciones del Centro de Investigación Santa Lucía UNIPAZ, para el cual se formulará un diseño aleatorio unifactorial, correspondiendo

el factor de evaluación a las técnicas de recolección seminal a través de las variables respuesta morfología y supervivencia espermática. Este diseño constará de dos tratamientos, T1 (monta directa con estimulación gallina) y T2 (masaje dorso abdominal), utilizando 10 gallos separados en 2 grupos de 5 animales seleccionados al azar por tratamiento, bajo las mismas condiciones de alimentación, ambiente y manejo. Las tomas de semen por ave, se realizarán una vez por semana durante 4 semanas; una vez obtenido el semen se realizará la evaluación microscópica de la morfología y supervivencia espermática. El tratamiento de información se llevará a cabo desde la comparación de medias mediante estadística no paramétrica a través de la prueba de Mann Whitney, requiriéndose el software SPSS 21.0. Se espera un mejor comportamiento en la calidad seminal proveniente del masaje dorso abdominal en términos de la morfología y supervivencia espermática.

Palabras clave: Recolección seminal, semen aviar, morfología espermática, supervivencia espermática, *Gallus domesticus*.



Espermatic characteristics (morphology and survival) by seminal collection techniques in gallos criollos *Gallus domesticus*

Abstract

Evolution of reproductive technologies has turned to be fundamental in the development of the livestock activities, since it allows to evidence economic advantages and the ones related to conservation of genetic variety. One of the keys in the development of reproduction, is the use of different techniques implemented to foster the reproductive and productive level in different animal species such as birds, which makes necessary to make studies that allow to assess the sperm quality. Therefore, this study has as a main objective to evaluate the effect of two semen collection techniques (Massage and direct mating) over the seminal quality (morphological, microscopic and macroscopic characteristics) in creole roosters from the breed *Gallus Domesticus* by subspecies *morus*, *Gallus domesticus* by subspecies *ecaudatos* under confining conditions on floor. The research will be carried out during 30 days in the academic and research unity of birds, located in Centro de Investigacion Santa Lucia UNIPAZ, for which a unifactorial random design will be formulated, and the evaluation factor corresponding to the techniques of seminal collection through the variables morphology response and sperm survival. This design will have two treatments, T1 (Direct mating with hen stimulation) and T2 ((abdominal back massage), using 10 roosters separated in 2 groups of 5 animals selected randomly by treatment, under the same feeding, environment and management conditions. The seminal samples, will be taken once a week during 4 weeks; once collected the semen, the microscopical evaluation of spermatic morphology and survival will be done. The information treatment will be carried out from the comparison of means through non-parametric statistics through the Mann Whitney test, requiring the use of the SPSS 21.0 software. It is expected an improvement of the sperm quality coming from abdominal back massage in terms of morphology and spermatic survival.

Keywords: Seminal collection, avian semen, sperm morphology, sperm survival, *Gallus domesticus*.



Integridad de membranas espermáticas y cromatina de genotipo bovino por efecto de protocolos de descongelación

Ricci Terraza Martínez¹, Bacteriólogo; Norberto Villa Duque¹, MVZ MSc.; Darwin Antonio García Rojas, MVZ Esp; Elkin Orlando Romero Cárdenas¹, MVZ Esp.

Instituto Universitario de la Paz. ¹Grupo de Investigación en Producción y Ciencia Animal (PROCA), Docente Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Instituto Universitario de la Paz, Barrancabermeja, Colombia. e-mail: ricci.terraza@unipaz.edu.co

Resumen

La implementación de programas de inseminación artificial conlleva a la necesidad de establecer protocolos de descongelación del semen empaquetado en pajillas, para el manejo de la relación tiempo-temperatura en beneficio de la viabilidad espermática. El presente trabajo tiene como objetivo evaluar la relación de la integridad de las membranas espermáticas y la cromatina de un genotipo bovino en tres protocolos de descongelación del semen, en el laboratorio de Biotecnología Reproductiva Animal (LABRA) en el Centro de Investigación Santa Lucía, propiedad del Instituto Universitario de la Paz. Se diseñó un método unifactorial cuyo factor de evaluación fue el protocolo de descongelación. Se implementaron 3 tratamientos, T1: Descongelación de la pajilla en baño maría a 37°C durante 30 segundos; T2: Descongelación de la pajilla en agua helada durante 90 segundos; T3: Descongelación de la pajilla a temperatura corporal durante 30 segundos. En cada tratamiento se descongelaron 5 pajillas del mismo toro y del mismo lote. Las variables evaluadas fueron integridad de la membrana plasmática (IMp), integridad de la membrana acrosomal (IMa) e integridad de la cromatina (Ic). Las valoraciones de las membranas espermáticas se realizaron mediante pruebas hiposmóticas y la evaluación de la Ic mediante la prueba de azul de toluidina. Los resultados se dieron en porcentaje de estructuras en buen estado a partir de 2 conteos de 100 células para cada variable por pajilla, utilizando el microscopio de contraste de fase (magnificación 400X). Para establecer si existió asociación entre la integridad de la cromatina y la

integridad de las membranas espermáticas se utilizó la regresión mediante el Software SPSS versión 21. Aunque el grado de asociación fue positivo para la Ic en función de la IMp en los tres tratamientos implementados, el T1 evidenció los mayores valores, y no obstante existir un nivel de asociación media entre la Ic en función de la IMa cuando se implementó el T3, en este trabajo el grado de asociación entre estas dos variables fue positivo cuando se implementó el T1. Los resultados de este trabajo sugieren descongelar el semen congelado-descongelado empaquetado en pajillas en baño maría a 37°C durante 30 segundos.

Palabras clave: Acrosomal, criopreservación, cromatina, plasmática, descongelación, osmolaridad.



Integrity of spermatic membranes and chromatine of bovine genotype by effect of defrost protocols

Keywords: Acrosomal, cryopreservation, chromatin, plasma, thawing, osmolarity.

Abstract

The implementation of artificial insemination programs leads to the necessity of establishing seminal thawing processes packaged on straws, for the management of the time- temperature in benefit of the spermatic viability. This work has as an objective to evaluate the relation of the integrity of spermatic membranes and the chromatin of a bovine genotype in three seminal thawing protocols, in the Laboratorio de Biotecnología Reproductiva (LABRA) in the Santa Lucia research center, from the Instituto Universitario Para la Paz. A unifactoral method was designed which evaluating factor was the thawing protocol. 3 treatments were implemented. T1: Defrosting the straw in a water bath at 37 ° C for 30 seconds; T2: Defrosting the straw in ice water for 90 seconds; T3: Defrosting the straw at body temperature for 30 seconds. In every one of the treatments 5 straws from the same bull and batch were thawed. The evaluated variables were ontegrity of the plasmatic membrane (Imp) integrity of the acrosomal membrane (Ima) and chromatic integrity (Ic). The evaluations of the sperm membranes were carried out by means of hyposmotic tests and the evaluation of the Ic by means of the toluidine blue test. The results were given in percentage of structures in good condition from 2 counts of 100 cells for each variable per straw, using the phase contrast microscope (Magnification 400X). To establish whether there was an association between the integrity of the chromatin and the integrity of the sperm membranes, regression was used using the SPSS Software version 21. Although the degree of association was positive for the Ic in terms of the IMP in the three treatments implemented, the T1 showed the highest values, and nonetheless there was a medium association level between the Ic as a function of the IMA when the T3 was implemented. In this work the degree of association between these two variables was positive when the T1 was implemented. The results of this work suggest thawing the frozen-thawed semen packed in straws in a water bath at 37 ° C for 30 seconds.