XXVI Reunión de la Asociación Latinoamericana de Producción Animal V Simposio Internacional de Producción Animal Guayaquil (Ecuador) 28 – 31 mayo, 2018

se realizó a cada grupo por separado con una aguja 21G conectada a una bomba de vacío, a presión de 65mmHg. Los complejos cumulus ovocitos (COC's) recuperados de cada grupo fueron clasificados en base a las características del cumulus y citoplasma en aptos y no aptos para la producción de embriones in vitro (PIV). La determinación enzimática se realizó a través de la prueba del azul brillante de Cresilo (BCB). La maduración se realizó en microgotas colocadas en una cámara de CO2 al 5%; a 38,5°C y 90% de humedad, durante 24h, usando como medio TCM 199. La valoración de la progresión meiótica a metafase II (competencia) fue determinada con la prueba de Hoesch en base a la extrusión del primer corpúsculo polar, valorados mediante epifluorescencia bajo un microscopio invertido. Los resultados fueron analizados con el paquete estadístico IBM® SPSS® versión 22. Se realizaron 14 sesiones, aspirando 1.964 folículos en el grupo 1 (G1), grupo 2 (G2=1.073) y grupo 3 (G3=336). Se obtuvo un porcentaje de recuperación del 76,1% en G2, 64,7% en G1 y 63,4% en G3 con diferencia estadística (P<0,05). El grupo G2 presentó un mayor porcentaje de COC's valorados como aptos (65,7%), seguido de G3 (54,9%) y finalmente de G1 (42,4%), con diferencia entre grupos (P<0,05). De los COC's clasificados como aptos, en G2 el 59,0% fueron positivos al colorante (BCB+), en G1 (44.6%) y G3 (35.7%); es decir, habían terminado su crecimiento y estaban listos para continuar con el proceso de maduración (P>0,05). Sin embargo, al valorar el porcentaje de COC's clasificados como aptos que fueron BCB+ y BCB- dentro de un mismo grupo, se estableció que G2 presentó más BCB+ que BCB- (P<0,05). Finalmente, los ovocitos clasificados como aptos de G1 y G2, reanudaron la meiosis y llegaron a metafase II en un 75% a diferencia de G3 (61%), (P<0,05). Se concluye que los COC's provenientes de folículos entre 4-8mm proporcionan mayor porcentaje de maduración; sin embargo, los folículos <4mm son una fuente interesante de ovocitos viables por lo cual deberían ser utilizados para la PIV.

Palabras clave: tamaño, COC's, aptos, meiosis

FR10. Evaluación de la calidad de ovocitos provenientes de vaquillas criollas y ovarios de matadero para formar bancos de germoplasma

Jhonatan Alvarado Ulloa², Daniel Argudo Garzón¹, Silvana Méndez Álvarez¹, Fernando Perea Ganchou¹, <u>Manuel Soria</u> <u>Parra¹</u>

^TUniversidad De Cuenca, Cuenca, Ecuador, ²Privado, Limón, Ecuador

El bovino criollo americano descendiente del ganado ibérico, se adaptó fenotípica y genotípicamente a la región andina, generando biotipos que se caracterizan por rusticidad, eficiencia reproductiva y baja producción lechera, provocando la sustitución por otras razas de alta producción Holstein y Brown-Swiss. En términos biológicos, ocasiona pérdida importante del material genético, patrimonio del país, por esto se promueve la conservación de gametas y embriones mediante biotécnicas reproductivas creando bancos de germoplasma. El objetivo fue evaluar la calidad de ovocitos recuperados a partir de aspiración folicular transvaginal guiada por ultrasonografía (OPU) en ganado criollo y aspiración folicular en ovarios de matadero. Se emplearon 10 novillas criollas, cíclicas, condición corporal 3 a 3,5; en pastoreo con suministro de minerales; y 200 ovarios de matadero. Se recuperaron ovocitos por OPU y aspiración folicular, con agujas 18G, a 90mmHg de presión. Se clasificaron en tres categorías A, B, C. La morfometría se determinó con una cámara de alta definición colocada sobre un microscopio invertido con lente 10X y equipado con software AmScope V.3.7. La viabilidad se evaluó con azul tripán y la actividad enzimática con test de azul de cresilo brillante (BCB). El

análisis estadístico utilizó la prueba de Chi-cuadrado y estadístico "U de Mann Withney" (P<0,05). En relación a la calidad de ovocitos, se observaron diferencias significativas según la procedencia (P<0,05), siendo mejores los obtenidos de ovarios de matadero. Mocha & Quezada (2017) obtuvieron ovocitos de mejor calidad por OPU con presión de 65mmHg, factor que probablemente incidió en la característica de las células recuperadas en nuestra investigación. La viabilidad y actividad enzimática de los ovocitos A y B de OPU y Camal no expresan diferencias significativas (P>0.05); se observó que las hembras bovinas criollas producen mayor porcentaje de ovocitos clase A capacitados para el desarrollo in vitro (82,9%) que de matadero (70,6%), diferencia explicable por el estado de los ovarios al momento de la colecta y tiempo transcurrido hasta la aspiración. Mota (2008) evaluó actividad enzimática mediante BCB en ovocitos de matadero y obtuvo 60,37% BCB (-) de respuesta a la prueba. Se concluye que los ovocitos recuperados de calidad A y B de ovarios de matadero por aspiración folicular representan un mayor porcentaje con relación a los A y B obtenidos por OPU. La viabilidad v actividad enzimática no muestra diferencia, siendo útiles para programas FIV y formación de bancos de germoplasma. Palabras clave: ovocitos, OPU, aspiración folicular, BCB, Azul

FR11. Congelación de semes de carnero utilizando Butilhidroxitolueno (BHT) como antioxidante

<u>Nestor Sepulveda¹</u>, Rommy Diaz¹, Silvana Bravo¹, Camila Sepulveda¹, Mariana Torres²

¹Centro de Biotecnología en Reproducción (CEBIOR-BIOREN), Universidad De La Frontera, Temuco, Chile, ²Universidad de Sao Paulo, Sao Paulo, Brasil

El Hidroxitolueno butilado o Butilhidroxitolueno (BHT) es un antioxidante análogo sintético de la vitamina E, usado ampliamente como antioxidante y conservante para evitar el deterioro oxidativo de los ácidos grasos en la industria de alimentos, cosméticos y productos farmacéuticos. BHT se ha adicionado a los diluyentes de congelación como una forma de prevenir los cambios en la permeabilidad de la membrana espermática durante la criopreservación, además se ha utilizado como un antioxidante no enzimático para eliminar especies reactivas de oxígeno (ROS) y mejorar la calidad del semen después de la congelacióndescongelación en especies como bovinos, caprinos, humanos, equinos; felinos, caninos y peces. En ovinos el BHT sólo ha sido utilizado en semen enfriado, por esta razón se establece el presente estudio que pretende evaluar la adición de BHT al semen de carneros y evaluar su efecto sobre la funcionalidad de los espermatozoides después de un proceso de congeladodescongelado. Como donantes fueron utilizados 8 carneros de raza criolla Araucana a los cuales se extrajo semen 2 veces por semana utilizando una vagina artificial. Una vez evaluado el semen, se procedió a conformar un pool de semen y diluirlo en una solución que contenía TRIS, Ac. Cítrico, Fructosa, Glicerol, Yema de Huevo, Estreptomicina y Penicilina. Se realizaron 4 tratamientos: 1=Control; 2=1 mM BHT; 3=2,5 mM BHT y 4=5 mM BHT. Se realizaron 10 repeticiones (extracciones y congelación) y se envasaron cada vez 12 pajuelas de 0,25 ml (100x106espermatozoides/ml) por cada tratamiento. Los parámetros funcionales de los espermatozoides fueron evaluados por citometría de flujo, utilizando los fluoróforos PNA-FITC/PI, DHE y C11-BODIPY para determinar la integridad de membrana, niveles de anión superóxido y lipoperoxidación de membrana, respectivamente. El porcentaje de células con las membranas plasmática y acrosomal íntegras no fue significativamente diferente, obteniéndose en el tratamiento 1=25,8± 3,4%;