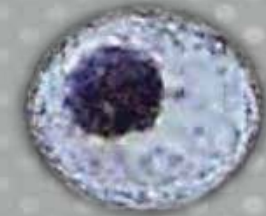


EVALUACIÓN DE LA TASA DE DIVISIÓN Y DESARROLLO EMBRIONARIO CON SEMEN SEXADO CAPACITADO CON PERCOLL® VS PURE SPERM® EN NELORE



INTRODUCCIÓN

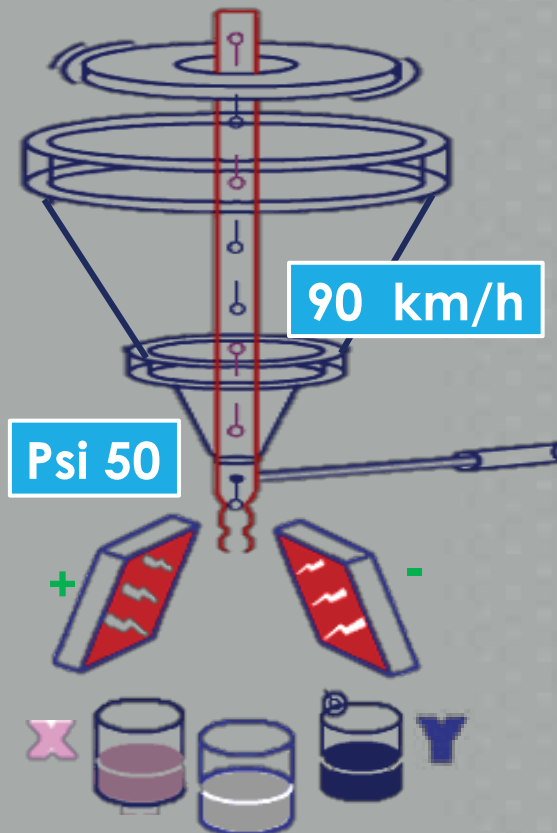
I. Sexaje de esperma

CITROMETRÍA DE FLUJO

Coloración de Hoechst

Motilidad $\geq 60\%$
Vigor 3
Morfología $\geq 75\%$ N

El espermatozoide femenino (X)
contiene 3.8% más de ADN en
Bovinos



90 %

1. Buena calidad
2. Concentración espermática

Limitantes

**30 MINUTOS
PARA SEXAR 1
DOSIS DE SEMEN**

INTRODUCCIÓN

II. Capacitación Espermática *in vivo*

Proceso por el cual la célula espermática sufre una serie de cambios durante su paso por el aparato reproductor femenino que le confieren la capacidad de fecundar al ovocito (Torres, 2008).

FLUIDO OVIDUCTUAL

1. Pérdida de capa superficial seminal, mucopolisacáridos y colesterol

2. Hiperpolarización (salida de K e ingreso de Iones de calcio y HCO₃)

HIPERACTIVACIÓN

Ca⁺⁺
AMPC

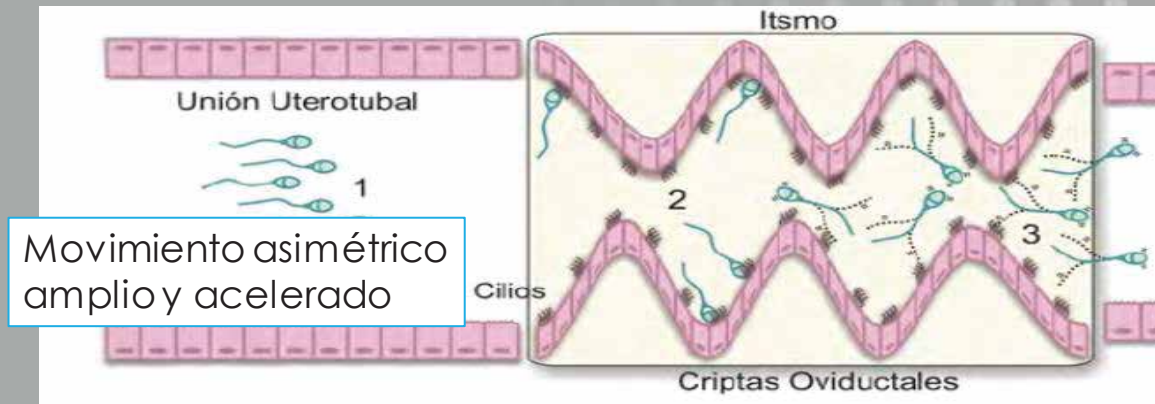
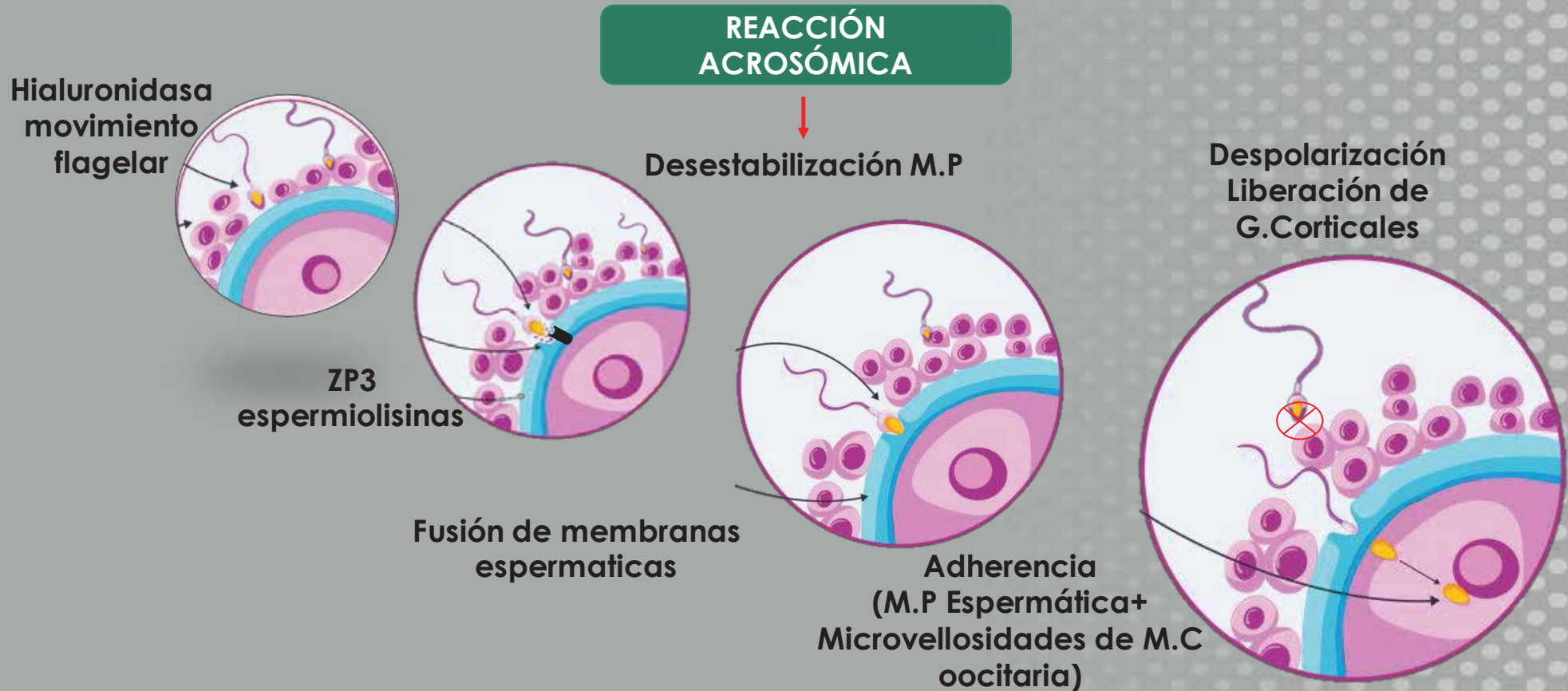


Figura 2. Secuencia de los procesos que sufre el espermatozoide en el tracto reproductivo de la hembra.

INTRODUCCIÓN

III. Capacitación Espermática *in vivo*

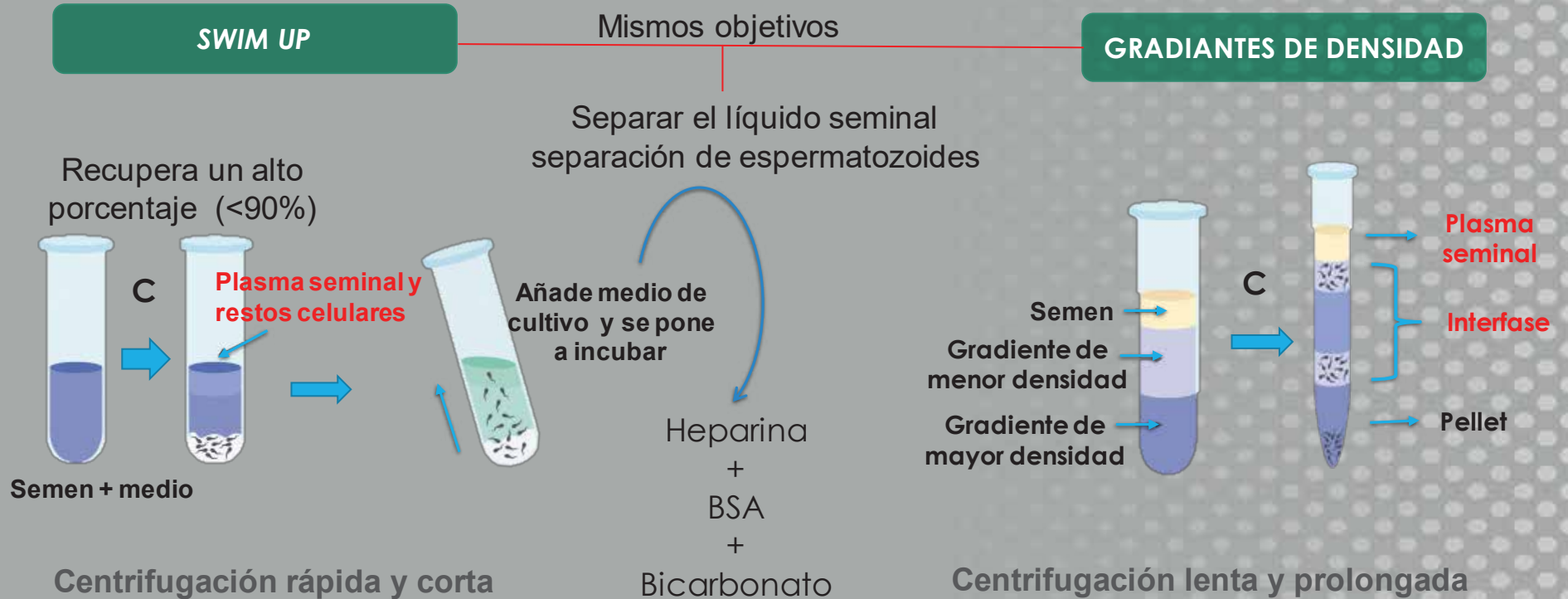


(Parrish, 2013)

Figura 3. Tomada de <https://www.reproduccionasistida.org/wp-content/fusion-nucleos-780x332.png>

INTRODUCCIÓN

IV. Técnicas de capacitación espermática *in vitro*



PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN

Actualmente aún existen porcentajes bajos de embriones con semen sexado(SS), en comparación con el semen convencional debido a los procesos por los que es sometido el semen sexado que afectan su potencial de fertilidad. Para esto se buscó la manera de optimizar los resultados de la producción *in vitro* (PIV) con semen sexado e incrementar la eficiencia del mismo buscando el medio de capacitación más adecuado.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Evaluar las tasas de división (TD) y desarrollo embrionario (DE) al capacitar con Percoll[®] y Puresperm[®] (PS) en semen sexado Nelore.

OBJETIVOS ESPÉCIFICOS

Comparar la TD y DE con semen sexado en la fertilización *in vitro* (FIV) capacitado con Percoll[®] vs. PS[®].

Determinar si PS[®] puede ser un sustituto alternativo a Percoll[®] en la capacitación eficaz de semen sexado (SS).



MATERIALES Y MÉTODOS

ENFOQUE GENERAL

- Base de datos de clientes N: 18
- Se descartaron los datos incompletos
- Raza: Nelore
- 25/06/15 - 25/06/17
- Todos los componentes de los medios para maduración *in vitro* (MIV), FIV y CIV utilizados fueron los mismos.

ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

- Los análisis estadísticos realizados fueron elaborados mediante T-TEST con el programa Minitab® 2018.

MATERIALES Y MÉTODOS

GRADIENTE PERCOLL®

- **Gradientes 90 y 45% (250µL)**
- Depositar el semen.
- Centrifugación 5 min a 3000 rpm.
- Retira sobrenadante hasta dejar 100 µL y agrega 1500 µL M. FIV.
- Centrifugación 3 min a 3000 rpm.
- Retira sobrenadante.

GRADIENTE PS®

- **Gradientes 80 Y 40 %**
- Centrifugación 5 min a 5.500 rpm.
- Retira el sobrenadante y se agrega M. FIV.
- Centrifugación 2 min a 3.000 rpm.
- Retira sobrenadante y se agrega M. FIV.



ANÁLISIS DE RESULTADOS

I.COMPARACIÓN EN TASA DE DIVISIÓN

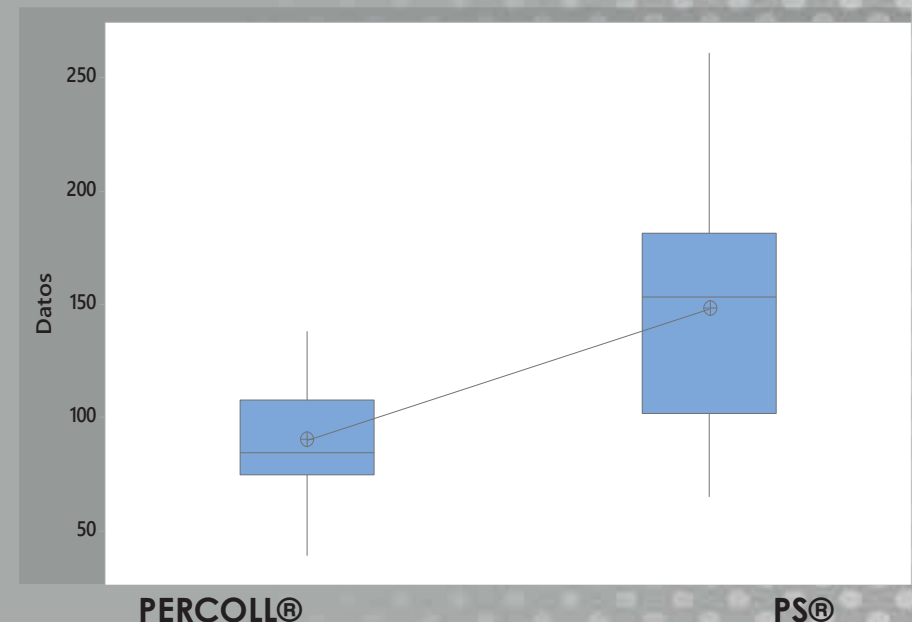
Muestra	N	Media	Desv. Est	Error Est. X
Percoll® 90-45	18	89,9	25,3	6,0
PS® 40-80	18	147,8	50,5	12

Tabla 1. Datos estadísticos Percoll ® vs PS® en TD(Granados, 2018).

VALOR P
0,001

Tabla 2. Valor Prueba T-student en TD.

GRÁFICA DE CAJA PERCOLL ® VS PS ®

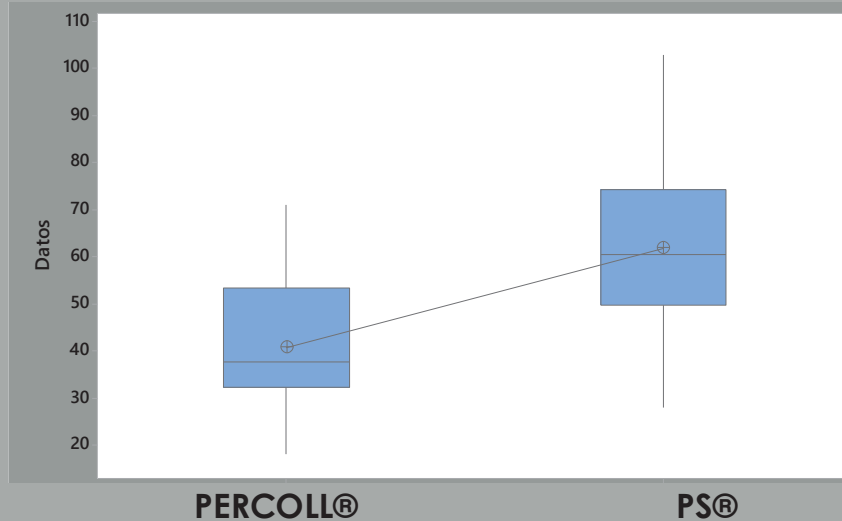


Gráfica 1. Caja y bigotes en TD.

ANÁLISIS DE RESULTADOS

II.COMPARACIÓN EN TASA DE DESARROLLO EMBRIONARIO

GRÁFICA DE CAJA PERCOLL® VS PS®



Muestra	N	Media	Desv.Est	Error Est. \bar{X}
Percoll® 90-45	18	40,7	13,4	3,2
PS® 40-80	18	61,8	18,6	4,4

Tabla 3 . Datos estadísticos Percoll® vs PS® (Granados, 2018).

Pr vs BO
PCE y TD

Morfofisiología
afectada?

Pr ss-sc
TD

Pr vs insolate
ss-sc
PCE y TD

VALOR P
0,003

Tabla 4. Valor Prueba T-Student en DE.

CONCLUSIONES

- ❑ La capacitación del SS mediante gradientes de **PureSperm®** resulta ser más eficiente en tasa de división y la producción de embriones que con **Percoll®**.
- ❑ El medio de capacitación **PureSperm®** puede ser un buen sustituto del **Percoll®** para el trabajo con SS en producciones *in vitro*.
- ❑ El **Percoll®** debido a los niveles de endotoxinas producidas por la PVD afecta la integridad de la membrana espermática y como consecuente la variación de las TD Y DE en semen sexado.
- ❑ En la relación costo-beneficio no solo resulta ser más económico el **PureSperm®** si no que también su preparación más sencilla.

RECOMENDACIONES

- ❑ Es necesario seguir investigando y evaluando distintos medios de capacitación espermática, para así encontrar aquel que permita tener mejores resultados en la producción *in vitro* de embriones con semen sexado.
- ❑ Se requiere realizar más estudios de PIV con semen sexado con un solo toro, ya que al utilizarse varios toros estarían afectando más variables en el resultado obtenido.

AGRADECIMIENTOS

AGRADECIMIENTOS A:

- Embriogenex SAS por permitir hacer parte de su equipo de trabajo y su constante apoyo.
- Doctor Geovanny Mendoza por su continua tutoría en mi trabajo de grado.
- Doctores Arlen Patricia Gómez , Gloria Marcela Mayor y Jair Pérez Osorio por su apoyo durante toda mi carrera como estudiante de medicina veterinaria.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Díaz, Á. M., Bustos, J. E., Ulloa, S. M., & Jaramillo, L. C. (Junio de 2013). Obtenido de http://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/transplante_embionario/39-generalidades_de_la_produccion.pdf
2. Filipiak, Y., Larocca, C., & Martínez, M. (2017). Obtenido de <https://scielo.conicyt.cl/pdf/ijmorphol/v35n4/0717-9502-ijmorphol-35-04-01337.pdf>
3. G.J.Wu, & D.C.Ding. (2000). Obtenido de <https://www.sciencedirect-com.hemeroteca.lasalle.edu.co/science/article/pii/S0020729200854296>
4. H.Rodríguez -Martínez. (2007). Obtenido de <https://www.sciencedirect-com.hemeroteca.lasalle.edu.co/science/article/pii/S0093691X07001203>
5. J.J.Parrish, L.Susko -Parrish, M.L.Leibfried -Rutledge, E.S.Critser, W.H.Eyestone, & N.L.First. (1986). Obtenido de <https://www-sciencedirect-com.hemeroteca.lasalle.edu.co/science/article/pii/0093691X86901433>
6. Lu, K., & Jr, G. S. (2003). ScienceDirect. Obtenido de https://ac-els-cdn-com.hemeroteca.lasalle.edu.co/S0093691X04000718/1-s2.0-S0093691X04000718main.pdf?_tid=a67f3f16-05a9-4154-b238-5d979cc8efbe&acdnat=1540955176_e745f130fdca70f56bf6487a301343b0
7. Parrish, J. J. (7 de Agosto de 2013). www.theiojournal.com. Obtenido de https://ac-els-cdn-com.hemeroteca.lasalle.edu.co/S0093691X13003282/1-s2.0-S0093691X13003282-main.pdf?_tid=2aaa9b87-15b0-445e-a18a-77f0c1e8d5cc&acdnat=1540956055_da28f401d0e7e4cd5c13b597db21f6c4
8. Parrish, J., Susko -Parrish, J., & Graham', J. (1999). Obtenido de https://ac-els-cdn-com.hemeroteca.lasalle.edu.co/S0093691X98002404/1-s2.0-S0093691X98002404-main.pdf?_tid=ae388d54-6a39-4335-a472-39aba7852cf8&acdnat=1540955562_9d026106669c14db705aa0e955103cf0
9. Rodríguez -Martínez, H. (2007). www.thejournal.com. Obtenido de ScienceDirect : https://ac-els-cdn-com.hemeroteca.lasalle.edu.co/S0093691X07001203/1-s2.0-S0093691X07001203-main.pdf?_tid=1bef5b37-3742-406c-993c-e946328569a4&acdnat=1540955394_4e184c319c52c9f5cb4ff4884c7fc92f

10. Ruiz, S., & Astiz, S. (Agosto de 2010). ResearchGate Obtenido de https://www.researchgate.net/publication/302589551_Produccion_in_vitro_PIV_de_embriones_en_Biotecnologia_de_la_Reproduccion_bovina
11. Samardzija, M., Karadjole , M., Matkovic , M., Cergolj , M., Getz , I., Dobranic , T., . . . Karadjole , T. (09 de Abril de 2005). Obtenido de https://acelscdncom.hemeroteca.lasalle.edu.co/S0378432005001132/1_s2.0_S0378432005001132_main.pdf?_tid=815e1f19_f7f64ee2_8c2d9ed21783bb2a&acdnat=1540954783_8d44b8a9ca7fbc5a4f7543bc0b84a05f
12. Silva Santos, K., Santosa , G., Siloto , L., Hertel , M., Andrade, E., Rubin , M., . . . Seneda , M. (6 de Mayo de 2011). Estimate of the population of preantral follicles in the ovaries of Bos taurus indicus and Bos taurus taurus cattle. Obtenido de https://acelscdncom.hemeroteca.lasalle.edu.co/S0093691X11002275/1_s2.0S0093691X11002275_main.pdf?_tid=b66c77c5_4fed_40ff_b537_a6ddd731d04e&acdnat=1540954124_cd3f12b5399909cb4d39d7ee4e6f18e3
13. TORRES, R. D. (2008). Obtenido de <http://repository.lasalle.edu.co/bitstream/handle/10185/6002/T14.08%20B431e.pdf;jsessionid=77AE13E072CF2773D5B4705AE772DFD6?s equ ence=1>
14. Villadiego, F. A., Guimarães, J. D., Costa, E. P., Álvarez, J. A., León, V. H., & López, C. J. (27 de Febrero de 2017). Sêmen sexado através de citometria de fluxo e centrifugação por gradiente de concentração . Bogotá, Cundinamarca, Colombia. Obtenido de <https://revistas.lasalle.edu.co/index.php/mv/article/view/5178/4072>
15. Y.Fukui , Mochizuki , T. S., & On o , H. (s.f.). (2003)Obtenido de <https://www.sciencedirect.com.hemeroteca.lasalle.edu.co/science/article/pii/S0093691X9090013J>
16. González, I. M. (2010). PRODUCCIÓN DE EMBRIONES CON SEXO PREDETERMINADO. Bogotá, Colombia.
17. Wilson, R. D.; Fricke, P. M.; Leibfried Rutledge, M. L.; Rutledge, J. J.; Penfield, C. M. & Weigel, K. A. In vitro production of bovine embryos using sex sorted sperm. Theriogenology, 65(6):1007-1015, 2006
18. Olivera, M. (2006). El espermatozoide, desde la eyaculación hasta la fertilización. (u. d. Antioquia, Ed.) Revista colombiana de ciencias agropecuarias, 19 (4). Recuperado el 2018, de [file:///C:/Users/usuario/Downloads/El_espermatozoide_desde_la_eyaculacion_hasta_la_fe%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/usuario/Downloads/El_espermatozoide_desde_la_eyaculacion_hasta_la_fe%20(1).pdf)
19. Villamil, P. R. (2012). Fertilization rates and in vitro embryo production using sexed or non sexed semen selected with a silane coated silica colloid or Percoll. Theriogenology . Obtenido de <https://www.sciencedirect.com.hemeroteca.lasalle.edu.co/science/article/pii/S0093691X12000684#bib5>
20. A. Cesari, G.G. Kaiser, N. Mucci , A. Mutto , A. Vincenti, M.W. Fornés, et Integrated morphophysiological assessment of two methods for sperm selection in bovine embryo production in vitro Theriogenology, 66 (2006), pp. 1185-1193