

20 REUNIONES
21 científicas

10, 11 Y 12 NOV
CIUDAD DE MÉXICO

REUNIONES NACIONALES DE INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN
PECUARIA, AGRÍCOLA, FORESTAL Y ACUÍCOLA PESQUERA



LVI REUNIÓN
NACIONAL DE
INVESTIGACIÓN
PECUARIA

Ciencia para vivir

ISSN: En trámite

Reunión Nacional de Investigación PECUARIA MEMORIA

Compiladores

Ana María Anaya Escalera, Claudia García Figueroa,
Miguel Enrique Arechavaleta Velasco y Luis Reyes Muro



Reunión Nacional de Investigación

PECUARIA

MEMORIA

Compiladores

Ana María Anaya Escalera, Claudia García Figueroa,
Miguel Enrique Arechavaleta Velasco
y Luis Reyes Muro

Ciudad de México, 10 al 12 de noviembre de 2021

Reunión Nacional de Investigación Pecuaria. Año 6. Núm. 1. Noviembre de 2021. Es una publicación anual editada por el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). Av. Progreso No. 5, Col. Barrio Santa Catarina, Alcaldía Coyoacán, CP. 04010, Tel. 5538718700, <http://reunionescientificas2021.inifap.gob.mx/>. Editor Responsable: Ana María Anaya Escalera. Reserva de Derechos al Uso Exclusivo: **04-2021-051209354700-203**. ISSN: En trámite. Responsable de la última actualización de este número: Claudia García Figueroa.

El contenido de los resúmenes incluidos en esta memoria aparece tal y como fueron enviados por sus autores, salvo algunas correcciones de formato para hacerlos coincidir con las indicaciones de la convocatoria y las necesidades de impresión.

CAUSAS DE DESECHO DE VACAS EN UNIDADES SEMITECNIFICADAS DE PRODUCCIÓN DE LECHE DE LOS ALTOS DE JALISCO.....	97
EFFECTO DE LA JERARQUÍA SOBRE LA CALIDAD SEMINAL EN CARNEROS DURANTE LA ÉPOCA REPRODUCTIVA.....	100
EFFECTO DE LA DOMINANCIA SOBRE EL COMPORTAMIENTO SEXUAL DE CARNEROS DE PELO.....	103
¿LOS EFECTOS BIOLÓGICOS DE LA HORMONA FOLÍCULO-ESTIMULANTE (FSH) DEPENDEN DE LA SÍNTESIS DE ESFINGOSINA 1 FOSFATO (S1P) EN CÉLULAS DE LA GRANULOSA?.....	106
LA ESFINGOSINA 1-FOSFATO COMO MEDIADOR DE LOS EFECTOS BIOLÓGICOS DE LA HORMONA LUTEINIZANTE EN CÉLULAS DE LA TECA DE BOVINO.....	109
EVALUACIÓN DE DOS FUENTES DE PROSTAGLANDINA SOBRE EL COMPORTAMIENTO SEXUAL EN CARNEROS JÓVENES DE PELO.....	112
EFFECTO DEL USO CONJUNTO DE PLASMA SEMINAL BOVINO Y EXTRACTO DE NOPAL COMO ADITIVO PARA LA CONGELACIÓN DE ESPERMATOZOIDES OVINOS.....	115
ANTICUERPOS CONTRA LEPTOSPIROSIS EN VACAS LECHERAS Y PARÁMETROS REPRODUCTIVOS.....	118
CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE LOS PEZONES EN VACAS HOLSTEIN.....	121
RELACIÓN ENTRE MEDIDAS HORMONALES, OVÁRICAS Y CORPORALES CON EDAD A LA PUBERTAD EN BECERRAS BRAHMAN NACIDAS EN VERANO.....	124
RESPUESTA REPRODUCTIVA EN VACAS Y NOVILLAS PRODUCTORAS DE CARNE TRATADAS CON TRES PROTOCOLOS DE SINCRONIZACIÓN DE ESTRO Y OVULACIÓN	127
EVALUACIÓN DEL EFECTO MACHO SOBRE LA ACTIVIDAD REPRODUCTIVA DE CABRAS CRIOLLAS/BOER SEMI-ESTABULADAS EN AIXCUALCO, GUERRERO	130
EVALUACIÓN DE LA ADICIÓN DE QUERCETINA EN LA MADURACIÓN IN VITRO DE OVOCITOS DE BOVINO Y SU DESARROLLO EMBRIONARIO.....	133
CARACTERÍSTICAS TESTICULARES Y EPIDIDIMALES DE SEMENTALES PELIBUEY QUE RECIBIERON DIFERENTES NIVELES DE ALIMENTACIÓN DURANTE SU DESARROLLO CORPORAL.....	136
EVALUACIÓN DE DOS FUENTES DE COLINA EN OVEJAS PRIMALAS Y SU EFECTO EN LA REPRODUCCIÓN.....	139
EFFECTO DEL NIVEL DE ALIMENTACIÓN POST-DESTETE SOBRE EL DESARROLLO CORPORAL Y TESTICULAR DE CORDEROS PELIBUEY.....	142
MORFOMETRÍA OVÁRICA DE VACAS HOLSTEIN-FRIESIAN (BOS TAURUS).....	145
UNA MAYOR CONDICIÓN CORPORAL EN LAS HEMBRAS, MEJORA LA CONDUCTA SEXUAL EN CAPRINOS CRIADOS EN SISTEMA SEMI-EXTENSIVO EN EL NORESTE DE MÉXICO.....	147

EVALUACIÓN DE LA ADICIÓN DE QUERCETINA EN LA MADURACIÓN *IN VITRO* DE OVOCITOS DE BOVINO Y SU DESARROLLO EMBRIONARIO.

Theisy Patricia Acosta Pérez¹, José María Carrera Chávez¹, Andrés Quezada Casasola¹, José Alberto Núñez Gastélum², Mateo Fabián Itzá Ortiz¹, Ernesto Orozco Lucero¹

¹ Programa Maestría en Ciencia Animal-Departamento de Ciencias Veterinarias-UACJ; ² Departamento de Ciencias Químico-Biológicas-UACJ.

jose.carrera@uacj.mx

Palabras clave: Quercetina; especies reactivas de oxígeno; embriones bovinos.

INTRODUCCIÓN

La producción de embriones *in vitro* (PIV) a un costo relativamente bajo ha sido un beneficio enorme para el mejoramiento genético y el estudio de su desarrollo temprano. Sin embargo, hay retos significativos asociados con la tecnología que gira en torno a cuestiones de la calidad de los ovocitos y la calidad de los embriones. La PIV de ruminantes es un proceso de tres pasos que incluye la maduración *in vitro* (MIV) de los ovocitos, fertilización *in vitro* (FIV) y el cultivo *in vitro* (CIV). La MIV es un proceso largo y complejo durante el cual el gameto femenino adquiere la habilidad de ser fertilizado, así como mantener el desarrollo del embrión *in vitro* a la fase de blastocisto (Nogueira da Costa *et al.*, 2015).

Dos de los inconvenientes más importantes de los sistemas de MIV es la falta de antioxidantes y la alta concentración de especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés). Las ROS son moléculas oxidantes poderosas que pueden alterar estructuralmente a muchas moléculas, llevando a un mal funcionamiento. Cuando los ovocitos y embriones son cultivados *in vitro*, se enfrentan al estrés oxidativo, ya que la recuperación y el cultivo involucra exposición a la luz, concentraciones elevadas de oxígeno y concentraciones alteradas de substratos metabólicos (Chowdhury *et al.*, 2017). Un método que puede ayudar a sobrellevar este problema es la suplementación del medio de MIV con compuestos antioxidantes. La quercetina es un flavonoide con potencial antioxidante, y su adición incrementa los porcentajes de MIV y el desarrollo de blastocistos mediante la reducción de los niveles intracelulares de ROS (Silva *et al.*, 2019). El objetivo de este estudio fue la evaluación del efecto de la quercetina sobre la MIV de los ovocitos y su desarrollo hasta blastocistos.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo en el Laboratorio de Investigación y Reproducción Animal de la Universidad Autónoma de Ciudad Juárez (31°44'22" N 106°29'113" O). Se realizaron cinco repeticiones de MIV, puncionando 22-25 ovarios por repetición, para obtener un total de 1,646 ovocitos, utilizando el medio de maduración comercial como tratamiento control (sin aditivos), y cuatro concentraciones de quercetina (2, 4, 8 y 19 µM).

Los ovarios fueron recolectados del Rastro Municipal de Ciudad Juárez. Una vez en el laboratorio, los folículos antrales entre 2 a 8 mm de diámetro fueron puncionados utilizando una jeringa de 10 mL y aguja de 18 g y se aspiró el fluido folicular. El medio de lavado se preparó con 2.28 mL de TCM-199, 0.5 µL/mL de FSH (500 UI/mL), 5% de suero fetal bovino, y 50 µL/mL de gentamicina (160 mg/2 mL). El lavado de los complejos ovocito-*cumulus* (COCs) se realizó pasándolos de un pocillo a otro, en 4 ocasiones. Durante el lavado se realizó la selección y clasificación de los ovocitos. Para la MIV se utilizó medio proporcionado por la Universidad Politécnica Estatal de California, en el Departamento de Ciencia Animal (UPEC) en una incubadora a 38.5 °C con 5% de CO₂ en atmosfera humidificada (21% de O₂) durante 22 h, dividiendo el número total de COCs en los cinco tratamientos. La evaluación de la MIV se realizó 22 h después de haber introducido los COCs en la incubadora, evaluando características morfológicas, basándose en la evidente o no expansión de las células del *cumulus*, además del estado del citoplasma. Se realizaron los cálculos para obtener el índice de expansión del *cumulus* (IEC). Brevemente, se asignó una calificación del 0 al 4 a los ovocitos por pozo, siendo clasificación 0 nula expansión y clasificación 4 ovocitos con expansión de las células del *cumulus* más notable.

La FIV se realizó según el protocolo establecido por el fabricante de los medios utilizados (IVF Bioscience). El semen de un toro de probada fertilidad (ABS Global) se preparó mediante swim-up utilizando 1 mL de medio BO-SemenPrep (IVF Bioscience) teniendo una concentración final de 2x10⁶ de espermatozoides por mL; se añadieron 5 µL de la suspensión de espermatozoides a cada gota de FIV y se incubaron durante

20 h. El CIV se llevó a cabo siguiendo el protocolo establecido por el fabricante de los medios utilizados (IVF Bioscience). Una vez transcurridas las 20 h post-FIV, los presuntos cigotos fueron desnudados y lavados en cuatro ocasiones. Posteriormente se incubaron en el medio de CIV en una mezcla de gases (6% O₂, 6% CO₂, 88%N₂), con una temperatura de 38.5 °C durante 7 d en una atmosfera humidificada.

Las variables para maduración, segmentación y desarrollo de blastocitos se analizaron mediante Chi Cuadrada, mientras que las variables para el IEC se analizaron con un ANOVA y se compararon con una prueba de Tukey cuando se observaron diferencias entre los tratamientos (P≤0.05).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados mostrados en el Cuadro 1 indican una diferencia significativa entre los tratamientos en el porcentaje de maduración (P=0.0004) de los ovocitos clasificación 1 y 2, siendo el grupo de 16 µM el que obtuvo el mayor porcentaje entre los tratamientos. Así mismo, en los grupos de los ovocitos clasificación 3 y 4 se encontró diferencia significativa en el porcentaje de blastocistos (P=0.04), siendo el grupo de 16 µM el que presentó el mayor porcentaje (13.33%). En la variable IEC no se encontraron diferencias estadísticas (P>0.05). Se esperaba que el efecto de la quercetina en los ovocitos clasificación 1 y 2 hubiese sido aún más notorio, al igual que en el estudio llevado a cabo por Silva *et al.* (2019), en el cual utilizaron ovocitos de cabra clasificación 1 y 2, sometiéndolos a MIV en un medio de maduración con quercetina a una concentración de 4 y 8 µM. En ese estudio encontraron que el porcentaje de ovocitos con una maduración nuclear completa fue más alto en los grupos tratados con quercetina en relación al grupo control. Asimismo, encontraron que los ovocitos madurados con 4 µM de quercetina mostraron una mayor actividad mitocondrial. Con base en lo anterior y en los estudios realizados por otros autores, en donde se ha reportado que la quercetina puede prevenir una disfunción mitocondrial al remover los productos de la oxidación, remover radicales libres y estimulando las enzimas antioxidantes, además de que se ha demostrado que puede mejorar los porcentajes de maduración en cabras y porcinos (Cao *et al.*, 2020), se puede suponer un efecto antioxidante del tratamiento con quercetina durante la MIV.

Cuadro 1. Porcentajes de maduración, índice de expansión del *cumulus* (CEI), porcentaje de segmentación y blastocistos de ovocitos madurados con diferentes concentraciones de quercetina.

	Tratamiento	Maduración n (%)	CEI M ± E.E	Segmentación n n (%)	Blastocistos n (%)
Clasificación n 1 y 2	CONTROL	155/254 (61.02) ^b	0.88±0.84 ^a	8/255 (3.14) ^a	8/255 (3.14) ^a
	2 µM	143/192 (74.48) ^b	1.21±0.36 ^a	2/192 (1.04) ^a	9/192 (4.69) ^a
	4 µM	269/376 (71.54) ^b	1.03±0.23 ^a	12/378 (3.17) ^a	11/376 (2.93) ^a
	8 µM	224/324 (64.14) ^b	1.10±0.25 ^a	2/323 (0.62) ^a	8/323 (2.48) ^a
	16 µM	206/263 (78.33) ^a	1.00±0.20 ^a	7/263 (2.66) ^a	3/263 (1.14) ^a
Clasificación n 3 y 4	CONTROL	15/45 (33.33) ^A	0.35±0.17 ^A	2/46 (4.35) ^B	2/46 (4.35) ^B
	2 µM	20/41 (48.78) ^A	0.43±0.18 ^A	1/42 (2.38) ^B	2/42 (4.76) ^B
	4 µM	20/57 (35.09) ^A	0.25±0.09 ^A	1/57 (1.75) ^B	2/57 (3.51) ^B
	8 µM	15/51 (29.41) ^A	0.34±0.21 ^A	0/55 (0.00) ^B	0/55 (0.00) ^B
	16 µM	11/43 (25.58) ^A	0.21±0.13 ^A	5/45 (11.11) ^A	6/45 (13.33) ^A

^{a,b} Diferentes literales dentro de la misma columna indican diferencia (P < 0.05) en los ovocitos grado 1 y 2.

^{A, B} Diferentes literales dentro de la misma columna indican diferencia (P < 0.05) en los ovocitos grado 3 y 4.

Asimismo, en este estudio se demostró que a pesar de la calidad de los ovocitos clasificados como 3 y 4, el porcentaje de blastocistos fue más alto al añadir la quercetina al medio de MIV en comparación con el tratamiento control, interpretándose como una mejora en la MIV, la cual se reflejó en los porcentajes de blastocistos obtenidos. Con base en los resultados obtenidos, el uso de antioxidantes representa un método alternativo en el mejoramiento de la MIV. Estos aditivos mejoran la efectividad del medio de cultivo y permiten a los ovocitos inmaduros adquirir competencia para la fertilización y la embriogénesis. Dado a la configuración molecular de la quercetina le es posible remover las ROS, trabajando como un fuerte antioxidante, convirtiéndose en un radical libre al reaccionar con un radical desemparejado, donando un protón. En un estudio realizado por Guemra *et al.* (2013), se observó que el porcentaje de blastocistos fue mayor en los grupos madurados con 0.4, 2, 10 y 50 μM de quercetina (56.9, 59.5, 53.6 y 49.6% respectivamente) comparados con el grupo control (42.3%), además, al hacer la comparación de la quercetina contra otro antioxidante (cisteamina), los grupos de quercetina 0.4 y 2 μM fueron superiores en cuanto a la producción de embriones (56.9 y 59.5%) comparado con el grupo de cisteamina (50.4%) (Guemra *et al.*, 2013).

Un aspecto importante a considerar que influye durante la maduración *in vitro*, es el manejo desde la recolección y transporte de los ovarios, la recuperación y el cultivo de los ovocitos lo cual involucra exposición a la luz, a altas concentraciones de substratos metabólicos y concentraciones elevadas de oxígeno, lo cual en conjunto conlleva a la inducción del estrés oxidativo, el cual resulta en el envejecimiento prematuro de los ovocitos por un incremento en la producción de ROS, siendo uno de los principales factores perjudiciales para los procesos de maduración nuclear y citoplasmática, que a su vez causan una baja fertilización y un desarrollo tardío de los embriones (Chowdhury *et al.*, 2017). Por lo cual, las ROS deben ser inactivados continuamente para mantener niveles fisiológicamente tolerables, de esta manera jugaran un rol normal en las funciones celulares de los ovocitos, para esto, la suplementación de antioxidantes al medio de maduración *in vitro* ayuda a disminuir los niveles de ROS bloqueando su formación y protegiendo contra sus efectos dañinos (Chowdhury *et al.*, 2017); lo anterior fue confirmado en el presente estudio, en el cual se observó que la adición de 16 μM de quercetina incrementó los porcentajes de MIV de los ovocitos de bovino.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos mostraron que la adición de quercetina al medio de maduración de los ovocitos favorece la maduración *in vitro* y el desarrollo hasta blastocistos, siendo 16 μM de quercetina la concentración que mostró mayores porcentajes en las variables evaluadas entre los tratamientos utilizados. Se recomienda profundizar en la investigación sobre estos antioxidantes en la producción *in vitro* de embriones, evaluando otras concentraciones o combinaciones entre estos antioxidantes.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece el apoyo brindado por el personal del rastro Municipal de Ciudad Juárez para la realización del presente estudio. Los resultados forman parte de la tesis de maestría del primer autor.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Cao Y, Zhao H, *et al.* 2020. Quercetin promotes *in vitro* maturation of oocytes from humans and aged mice. *Cell Death Dis* 11:965
2. Chowdhury MMR, Choi BH, *et al.* 2017. Supplementation of lycopene in maturation media improves bovine quality *in vitro*. *Theriogenology*. 103:173-184
3. Guemra S, Monzani PS, *et al.* 2013. *In vitro* maturation of bovine oocytes in medium supplemented with quercetin, and its effect on embryonic development. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 65:1616-1624
4. Nogueira da Costa N, Brito KNL, *et al.* 2015. Effect of cortisol on bovine oocyte maturation and embryo development *in vitro*. *Theriogenology*. 85:323-329
5. Silva AAA, Silva MNP, *et al.* 2019. Quercetine influences *in vitro* maturation, apoptosis and metabolically active mitochondria of goat oocytes. *Zygote* 1-6