

**DR05- GLICOSAMINOGLICANOS AISLADOS DE FLUIDOS DEL TRACTO GENITAL FEMENINO AUMENTAN LA EFICIENCIA DE LA FERTILIZACIÓN IN VITRO EN CERDOS**

*Aguilera AC<sup>1,2</sup>, Vieira LA<sup>3</sup>, Volpi N<sup>4</sup>, y Matás C<sup>3</sup>*

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Cuyo. CONICET. Mendoza, Argentina. <sup>2</sup>Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Cuyo. Mendoza, Argentina. <sup>3</sup>Departamento de Fisiología, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia, España. <sup>4</sup>Dept of Life sciences. Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia, Modena, Italia. *caguilera@mendoza-conicet.gob.ar*

Después del apareamiento natural, miles de millones de espermatozoides se transportan en el tracto genital femenino donde quedan expuestos a fluidos biológicos como el líquido uterino, el líquido oviductal y el líquido folicular. La mayoría de estos fluidos están compuestos de moléculas complejas que incluyen grandes cantidades de glicosaminoglicanos (GAGs). Los GAGs son una familia de polisacáridos lineales que contienen disacáridos de hexosamina repetitivos. Según su estructura, se han descrito dos clases principales de GAGs: los GAGs sulfatados, incluidos el sulfato de heparán (HS), el sulfato de condroitina (CS), el sulfato de queratán (KS) y el GAG no sulfatado ácido hialurónico (HA). Diferentes estudios mostraron que los GAGs pueden estar involucrados en la capacitación y la reacción acrosomal “in vivo” y su presencia en el reservorio espermático podría mantener la estabilidad de la membrana del espermatozoide. Dado que el ácido hialurónico parece mediar en el proceso de fertilización, en este estudio nos propusimos aislar los GAGs de fluidos del tracto femenino de cerdas y evaluar su efecto en la fertilización in vitro (FIV). Se aislaron GAGs de fluido folicular (G-FF), fluido oviductal (G-OF) y secreción de células del cumulus (G-COS). Los GAGs se aislaron mediante digestión con proteasa, seguido de extracción de lípidos y etapas secuenciadas de precipitaciones. La composición de GAGs se determinó como se describió previamente por Volpi N et.al. (J Matern Fetal Neonatal Med. 22: 1-61. 2018). La FIV se realizó en medio TALP conteniendo 120 µg / ml de G-COS, 120 µg / ml de G-FOP, 120 µg / ml de G-FF, 100 o 500 µg / ml de HA. Cada grupo se co-cultivó con 5x10<sup>5</sup> espermatozoides/ml y se determinaron los parámetros de fertilización. Se observó que G-FF mostró la menor tasa de unión a la zona pelúcida, mientras que mostró la tasa de penetración de espermatozoides más alta (%) y la mayor eficiencia para formar pronúcleos (P <0.05, ANOVA seguido de Tukey post hoc). No se observó ningún efecto después de la incubación con HA o G-COS. Este estudio preliminar sugiere que los GAG aislados del FF pueden mejorar los resultados de la FIV en porcinos.

**DR06- FECUNDACIÓN DE OVOCITOS BOVINOS MEDIANTE LA TÉCNICA DE PIEZO-ICSI**

*Alvarez GM<sup>1</sup>, Breininger E<sup>1,2</sup>, Cetica PD<sup>1,2</sup>*

<sup>1</sup>INPA CONICET, <sup>2</sup>INTRA-UBA *galvarez@fvet.uba.ar*

Las tasas de fecundación de ovocitos bovinos mediante ICSI son muy bajas y se debe complementar con activación química. Los objetivos fueron determinar la eficiencia de la producción de embriones mediante la técnica de Piezo-ICSI y comparar la actividad enzimática de PLC del espermatozoide bovino y humano. Se fecundaron ovocitos madurados in vitro mediante ICSI convencional y PIEZO-ICSI. Se determinó la formación de pronúcleos, el clivaje y la actividad enzimática de los espermatozoides mediante fluorimetría. La sobrevida (99 vs 95 %), formación de pronúcleos (22,3 vs 5,9 %) y clivaje de los embriones (18,4 vs 4,2 %) fueron mayores con PIEZO-ICSI (p<0,05). La actividad de PLC del espermatozoide bovino fue menor a la del humano (5,2 ± 1,8 vs 16,1 ± 4,4 mUI/10<sup>6</sup> células, p<0,05). La interacción del pulso de Piezo con las membranas del espermatozoide y del ovocito mejora la activación del ovocito favoreciendo la formación normal de pronúcleos y el clivaje de los embriones. La maniobra de inyección con Piezo-ICSI produce menos lisis de los ovocitos. Sin embargo, las tasas de fecundación y clivaje obtenidos son bajas respecto al ICSI con activación

**DR07- EVALUACIÓN DE LA POTENCIALIDAD DE FORMACIÓN DE CARIOPSES EN UN HÍBRIDO APOMÍCTICO**

*Anibalini, VA; Martín, B y Ortiz, J P.A. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Rosario, Campo Experimental Villarino, S2125ZAA- Zavalla, Santa Fe, Argentina. Email: veronica.anibalini@unr.edu.ar*

En situaciones de clima templado la presencia de especies estivales de metabolismo C4 juega un rol fundamental en la estabilidad ecológica del sistema debido a la complementariedad de los ciclos de crecimiento entre las gramíneas invernales y estivales. En este sentido *Paspalum notatum* Flüggé es una de las gramíneas más promisorias como forrajera de ciclo estival, por mostrar buenas producciones de forraje en cantidad y relativa buena calidad. No obstante, uno de los factores que impiden el éxito de su incorporación está centrado en caracteres de la semilla. Es sabido que las especies forrajeras subtropicales poseen bajo porcentaje y alta variabilidad de formación de semilla. Estos problemas están asociados a desequilibrios en el número cromosómico, presencia de múltiples embriones nucleares, fallas en la fertilización y esterilidad del polen. Estas últimas causas están ligadas además a estreses climáticos y nutricionales. El objetivo de este estudio fue evaluar el porcentaje de formación de semilla de un híbrido apomíctico de *P. notatum* Fl. en el sur de Santa Fe. El experimento se desarrolló en el campo experimental “J. F. Villarino” (33° 01' S-60° 53' O) perteneciente a la Facultad de Ciencias Agrarias (UNR). El material vegetal utilizado fue *P. notatum* cv Boyero-UNNE, sembrado el 14 de noviembre del 2014 en el lote 5 en una superficie de 1000 m<sup>2</sup>. El período de toma de datos abarcó las campañas: 2015-2016, 2016-2017 y 2017-2018. En el presente trabajo sólo se muestran los resultados de la primera campaña. La metodología empleada para evaluar el llenado de grano consistió en marcar 200 panojas al azar con su tercio medio en anthesis en el momento de plenitud de esta fase. A partir de ese momento y cada tres días se seleccionaron 20 panojas tomadas al azar entre las marcadas, denominándose tiempo cero (T0) al día de inicio de toma de las muestras y así de manera sucesiva hasta la finalización de la toma de muestras, designándose tiempo siete (T7) a la última muestra recolectada (momento coincidente con el inicio de madurez fisiológica). Al total de la muestra se le extrajo el tercio medio de cada racimo, y se disectaron los cariopses manualmente. Los cariopses colectados se conservaron en alcohol al 70%. Posteriormente se