



ESPE
ESCUELA POLITÉCNICA DEL EJÉRCITO
CAMINO A LA EXCELENCIA



**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA
CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA
EXTENSIÓN SANTO DOMINGO**

**Producción de embriones in vitro sin antioxidantes para alcanzar un 40% de
blastocistos viables**

Autora:

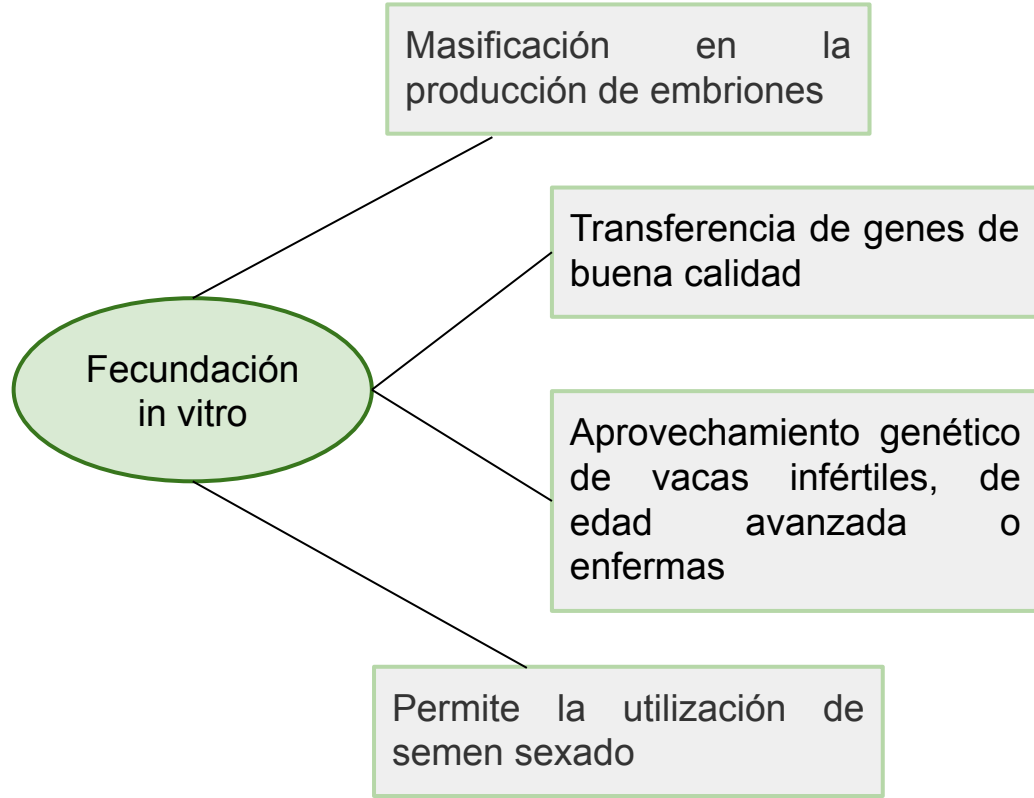
Anchico Coloma Susana Alejandra

Director:

Director: Carrera Garcés Fredy Patricio Ph. D.



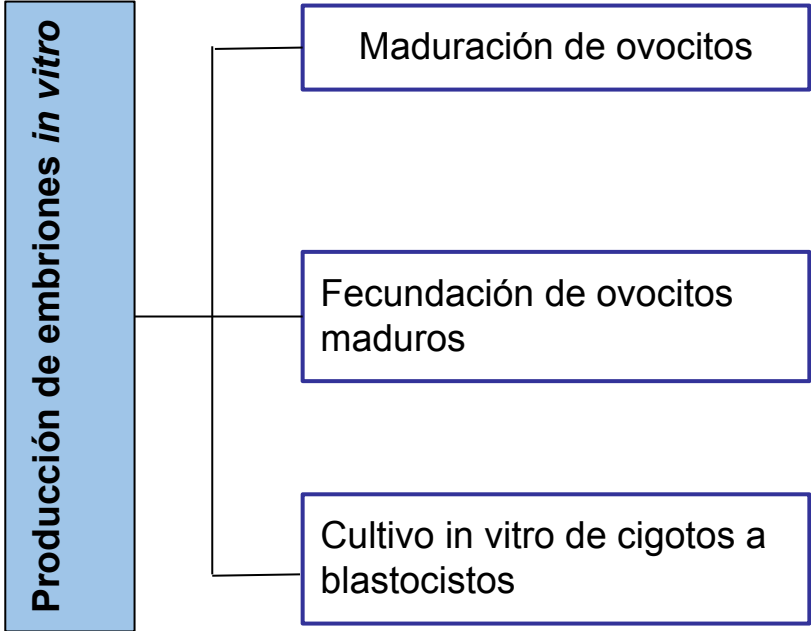
Introducción



Aprovechar mayoritariamente la capacidad reproductiva y productiva de los animales (Hincapié, 2019).



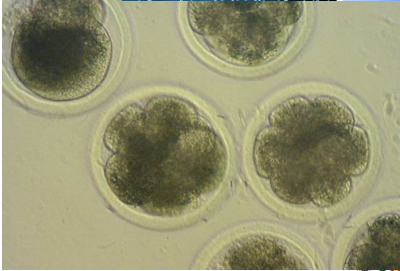
Introducción



Técnica que facilita la conservación de especies en vías de extinción

Aspiración folicular

Ovum pick-up



(Sirard, 2011)

Objetivos

Objetivo General

Producir embriones in vitro sin antioxidantes para alcanzar un 40% de blastocistos viables

Objetivos Específicos

1.- Madurar los ovocitos extraídos de ovarios de matadero sin antioxidantes.

2.- Fertilizar los ovocitos madurados in vitro sin antioxidantes.

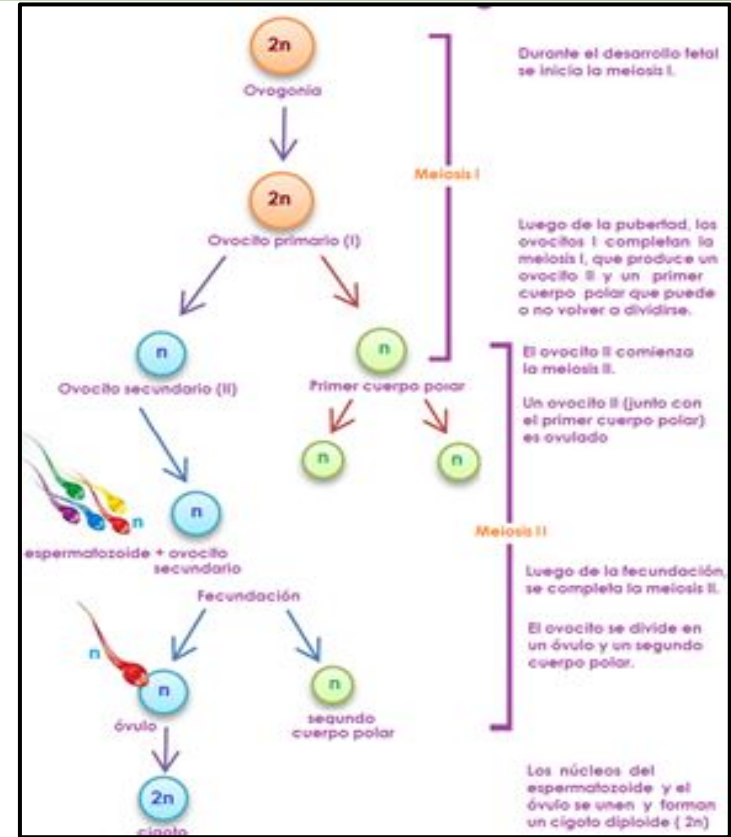
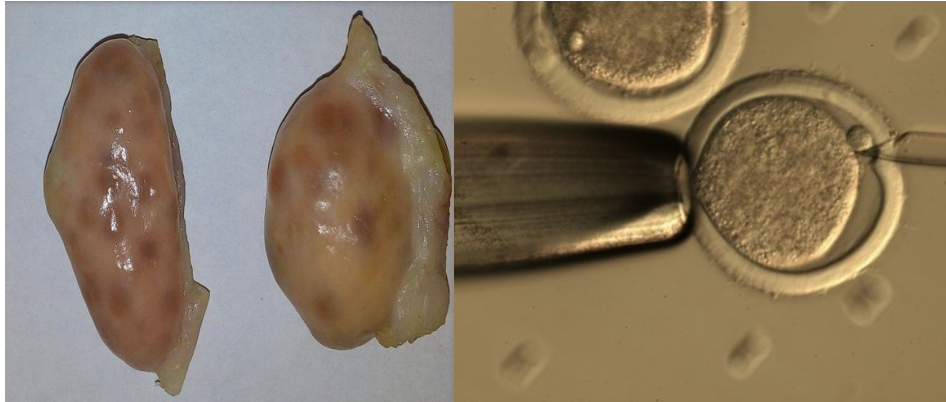
3.- Retirar las células del cúmulus de los cigotos



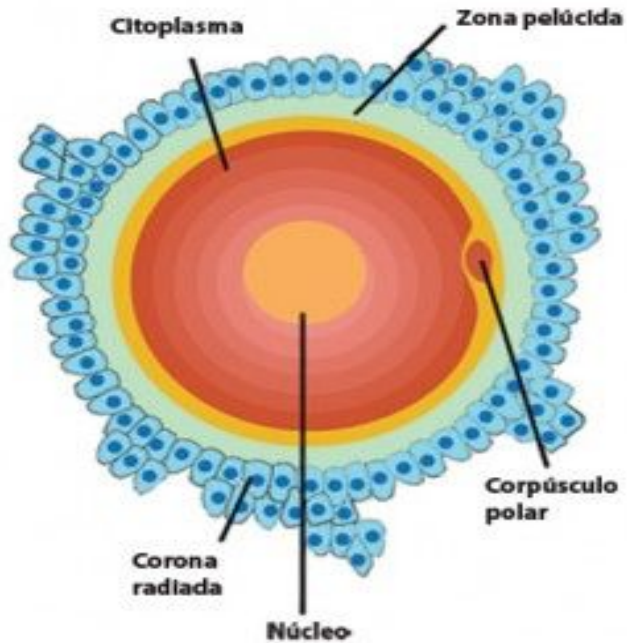
Marco Teórico

Los Ovarios:

- Se encuentran fijados a los cuernos uterinos por el mesoovario y recubiertos por la bolsa ovárica.
- Son de forma ovoide
- Miden entre 1.5 y 5 cm de largo, este tamaño varía durante el ciclo estral (Vargas, 2018).



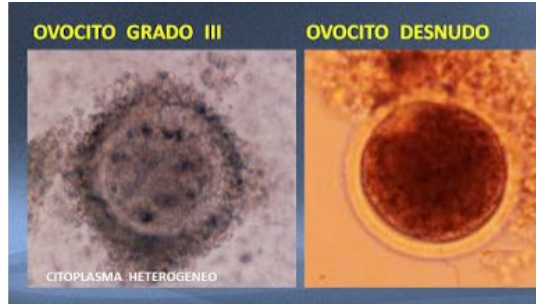
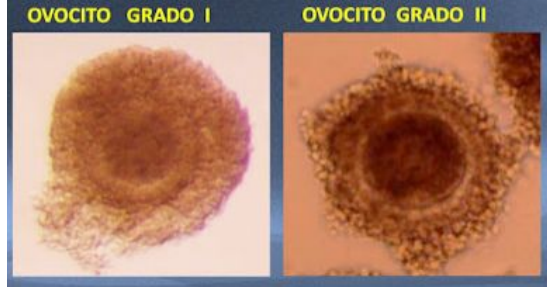
Marco Teórico



Longitud de 80 μm , mas grande que un espermatozoide
Corona radiada, la membrana plasmática y la zona pelúcida.
No puede movilizarse por sí solo
Necesita movimientos de contracción y dilatación por parte del útero.

Marco Teórico

Células del cúmulus



Grado I (GI) - Cumulus compacto, que contiene más de tres capas de células.

Grado II (GII) - Cumulus compacto que rodea completamente el ovocito, con menos de tres capas de células.

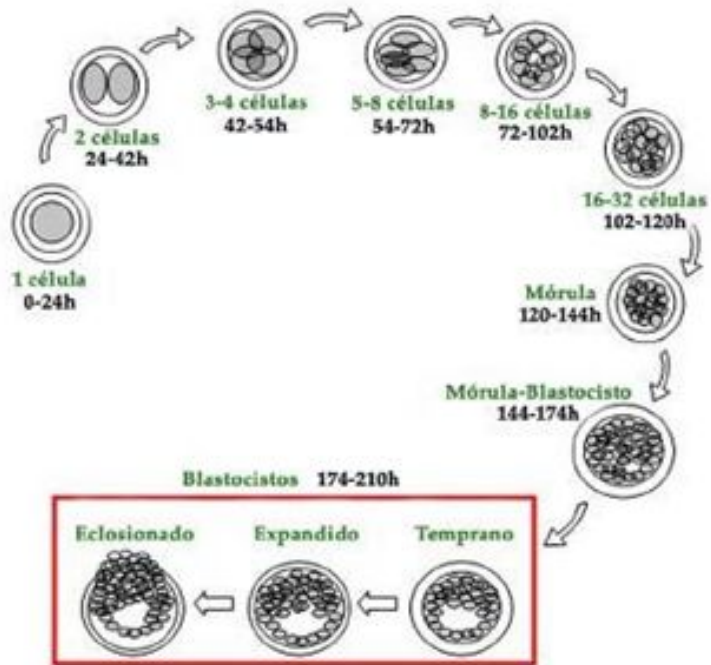
Grado III (GIII) – Ooplasma contraído, con espacio entre la membrana celular y la zona pelúcida, llenando el espacio perivitelino de manera irregular.

Desnudos - No cubiertos por células del cúmulo o cubiertos en parte por ellas.

Degenerados – Con ooplasma vacuolizado o fragmentado.

Atrésicos - Cumulus oophorus oscuro o con presencia de signos de degeneración citoplásmica

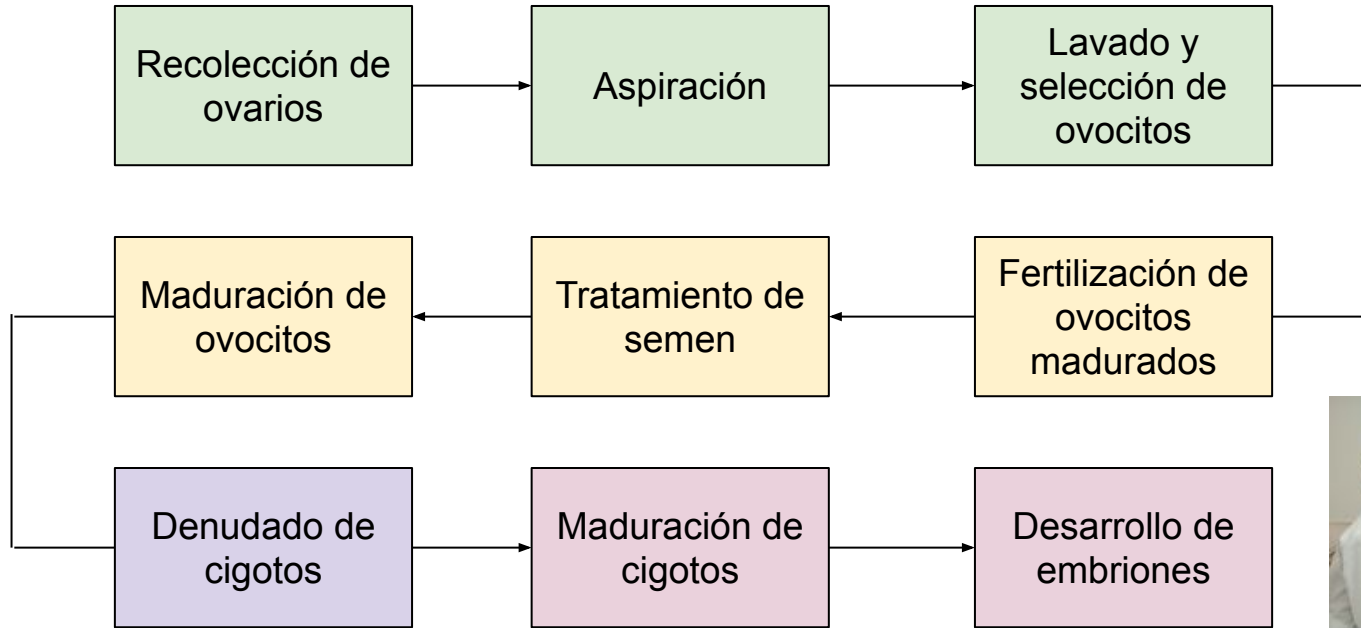
Marco Teórico



Una vez realizada la fecundación el proceso de división celular continua con varias divisiones mitóticas generando el cigoto, mórula y blastocisto.

El citoplasma contiene las reservas necesarias para la nutrición del embrión, el mismo contiene lípidos, proteínas y polisacáridos.

Metodología



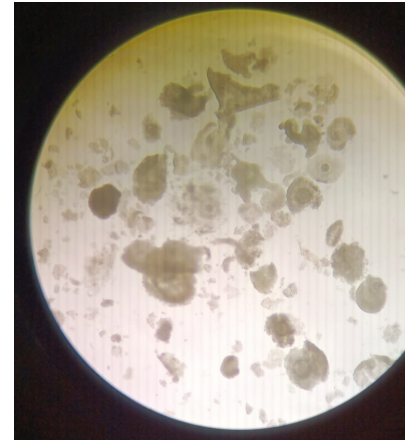
$$\% \text{ de Blastocistos} = \frac{\text{N}^\circ \text{ de cigotos denudados}}{\text{N}^\circ \text{ de blastocistos}}$$

Resultados y Discusión

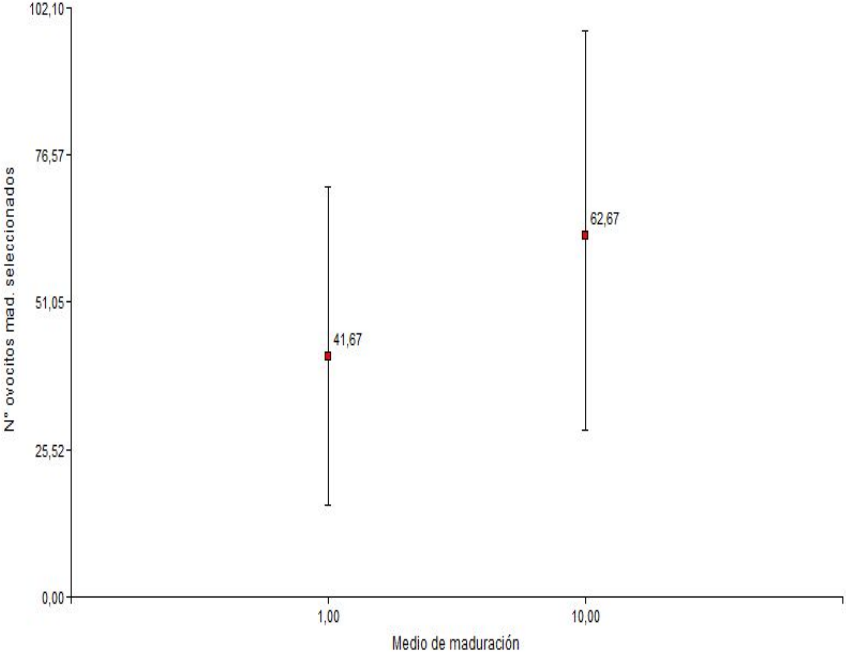
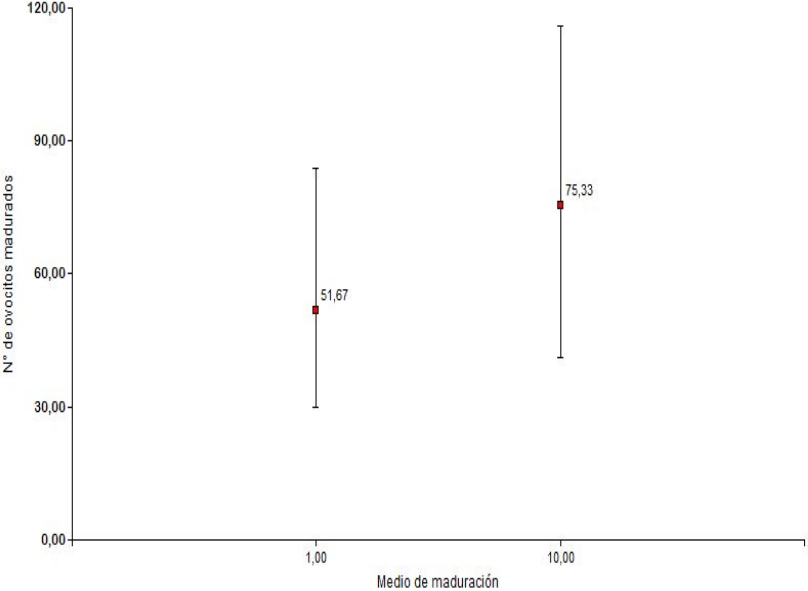
Maduración de ovocitos

Réplica	Ovocitos madurados	Ovocitos viables
1	35,50 ^A	22,50 ^A
2	55,00 ^{AB}	49,50 ^A
3	100,00 ^B	84,50 ^B

Medio de maduración	Ovocitos madurados	Ovocitos viables
TCM		
1X	51,67 ^A	41,67 ^A
10X	75,33 ^A	62,67 ^B

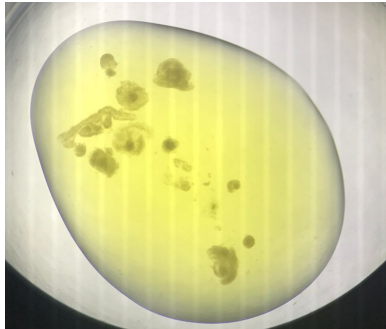
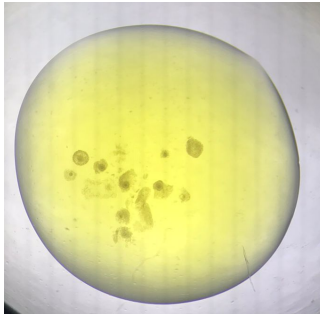


Resultados y Discusión

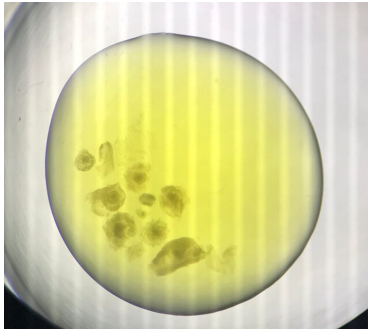
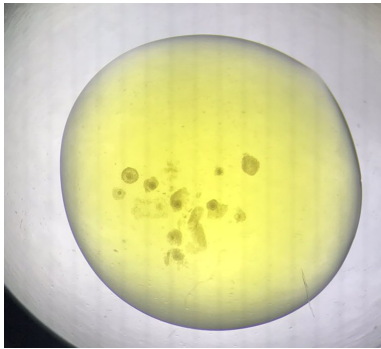


Resultados y Discusión

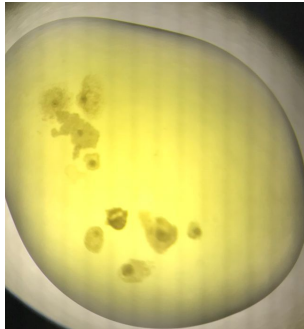
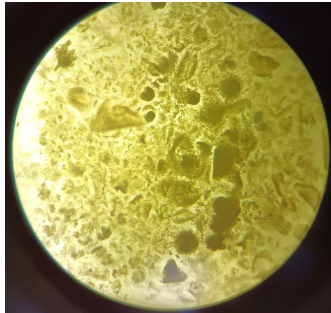
Réplica 1



Réplica 2



Réplica 3

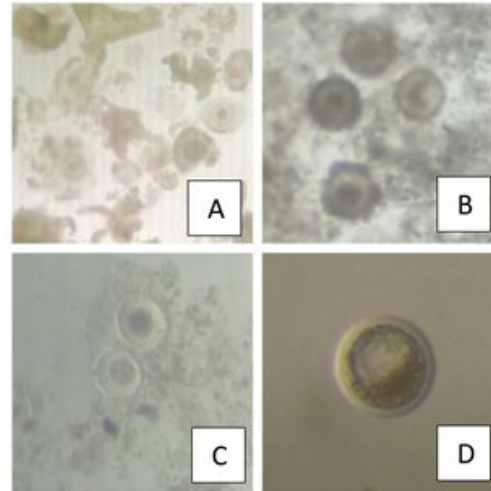
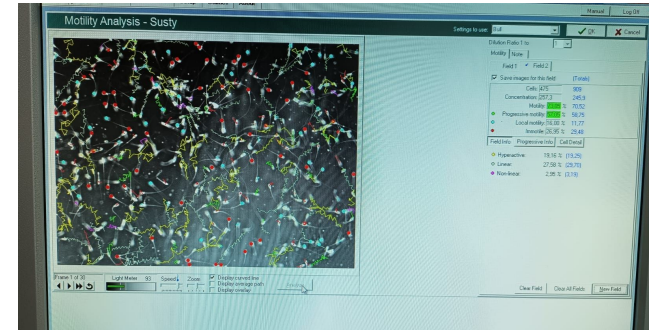


Resultados y Discusión

Maduración de cigotos y blastocistos

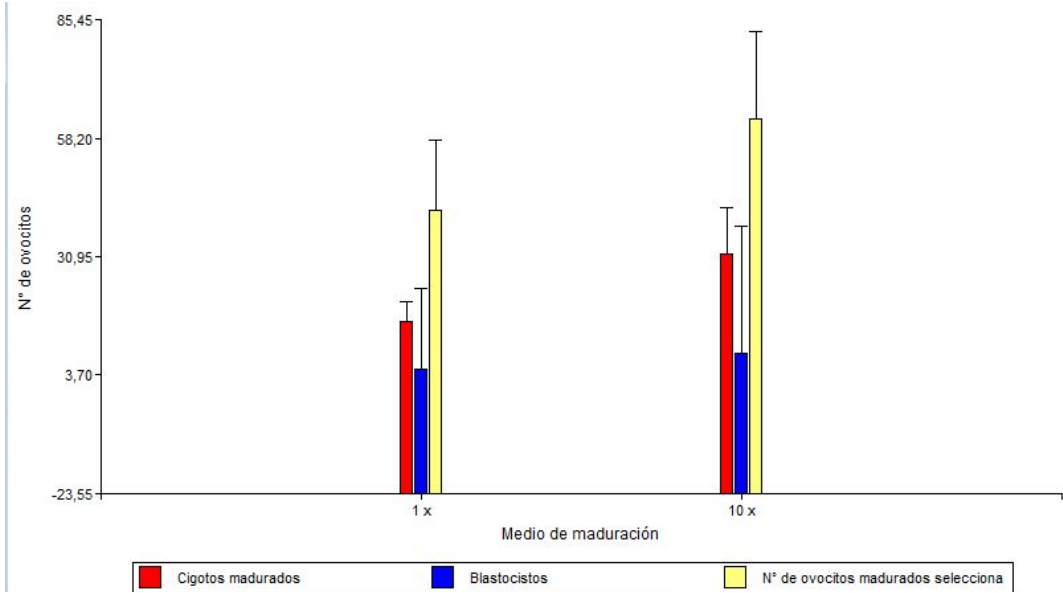
Medio de maduración TCM	Cigotos denudados
1X	11,33 ^A
10X	19,33 ^B

Réplica	Cigotos denudados
1	6,50 ^A
2	18,50 ^B
3	21,00 ^B



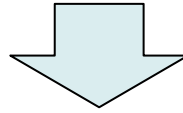
Resultados y Discusión

Replica	Medio de maduración	Nºovocitos madurados selec	Cigotos madurados	Blastocistos
1	1	16	7	0
1	10	29	11	1
2	1	38	18	7
2	10	61	39	11
3	1	71	23	8
3	10	98	45	14

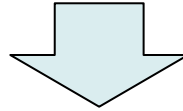


Recomendaciones

Mantener a los ovarios en el traslado desde el lugar de faenamiento hasta el laboratorio a una temperatura entre 33- 37°C para evitar que los ovocitos se degeneren.



Mantener un ambiente aséptico dentro del laboratorio para evitar la contaminación de los medios de cultivo

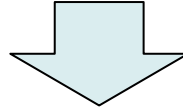


Realizar el denudado de cigotos de forma muy técnica ya que los ovocitos fecundados pueden destruirse con facilidad

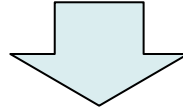


Conclusiones

Se logró producir embriones *in vitro* con ovarios de matadero mediante la técnica de aspiración folicular alcanzando un 44,46% de blastocistos viables.



El medio TCM 199 en concentraciones 1X y 10X no mostraron diferencias significativas en la cantidad de ovocitos madurados seleccionados, por lo que el uso de este es indistinto, en cualquiera de los dos casos se obtendrán ovocitos con varias capas de células del cúmulus.



Se realizó la fertilización de ovocitos con semen con un porcentaje elevado de motilidad de los espermatozoides, lo que contribuyó para alcanzar un porcentaje elevado de blastocistos



¡Gracias!



ESPE
ESCUELA POLITÉCNICA DEL EJÉRCITO
CAMINO A LA EXCELENCIA