



ESPE
ESCUELA POLITÉCNICA DEL EJÉRCITO
CAMINO A LA EXCELENCIA



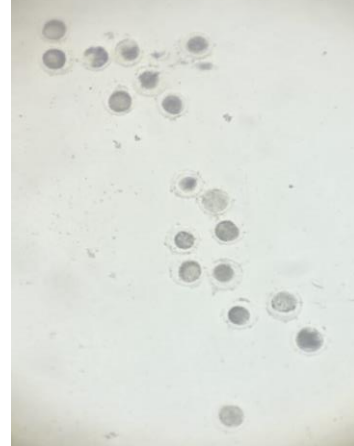
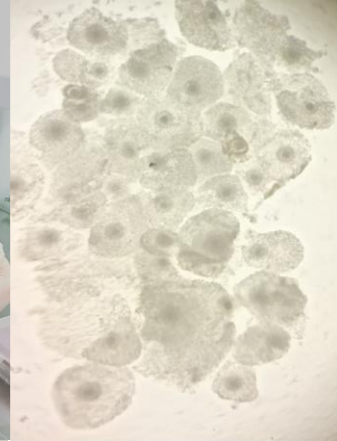
**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA
CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA
EXTENSIÓN SANTO DOMINGO**

**“Producción de embriones in vitro con resveratrol y
tocoferol (Vitamina E) para lograr un 45% de
blastocistos viables”**

Autores: Borja Cuadro Carol Lisseth

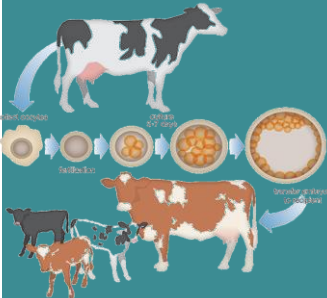
Director: PhD. Carrera Garces, Fredy Patricio
Santo Domingo – Ecuador

2023





La producción *in vitro* de embriones PIV, es una de las técnicas biotecnológicas más sobresaliente para mejoramiento genético y precisión selectiva.

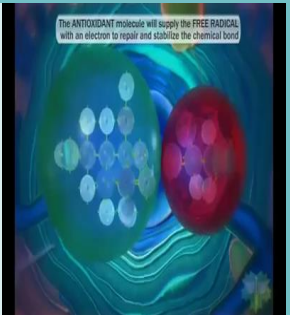



- Disminuye el tiempo generacional entre animales.
- Aprovechamiento de animales con alto valor genético
- Salvaguarda el material genético presente en animales que tienen su vida comprometida o por sacrificio sanitario

Su proceso es delicado por la constante manipulación en las etapas de (MIV) (FIV) y (CIV), el ambiente *in vitro*, provoca estrés oxidativo, radicales libres en exceso y especies reactivas de oxígeno (ROS).



Los antioxidantes son moléculas capaces de donar electrones a oxidantes, eliminando reactividad, manteniendo el equilibrio prooxidante/antioxidante, protegiendo la célula y su microambiente de daño oxidativo y apoptótico.



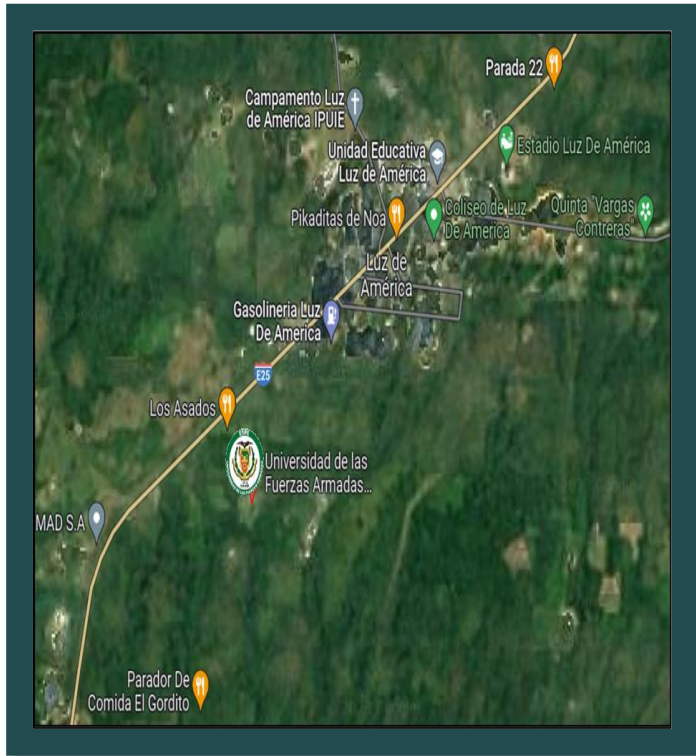


General

Determinar la influencia del resveratrol y tocoferol (vitamina E) en la producción de embriones *in vitro* para lograr el 45% de blastocistos viables.

Específicos

- Evaluar los cigotos *in vitro* a partir del cultivo con resveratrol, tocoferol (vitamina E), e incubados con 5% de CO₂.
- Remover las células del *Cumulus oophorus* de los cigotos y pasar a solución de maduración con resveratrol y tocoferol (vitamina E) para incubar en cámara de CO₂ al 5%.
- Distribuir los cigotos seleccionados en solución de maduración con resveratrol, tocoferol (vitamina E) para incubar en cámara de CO₂ al 5%.



Ubicación política

País:	Ecuador
Provincia:	Santo Domingo de los Tsáchilas
Cantón:	Santo Domingo
Parroquia:	Luz de América
Sector:	Vía Quevedo, Km 24

Ubicación ecológica

Zona de vida:	Bosque húmedo tropical
Altitud:	224 msnm
Temperatura media:	24,6 °C
Precipitación:	2860 mm año
Humedad relativa:	85 %
Heliofanía:	680 horas luz año
Suelos:	Franco Arenoso

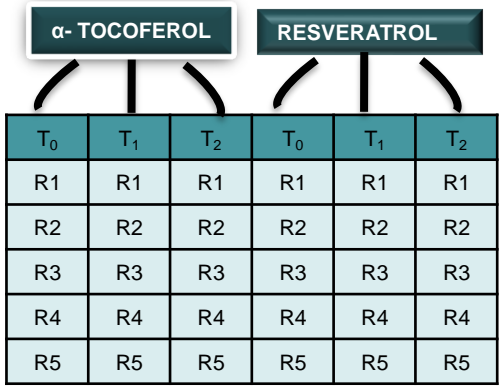
Ubicación geográfica

Latitud:	00° 24' 36"
Longitud:	79° 18' 43"
Altitud:	270 msnm

DISEÑO EXPERIMENTAL

ANOVA ANIDADO DE UNA SOLA VÍA

Factores	Simbología	Niveles
Tipo de Antioxidante (A)	A0	Resveratrol α-Tocoferol
	A1	
Concentración de antioxidante (B)	B0	Sin α-Tocoferol 100µM 200µM Sin Resveratrol 0,5µM 10µM
	B1	
	B2	
	B3	
	B4	
B5		



La tabla ANOVA es

F. V.	S. C.	G. L.	M. C.	F
Factor A	SC_A	$a - 1$	$MC_A = \frac{SC_A}{a-1}$	$F_A = \frac{MC_A}{MC_E}$
Factor B (B ⊂ A)	$SC_{B(A)}$	$a(b-1)$	$MC_{B(A)} = \frac{SC_{B(A)}}{a(b-1)}$	$F_{B(A)} = \frac{MC_{B(A)}}{MC_E}$
Residual	SCE	$ab(n-1)$	$MC_E = \frac{SCE}{ab(n-1)}$	
Total	SCT	$abn - 1$		

```

    graph TD
      A[Tipo de diseño  
ANOVA de una vía] --> B[Repeticiones  
5 repeticiones, generando 30  
unidades experimentales.]
      B --> C[Análisis funcional  
Prueba de significancia Tukey (p < 0,05)]
      C --> D[Variables a medir  
Blastocistos viables en fase temprana]
  
```

METODOLOGÍA



Recolección de ovarios



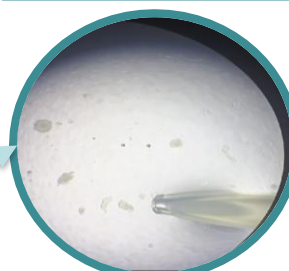
Lavado de ovarios



Aspiración



Lavado y selección de ovocitos



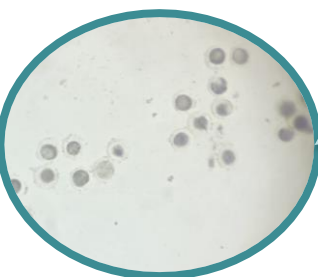
Búsqueda de ovocitos a madurar



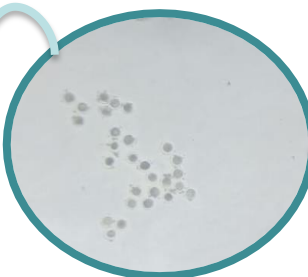
Maduración de ovocitos



Desarrollo de embriones



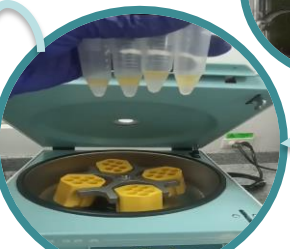
Denudamiento de cigotos



Maduración de ovocitos FIV



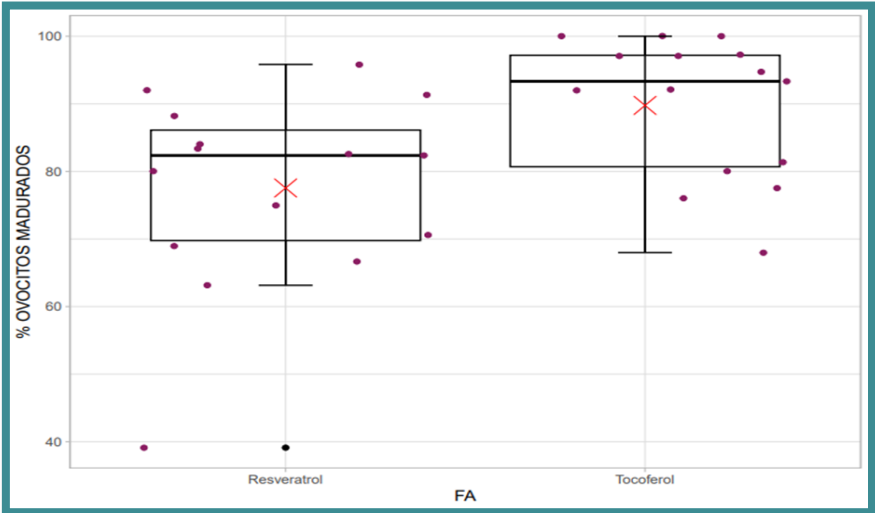
Fertilización de ovocitos



Tratamiento de semen

Maduración ovocitos

Efecto	Suma de cuadrados	GL	Cuadrados medios	F-valor	P-valor
FA: ANTIOXIDANTE	1120	1	1120.1	7.348	0.0122
FA:FB	753	4	188.2	1.234	0.3228
Error	3658	24	152.4		



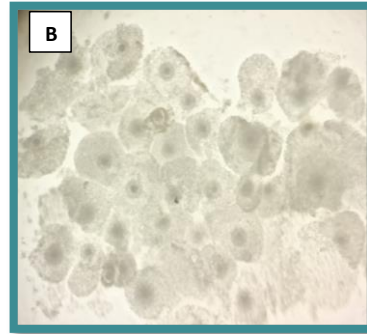
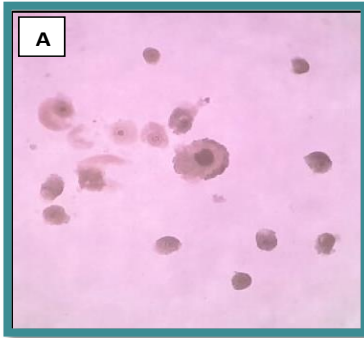
Prueba Tukey

ANTIOXIDANTE	% OVOCITOS MADUROS
TOCOFEROL	89.77 A
RESVERATROL	77.55 B

CONCENTRACIÓN	% OVOCITOS MADUROS
100 µM	88.29 A
0.5 µM	82.64A
200 µM	86.68 A
10 µM	81.64 A
control	73.50 B

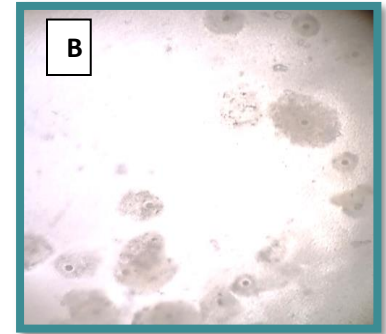
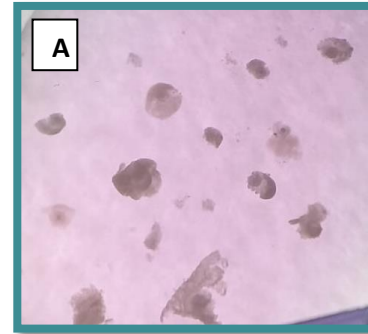
Maduración ovocitos

α -Tocoferol



Ovocitos maduros con Tocoferol a las 24h de incubación, T1 concentración 100 μ M

Resveratrol

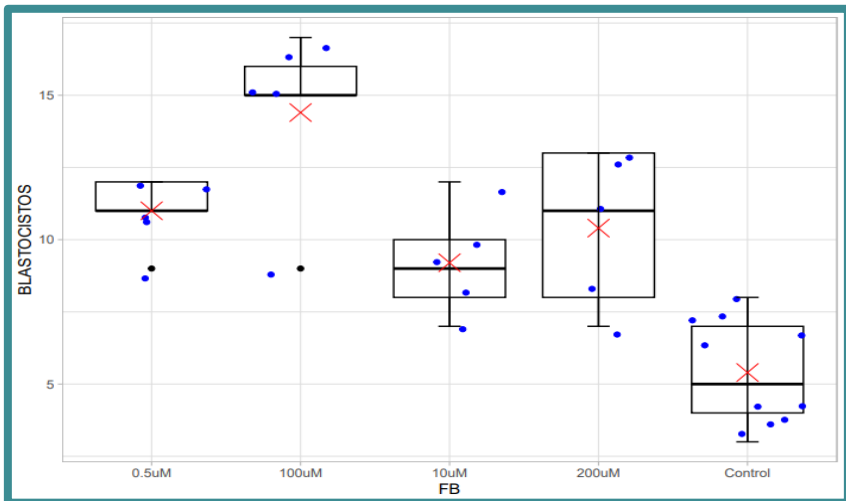


Maduración de ovocitos con Resveratrol, T1 concentración 0.5 μ M de resveratrol.



Maduración blastocistos

Efecto	Suma de cuadrados	GL	Cuadrados medios	F-valor	P-valor
FA : ANTIOXIDANTE	28.03	1	28.03	5.80	0.0241
FA:FB	278.27	4	69.57	14.39	0.00000398
Error	116.00	24	4.83		



Prueba Tukey

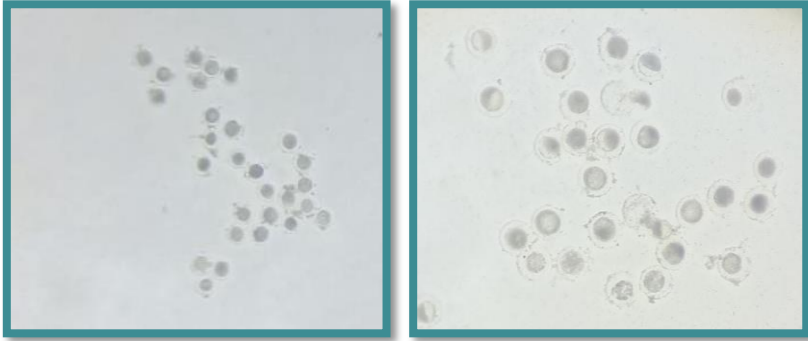
ANTIOXIDANTE	BLASTOCISTOS
TOCOFEROL	10.27 A
RESVERATROL	8.33 B

CONCENTRACIÓN	BLASTOCISTOS
100 μ M	14.4 A
0.5 μ M	11.0 AB
200 μ M	10.4 AB
10 μ M	9.2 B
control	5.4 C

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

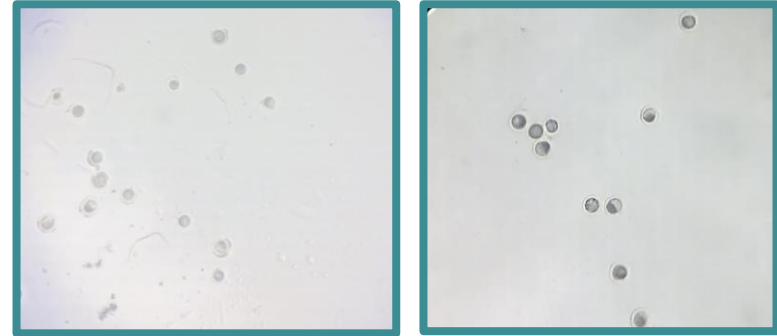
Maduración blastocistos

α -Tocoferol



Blastocisto con Tocoferol al Día 6 de incubación, T1 concentración 100 μ M

Resveratrol



Blastocistos con Resveratrol al Día 6 de incubación, T1 concentración 0,5 μ M



El uso de antioxidantes en la producción in vitro de embriones bovinos mejora la maduración de ovocitos, la fertilización in vitro y la formación de blastocistos, siendo el Tocoferol el antioxidante que brindo mejores resultados en las tres fases antes mencionadas.

El α -Tocoferol a una concentración de 100 μ M produjo 88.89% de ovocitos maduros y 47.36% de blastocistos este porcentaje es óptimo en la producción de embriones bovinos in vitro.

El resveratrol en una concentración de 0.5 μ M generó el 82.95% de ovocitos maduros y blastocistos en un 42.63%, estos datos coinciden con la mayoría de los estudios similares.



RECOMENDACIONES



Realizar estudios del uso de α - tocoferol y resveratrol combinados en concentraciones bajas con el fin de entender y comparar el rendimiento con estudios de antioxidantes que han sido reportados de manera individual.

Hacer investigaciones de α - tocoferol y resveratrol en concentraciones bajas pero dispuestos directamente en las soluciones de cultivo más no en la solución madre.





¡Gracias!



ESPE
ESCUELA POLITÉCNICA DEL EJÉRCITO
CAMINO A LA EXCELENCIA