



XXVIII Comunicaciones Científicas y Tecnológicas

Orden Poster: CA-004 (ID: 2473)

Autor: Ponce, Pablo Exequiel

Título: Evaluación de la fertilidad in vitro de semen bupalino (*Bubalus bubalis*).

Director: Konrad, José Luis

Palabras clave: biotecnologías, reproducción, búfalos

Área de Beca: Cs. Agropecuarias

Tipo Beca: Cyt - Pregrado

Periodo: 01/03/2022 al 28/02/2023

Lugar de trabajo: Facultad De Cs. Veterinarias

Proyecto: (20B001) Criopreservación de semen bupalino en Argentina

Resumen:

El constante crecimiento que experimenta la producción bupalina hace necesario que vaya acompañado de un mejoramiento genético, mediante la aplicación de biotecnologías de la reproducción. La fertilización in vitro (FIV) es una herramienta productiva de gran impacto en el progreso genético, a pesar del reducido número y la baja competencia de los ovocitos derivados de la aspiración folicular transvaginal (OPU). En los últimos años, los trabajos fueron orientados a buscar mejorar esta limitante mediante la aplicación de tratamientos de estimulación hormonal antes de la OPU, traduciéndose en una mayor eficiencia en la producción de embriones. Sin embargo, pocas investigaciones fueron realizadas para evaluar el efecto del semen en la fertilización. Para esto, se podrían realizar técnicas como la prueba de fertilización in vitro (FIV), la cual permite medir la capacidad fecundante del espermatozoide in vitro en presencia del gameto de la hembra. Entre los factores que afectan la tasa de FIV, la calidad posterior al proceso de congelación y descongelación es de enorme importancia, ya que hay una reducción de un 50% de la viabilidad y motilidad de los espermatozoides. La elección del macho para la FIV es una consideración clave en la producción in vitro en búfalos. De hecho, se ha sugerido que solo el 10% de los búfalos son aptos para FIV. Entre los sistemas habituales para la preparación de esperma congelado usados en programas de fecundación in vitro, la utilización del gradiente de Percoll permite aislar hasta un 90% de los espermatozoides móviles, la eliminación de residuos tóxicos de crioconservantes y de los espermatozoides muertos. El método de lavado presenta varias ventajas, es rápido, fácil de realizar, económico y se puede lograr una alta tasa de recuperación. El objetivo de este trabajo fue evaluar la fertilidad in vitro del semen de búfalo criopreservado, seleccionado y capacitado con dos métodos diferentes y el potencial efecto en la producción in vitro de embriones, valorado por medio de la tasa de clivaje y la producción de blastocitos, obtenidos por fertilización heteróloga. El ensayo se llevó a cabo en el laboratorio "PREÑATEC S.R.L", empresa de producción y transferencia de embriones obtenidos por la técnica de fertilización in vitro, ubicado en la ciudad de Corrientes capital. Se trabajó con semen congelado de un reproductor búfalo, perteneciente a la Cabaña de Búfalos Pedro Antonio Silva (h), "Centro Integral de Inseminación Artificial Bupalina (CIIAB)". La obtención de los complejos cúmulos ovocitarios (COCs) se realizó por el método de aspiración folicular. Previo a la fertilización in vitro, se procedió al descongelado y evaluación microscópica del semen. Se tuvieron en cuenta parámetros de viabilidad, motilidad en masa y motilidad individual o vigor, considerando como óptimo aquella muestra con una motilidad superior al 50% y un vigor mínimo de 3. Los métodos de capacitación espermática empleados fueron a través de gradiente de Percoll (45%, 90%) y la técnica de lavado con medio de fertilización in vitro. Las estructuras permanecieron en cultivo durante 8 días, el día 3 de cultivo (D3) se realizó un recambio de medio y evaluación del clivaje. El día 7, previo a la vitrificación, se realizó una clasificación de los embriones y solo se vitrificaron los de calidad excelente, continuando el resto en cultivo por un día más. Los embriones se cargaron en un soporte artesanal (pajuelas de 0,25 cc) y finalmente se colocaron en nitrógeno líquido (-196°C). La tasa de clivaje obtenida en el D3 fue de 66% (n=159), siendo de 59% para el método de Percoll y 70% con el método de lavado, estas diferencias no fueron estadísticamente significativas ($p>0,05$). En total, se produjeron 53 embriones, lo que representa un 22% del total de estructuras (embriones D7 + D8), de estos, 33 se obtuvieron de semen capacitado por medio de lavado (23%) y 20 por gradiente de Percoll (20%). No se observaron diferencias significativas entre métodos de capacitación espermática ($p>0,05$). Del total de embriones, solo los de calidad excelente se vitrificaron el día 7, con una tasa de desarrollo de blastocitos del 14% (n=33), de los cuales, 22 fueron capacitados por medio de lavado (16%) y 11 por gradiente de Percoll (11%). Al evaluar los resultados y realizar el análisis estadístico, no se encontraron diferencias significativas entre ambos métodos de capacitación. Los resultados obtenidos en el presente trabajo demuestran que el semen de búfalo puede ser procesado por ambos métodos de capacitación espermática para la técnica de producción in vitro de embriones. En general, se obtuvieron una buena tasa de clivaje y aceptable tasa de blastocitos. Si bien se utilizó un solo búfalo, esto sienta las bases para la siguiente etapa de comparación de distintos reproductores y correlación con la fertilidad a campo y producción in vitro de embriones, a fin de estandarizar un test de fertilidad seminal del búfalo.