



XXII Comunicaciones Científicas y Tecnológicas

Orden Poster: CA-016 (ID: 412)

Autor: Yuponi, Roberto Gregorio

Título: Obtención de ovocitos in vivo y post mortem en búfalas (*Bubalus bubalis*)

Director:

Palabras clave: ovario, cantidad, calidad

Área de Beca: Cs. Agropecuarias

Tipo Beca: Evc - Cin

Periodo: 01/09/2015 al 31/08/2016

Lugar de trabajo: Facultad De Cs. Veterinarias

Proyecto: (PICT 2013-0346) Aspectos dinámicos y moleculares del desarrollo in vitro de embriones de búfalo (*Bubalus bubalis*)

Resumen:

La fertilización in vitro y producción in vitro de embriones es una biotecnología que permite maximizar la propagación de la genética, disminuir el intervalo generacional y corregir problemas de infertilidad de los rodeos. Para la producción in vitro de embriones, existen fundamentalmente dos fuentes de ovocitos, aquellos obtenidos por aspiración folicular de ovarios de animales faenados (post mortem) y aquellos ovocitos recuperados de animales vivos (in vivo) mediante punción folicular por vía transvaginal (OPU). La disponibilidad de ovocitos sigue siendo una de las mayores limitantes para ésta técnica, los ovocitos de ovarios recuperados en frigoríficos representan una importante fuente de gametos que pueden ser utilizados en los ensayos donde la genética de la hembra no es de importancia. Sin embargo, cuando el objetivo es el mejoramiento genético, es necesaria la recuperación de ovocitos del animal vivo. El objetivo del trabajo fue evaluar la cantidad y calidad de ovocitos obtenidos por punción folicular de animales vivos (in vivo) y animales faenados (post mortem), mediante su evaluación morfológica. La obtención de ovocitos in vivo se realizó por OPU de búfalas vivas, se utilizaron búfalas de fertilidad comprobada y buen estado corporal ($n=13$). Los animales donantes fueron inicialmente sometidos a una ablación del folículo dominante para estimular una nueva onda de crecimiento folicular, luego de lo cual fueron sometidas a OPU en un esquema semanal por un mes. Para la recuperación post mortem de ovocitos se obtuvieron ovarios de búfalas enviadas a faena ($n=5$), una vez en el laboratorio, los ovarios fueron lavados en PBS. Los complejos cúmulus ovocito (COCs) fueron recuperados por punción folicular. Se punzaron los folículos visibles en la superficie del ovario, mayores a 2 mm de diámetro, con ayuda de una jeringa de 10 ml unida a una aguja de 21G. En ambos casos el aislamiento de los COCs se realizó con una lupa estereoscópica a 40 X. Los ovocitos recuperados fueron clasificados de acuerdo a la cantidad de capas de cumulus presentes en: grado I, tres o más capas de cumulus y citoplasma parejo; grado II, una a dos capas de cumulus presente; grado III, corona radiata únicamente, citoplasma granulado o irregular; grado IV, ovocito completamente desnudo; expandido, ovocito rodeado por cúmulus expandido; y degenerado, ovocito con citoplasma picnótico. La correlación entre las variables cuantitativas se calculó por análisis de la varianza con un valor de alfa del 5%, con el procedimiento de correlación de Duncan. Al evaluar la cantidad de estructuras totales se observaron diferencias estadísticamente significativas, se obtuvieron 10 y 2,33 COCs por ovario para el método post mortem e in vivo respectivamente ($p<0,05$). Al realizar la evaluación de la calidad de los COCs hallados por ovario pudo observarse que los grado I (1 vs 0,04) y grado II (0,80 vs 0,17) fue significativamente mayor para el método de obtención post mortem que in vivo ($p<0,05$), en cambio los grado III (0,60 vs 1,09) y grado IV (0,30 vs 0,43) fueron similares ($p>0,05$). La cantidad de COCs de menor calidad, expandidos (3,20 vs 0,48) y degenerados (2,90 vs 0,12), fue significativamente mayor para el método de obtención post mortem que in vivo ($p<0,05$). Varios estudios han demostrado que la calidad del ovocito es el factor de mayor peso en la tasa de producción de embriones por fertilización in vitro, particularmente la proporción de embriones que alcanzan el estadio de blastocisto y la susceptibilidad de los mismos a la criopreservación. Otros han comprobado que la competencia en el desarrollo embrionario in vitro es menor para los ovocitos recuperados de animales faenados, comparado con los obtenidos de animales vivos, y se ha sugerido que la maduración citoplasmática podría tener un rol fundamental en el desarrollo embrionario posterior. En conclusión con la técnica de recuperación de COCs de ovarios de animales post mortem la cantidad y calidad de estructuras obtenidas fue mayor, pero debido al menor progreso genético se recomienda para futuros trabajos evaluar la posibilidad de mejorar la técnica de obtención de COCs de ovarios de animales vivos.