



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Medicina Veterinaria
Escuela Académica Profesional de Medicina Veterinaria

**Evaluación de tres tiempos de co-cultivo de gametos,
sobre la tasa de división y desarrollo embrionario in
vitro de ovocitos bovinos**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Médico Veterinario

AUTOR

Alejandro CÓRDOVA GÓMEZ

ASESOR

Wilfredo HUANCA LÓPEZ

Lima, Perú

2013

RESUMEN

En Fecundación *In Vitro* (FIV), el tiempo de co-incubación de los gametos, entre otros factores; influye en el desarrollo y viabilidad de los embriones obtenidos. El objetivo de este estudio fue evaluar tres tiempos de co-incubación entre gametos bovinos durante la fecundación *In vitro*, para luego determinar las tasas de división y desarrollo embrionario al día 7 post fecundación. Ovocitos bovinos fueron obtenidos mediante aspiración folicular, fueron madurados *In vitro* y luego se inseminaron con una concentración de $1,5 \times 10^6$ esp/ml en medio TL-STOCK a 38,5° C, 5% de CO₂ y atmósfera saturada de humedad. Luego de 6 horas (T1=245), 12 horas (T2=278) y 18 horas (T3=287) de co-incubación, los Complejos Cumulus-Ovocito (CCOs) con los espermatozoides adheridos al cumulus, se retiraron de las gotas de fecundación y fueron lavados y transferidos a gotas con medio de incubación. Los presuntos cigotos se cultivaron *In vitro*, en un primer cultivo en medio KSOM y posteriormente en medio de cultivo SOF hasta el término de la evaluación del desarrollo embrionario. La evaluación del efecto tiempos de co-cultivo sobre las tasa de división y de blastocistos se realizó mediante la prueba paramétrica de análisis de varianza

A las 72 horas de fecundación se obtuvieron tasas de división, ≥ 2 células de: 38.3%, 63.3% y 73.4% para los grupos T1, T2 y T3 respectivamente. Al comparar las tasas de división, sólo se encontró diferencia estadística significativa entre los grupos T1 y T2 y T1 y T3, ($p < 0.05$). Al día 7 de cultivo, la tasa de desarrollo de blastocistos fue de 24.4%; 21.6% y 24.6% para los grupos T1, T2 y T3 respectivamente, no encontrándose diferencia estadística significativa entre los grupos.

Los resultados obtenidos en el presente estudio muestran que no existe diferencia estadística entre los tres grupos evaluados respecto al desarrollo embrionario al estadio de blastocisto, lo cual sugiere que al co-incubar gametos bovinos por 6, 12 ó 18 horas se pueden obtener embriones de las mismas características que los obtenidos con los protocolos tradicionales.

Palabras claves: Gametos, Fecundación *In vitro*, Desarrollo embrionario, Co-cultivo, Bovino.

SUMMARY

At *In vitro* Fertilization (IVF), the time of co-incubation of gametes, among other factors, influences the development and viability of embryos. The objective of this study was to evaluate three co-incubation times between bovine gametes during fertilization *In vitro*, and then determine the division cups and embryo development at day 7 post fertilization. Bovine oocytes were obtained by follicular aspiration were matured *In vitro* and then inseminated with a concentration of 1.5×10^6 sperm / ml in medium STOCK TL to 38.5 ° C, 5% CO₂ and humidified atmosphere. After 6 hours (T1 = 245), 12 hours (T2 = 278) and 18 hours (T3 = 287) of co-incubation, the Cumulus-oocyte complexes (COCs) with spermatozoa attached to cumulus, withdrew from the drops fertilization and were washed and transferred to drops with incubation medium. The presumptive zygotes were cultured *in vitro*, initially KSOM culture medium and subsequently in SOF culture medium until the end of the assessment of embryonic development. The evaluation of the effect of co-culture time on cleavage rate and blastocyst test was performed using parametric analysis of variance.

At 72 hours of fertilization cleavage rates were obtained, ≥ 2 cells: 38.3%, 63.3% and 73.4% for groups T1, T2 and T3 respectively. By comparing the rates of division, only statistically significant difference was found between groups T1 and T2 and T1 and T3 ($p < 0.05$). At day 7 of culture, the blastocyst development rate was 24.4%, 21.6% and 24.6% for groups T1, T2 and T3, respectively, no significant statistical difference was found between groups.

The results obtained in this study show no statistical difference between the three groups evaluated for embryonic development to blastocyst stage, suggesting that bovine gametes co-incubated for 6, 12 or 18 hours can obtain embryos of the same characteristics as those obtained with conventional protocols.

Key words: Gamete, *In vitro* Fertilization, Embryo development, Co-culture, Bovine.

Pág.

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Tasa de división a las 72 horas y tasa de Blastocisto al día 7, por efecto de diferentes tiempos de co-cultivo post fecundación *In vitro*.....53