

## PRODUCCIÓN DE EMBRIONES DE CERDOS *IN VITRO*

Olivo, I.<sup>1\*</sup>; Cajero, J.<sup>2</sup>. y Conejo, M.<sup>3</sup>.

<sup>1\*</sup> Tecnico Academico "B" de USIRA-FMVZ-UMSNH [ozib7@hotmail.com](mailto:ozib7@hotmail.com).

<sup>2</sup> Profesor Investigador (IIAF-UMSNH)

<sup>3</sup> Profesor Investigador (FMVZ-UMSNH)

### INTRODUCCIÓN

La fecundación *in vitro* (FIV) es una técnica que permite el estudio de los procesos que conducen a la penetración del ovocito por un espermatozoide y la formación de un cigoto viable. La FIV y desarrollo embrionario, puede ser utilizada en la valoración del eyaculado de un semental, del mismo modo, la producción de embriones mediante esta técnica puede ser de gran ayuda a los programas de mejora y conservación del material genético (Córdova, 1999, Oviedo, 2004). Por ello el objetivo del presente trabajo fue la producción de ovocitos maduros de cerdo, fertilización y desarrollo embrionario *in vitro*.

### MATERIAL Y METODO

Los ovocitos se colectaron de ovarios de hembras prepubes procedentes del rastro municipal de Morelia, Mich., los cuales fueron transportados al laboratorio y lavados en PBS estéril a 38°C. los folículos de 3-6mm de diámetro fueron puncionados y el líquido folicular obtenido junto con los ovocitos fueron lavados y madurados en medio TCM-199 suplementado con las hormonas FSH y LH por 44h en cajas de 4 pozos transcurrido el tiempo se retiraron las células de la granulosa con hialuronidaza al 1%, los ovocitos desnudos fueron transferidos a gotas de medio de lavado donde fueron seleccionados los ovocitos maduros los cuales fueron transferidos a medio de fertilización *in vitro*, los cuales fueron incubados. El semen que se utilizó para la FIV se obtuvo de dos sementales adultos procedentes de la Posta Zootécnica (FMVZ-UMSNH). cada verraco se colectó a intervalo de 4 días y a cada eyaculado se le realizó un espermiograma en fresco y lavado para la FIV

Los ovocitos madurados *in vitro*, fueron cocultivados con espermatozoides frescos (2000 espermatozoides/ovocito) en microgotas de 100µl de medio tris buffer médium (TBM) suplementado con cafeína y suero fetal bovino (BSA) por 6h. Transcurrido el tiempo los ovocitos fertilizados y lavados, fueron cultivados en medio de desarrollo embrionario NCSU-23 durante 48h.

Posteriormente se evaluó la formación del estadio de células posfecundación, utilizando un microscopio estereoscópico.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se realizaron 10 ensayos de maduración con aproximadamente 1500 ovocitos, de los cuales el 82±8% completaron la maduración. Los resultados obtenidos en el presente trabajo coinciden con los descritos por Duculomb *et al.* (2005) quienes obtuvieron 82% de maduración *in vitro* de ovocitos de cerda.

Para la fertilización *in vitro* se realizaron 3 ensayos con un total de 26 ovocitos maduros de los cuales el 77.4±4.3% presentaron la formación de pronúcleos, de este porcentaje el 20% presentó polispermia. Para la producción de los embriones se realizaron 3 ensayos con un total de 80 ovocitos, de los cuales el 69±6.4% alcanzaron diferentes etapas del desarrollo embrionario (ver cuadro 1). En la producción de embriones los resultados obtenidos son superiores a los reportados por Duculomb *et al.* (2005) quienes obtuvieron 34% en diferentes etapas de desarrollo embrionario.

### CONCLUSIÓN

La estandarización de las técnicas de fertilización *in vitro* y desarrollo embrionario del presente trabajo son de utilidad para el desarrollo de diferentes biotecnologías reproductivas, además de la manipulación del genoma de los animales de granja.

### BIBLIOGRAFIA

**Duculomb, R.Y.C., Romo, G.S., Balcázar, S.J.A., Rodarte, C.L.F., Casas, H.E., Fragoso, G.G.C., Sciutto, C.E.L y Betancourt, R.M. 2005.** Téc. Pec. Méx: 43 (3): 425-432.

**Oviedo, J.B. 2003.** Tesis maestría. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

**Córdova, I. A, 1999.** Tesis doctoral. Universidad Complutense de Madrid.