

## Producción de blastocistos partenogénéticos a partir de ovocitos aspirados de ovarios ovinos con o sin cuerpo lúteo

Cuéllar, C.J.<sup>1</sup>; Hincapié, J.J.<sup>1@</sup>; Ross, P.J.<sup>2</sup> y Castillo, R.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Ciencia y Producción Agropecuaria. Escuela Agrícola Panamericana Zamorano. Tegucigalpa Honduras.

<sup>2</sup> Animal Reproduction Department. UC Davis. California. United States.

### PALABRAS CLAVE

Activación partenogénica.  
Biotecnología.  
Embriones.  
Fertilización in vitro.

### ADDITIONAL KEYWORDS

Parthenogenic activation.  
Biotechnology.  
Embryos.  
In vitro fertilization.

### INFORMACIÓN

Cronología del artículo.  
Recibido/Received: 08.10.2020  
Aceptado/Accepted: 10.10.2023  
On-line: 15.10.2023  
Correspondencia a los autores/Contact e-mail:  
[jhincapie@zamorano.edu](mailto:jhincapie@zamorano.edu)

### RESUMEN

El experimento se llevó a cabo entre enero y marzo del año 2020 en el laboratorio de reproducción animal en la Universidad de California, Davis USA. El objetivo fue evaluar el efecto de la presencia del cuerpo lúteo en los ovocitos aspirados de ovarios de hembras ovinas en diferentes estados del ciclo reproductivo, sobre el desarrollo partenogénico de embriones in vitro para determinar el número promedio de ovocitos recolectados por ovario, porcentaje de viabilidad de los ovocitos, porcentajes de clivaje y de blastocistos in vitro y la eficiencia del procedimiento. Se utilizaron 158 ovarios provenientes de ovejas de una planta de sacrificio; se obtuvo valores medios de 3.33, 1.24 y 1.52 ovocitos/ovario y los porcentajes de viabilidad fueron de 100%, 45.87% y 56.82% para los ovocitos provenientes de ovarios con cuerpo lúteo, ovarios sin cuerpo lúteo y ovarios de hembras gestantes respectivamente ( $P \leq 0.05$ ); no hubo diferencias ( $P > 0.05$ ) en los porcentajes de clivaje con valores de 72.5%, 72.0% y 56.0% y en los blastocistos partenogénicos con valores de 37.93%, 44.44% y 42.86% para los ovocitos provenientes de ovarios con cuerpo lúteo, ovarios sin cuerpo lúteo y ovarios de hembras gestantes respectivamente, sin embargo, la mayor producción de blastocistos/ovario ( $P \leq 0.05$ ) fue de los ovarios con cuerpo lúteo. Se concluye que el efecto de la presencia del cuerpo lúteo en los ovocitos aspirados de ovarios de hembras ovinas mejora el desarrollo partenogénico de embriones in vitro al evaluar la producción de blastocistos por ovario.

### Production of parthenogenetic blastocysts from oocytes aspirated of ovine ovaries with or without corpus luteum

### SUMMARY

The experiment was carried out between January and March 2020 in the animal reproduction laboratory at the University of California, Davis USA. The objective was to evaluate the effect of the presence of the corpus luteum in the aspirated oocytes of ovine female ovaries at different stages of the reproductive cycle, on the parthenogenetic development of embryos in vitro to determine the average number of oocytes collected per ovary, percentage of viability of oocytes, percentages of cleavage and blastocysts in vitro and the efficiency of the procedure. 158 ovaries from sheep from a slaughterhouse were used; mean values of 3.33, 1.24 and 1.52 oocytes / ovary were obtained and the percentages of viability were 100%, 45.87%, and 56.82% for oocytes from ovaries with corpus luteum, ovaries without corpus luteum and ovaries from pregnant females respectively ( $P \leq 0.05$ ); there were no differences ( $P > 0.05$ ) in the cleavage percentages with values of 72.5%, 72.0%, and 56.0% and in the parthenogenetic blastocysts with values of 37.93%, 44.44%, and 42.86% for oocytes from ovaries with corpus luteum, ovaries without corpus luteum and ovaries of pregnant females respectively, however, the highest production of blastocysts / ovary ( $P \leq 0.05$ ) was from ovaries with corpus luteum. It is concluded that the effect of the presence of the corpus luteum in the aspirated oocytes of ovine female ovaries improves the parthenogenetic development of embryos in vitro when evaluating the production of blastocysts per ovary.

### INTRODUCCIÓN

La partenogénesis representa la producción de un embrión a partir de un gameto femenino sin la inclusión de un gameto masculino. La activación partenogénica busca reanudar la meiosis ya que el ovocito sin activación está detenido en la metafase de la segunda división meiótica (Vallejo *et al.* 2003, p.178). Es decir,

se busca activar todos los procesos enzimáticos y reanudar la meiosis y activar el proceso de desarrollo en ausencia de fecundación.

El estudio de la partenogénesis permite dar un enfoque solo en la calidad de ovocitos, caso contrario con la fertilización *in vitro* en la cual el macho tiene efecto en los resultados. Otros autores sugieren que los ovocitos con baja competencia en el desarrollo tienen un meta-

bolismo energético más lento que retrasa el desarrollo posterior. Los ovocitos prepuberales alcanzaron la etapa de Metafase I una hora más tarde que los adultos y este retraso crece a medida que avanza la primera división meiótica (Leoni *et al.* 2015, p.16).

Los embriones partenogenéticos solo se usan para investigación, no para hacer transferencia a receptoras, tal es el caso en mamíferos, los embriones partenogenéticos no se pueden desarrollar debido a la falta de la impronta genética del lado paterno, por ello, mueren en ovejas a los 35-40 días de gestación. Es decir, que está basado en el desarrollo de células sexuales femeninas que no han sido fecundadas. Los embriones que se formaron en este estudio no cuentan con los genes de las células masculinas y no tienen capacidad de desarrollo a término, por ello se usan solo para investigaciones científicas.

Algunas investigaciones han evaluado los efectos de  $P_4$  sobre el desarrollo de ovocitos y embriones, con resultados contradictorios. Sin embargo, se ha demostrado que diferentes concentraciones de  $P_4$  no podrían mejorar las tasas de maduración *in vitro* de vesículas germinales (GV) en complejos de ovocitos-cumulus (COC) y ovocitos desnudos de células del cumulus (CDO). Los medios de cultivo complementados con  $P_4$  mejoraron significativamente el desarrollo de embriones de ratón. Además, un diseño experimental *in vivo* ha demostrado una alta supervivencia de los blastocistos y las tasas de implantación en ratones tratados con  $P_4$  (Salehnia y Zavareh 2013, p.74).

La progesterona parece afectar el crecimiento folicular, la maduración de los ovocitos y el desarrollo embrionario. Según varias investigaciones, los niveles de progesterona y su relación con los niveles de estrógenos están fuertemente asociados con la calidad y madurez de los ovocitos (Salehnia y Zavareh 2013, p.76). El grado de efecto de parte de la hormona será en base a la concentración y a la especie tratada.

Con base en lo anterior, se desarrolló la presente investigación, la cual tuvo como objetivos específicos: Determinar el número promedio de ovocitos recolectados por ovario, el porcentaje de viabilidad de los ovocitos y determinar los porcentajes de clivaje y de blastocistos *in vitro* y así como evaluar la eficiencia del procedimiento.

## MATERIAL Y MÉTODOS/MATERIAL AND METHODS

La investigación tuvo lugar entre enero y julio 2020 en el laboratorio de reproducción Meyer Hall en el departamento de Animal Science, en la Universidad de California, Davis en Estados Unidos. Se encuentra a 14msnm, y presenta una precipitación anual de 105mm y un rango de temperatura entre 4°C a 27°C.

### COLECCIÓN DE OVARIOS

Los ovarios se colectaron de la planta de sacrificio y se transportaron al laboratorio en solución salina al 0.9% con 1% de penicilina/estreptomicina con concentración de 10,000UI de penicilina y 10mg/L estreptomicina a 30-35°C. Una vez en el laboratorio, los ovarios se lavaron rápidamente con agua a 37°C para retirar

el excedente de sangre y luego se colocaron en una nueva solución salina en baño maría para estabilizar la temperatura a 37°C.

### ASPIRACIÓN FOLICULAR

La aspiración se realizó utilizando el medio de recuperación y un sistema de vacío. El líquido folicular se depositó en tubos Falcon™ de 15mL y se colocaron en el termo bloque hasta la búsqueda en el microscopio. Para el medio de recuperación se utilizó: 20mL de TCM-199 + 200µl de Penicilina/Estreptomicina + 56.5µl de Heparina (Stock) + 200µl de suero fetal bovino + 0.0119g de HEPES.

### RECUPERACIÓN Y CLASIFICACIÓN DE LOS OVOCITOS

Todos los ovocitos recuperados se lavaron tres veces y fueron clasificados en cuatro categorías: A, B, C, D. Solo los ovocitos de grado A y B se colocaron en maduración. Los criterios utilizados fueron: Grado A: muchas y compactas capas de células del *cumulus oophorus*, citoplasma homogéneo; Grado B: parcialmente rodeado de células del *cumulus oophorus*, citoplasma homogéneo; Grado C: ovocitos desnudos; Grado D: ovocitos rodeados de fibrina.

### MADURACIÓN *IN VITRO*

Se prepararon placas de 35mm con cuatro gotas de 70µl de medio de maduración cubierto con 3.5mL de aceite mineral, depositando entre 25 a 35 ovocitos por gota dando una proporción entre 2 a 3µl/ovocito. Para la preparación del medio de maduración se utilizó: 4.5mL de TCM-199 + 50µl de Penicilina/estreptomicina + 500µl de suero de oveja en celo + 25µl de FSH ovina (stock 50ng/mL) + 25µl de LH ovina (stock 3µg/mL) + 5µl de Cisteamina.

Preparación previa de las soluciones stock:

**Ovino (NHPP):** (0.01mg/mL - 200X) AFP7558C. Se disolvió 0.1mg de FSH en 10mL de PBS pre-filtrado (pH 7) con BSA-FAF al 1% p/v (A6003). Alícuotas de 70µl y almacenado a -80°C.

**LH (Sioux):** (3mg/mL) Sioux 725. Se agregó 3mg de LH a 1mL de PBS pre-filtrado (pH 7) con BSA-FAF al 1% w/v (A6003). Se realizaron alícuotas de 15µl y se almacenó a -20°C.

**Cisteamina** (10mM; 100X): Sigma M6500. Se pesó 5.7mg de cisteamina en 5mL de TCM-199. Se preparó todo en hielo. Se enfriaron los tubos previamente. Se prepararon alícuotas de 70µl en condiciones estériles y se almacenó a -20°C. Las placas se equilibraron por dos horas en la incubadora antes de colocar los ovocitos. Condiciones de maduración *in vitro*: 24 horas en la incubadora, 5% de CO<sub>2</sub>, 38.5°C y saturación de humedad relativa.

### ACTIVACIÓN PARTENOGENÉTICA

Se prepararon los platos de activación tres horas antes de usar. Se colocó una alícuota de Di-Metil-Amino-Purina (DMAP) sobre la llama hasta que se disolvió. Se prepararon platos de 100mm que contengan gotas de 50µL/25 cigotos usando medio de activación o cultivo. Estas son gotas de cultivo. Se cubrieron las gotas con

aceite mineral y se colocó el plato en la incubadora con 5% de CO<sub>2</sub> y 38.5°C.

Se colocaron tres gotas de medio de transporte de ovocitos (SOF-HEPES) y se lavaron los ovocitos a través de cada gota tres veces. Se transfirieron los cigotos a 0.6mL de hialuronidasa en un tubo de microcentrífuga y se bajó el volumen de hialuronidasa a 100µl verificando que no se hayan aspirado COC (complejo de *cumulus*-ovocitos).

Posteriormente, se colocó el tubo de microcentrífuga en el vortex por 5 minutos y retirándolo cada minuto con el objetivo de retirar las células del *cumulus oophorus*. Se agregó 1mL de SOF-HEPES al tubo, se mezcló y se retiró los ovocitos, revisando que en el tubo no quedaran ovocitos. Se buscaron la cantidad de ovocitos para activar y se colocó una gota de SOF-HEPES en la cual se lavaron tres veces.

Luego se utilizó un tubo de 1.5mL, se agregó 1µl de ionomicina y 1mL de SOF-HEPES y se mezclaron. Se colocaron los ovocitos en 1 gota de la mezcla de ionomicina/SOF-HEPES y se dejaron reposar durante cuatro minutos en oscuridad total. Pasado este tiempo se lavaron los ovocitos tres veces en gotas de SOF-HEPES y una vez en BO-IVC + DMAP, luego, se separaron en grupos en platos de BO-IVC + DMAP. Se procedió a incubarlos en un plato con medio KSOM + DMAP durante 4 horas. Después del tiempo transcurrido se lavaron los ovocitos nuevamente en 3 gotas de SOF-HEPES y una vez en BO-IVC + BSA.

#### CULTIVO DE EMBRIONES *IN VITRO*

Se preparó el medio de cultivo tres horas antes de usar. Se prepararon platos Petri de 60mm que contenían gotas de 50µl de medio de cultivo/25 cigotos, se cubrieron con aceite mineral y después se colocaron los platos en la incubadora con 5% de CO<sub>2</sub>, 38.5°C y saturación de humedad relativa. Se transfirieron los cigotos a una placa de cultivo que contenía 50µl de medio de cultivo cubierto de aceite mineral. Se colocó el plato en una cámara y se reemplazó el gas dentro de la cámara con una mezcla de aire de 5% de O<sub>2</sub>, 5% de CO<sub>2</sub> y 90% de N<sub>2</sub> durante dos minutos y luego se colocaron nuevamente en la incubadora a 5% CO<sub>2</sub> y 38.5°C. En el día tres del cultivo, se suplementó con 2.5µl de Suero Fetal Bovino/gota de cultivo (Gemini Bio 100-525). En el día 7 se evaluó la formación de blastocistos.

#### TRATAMIENTOS

Se desarrollaron tres tratamientos: 1): ovocitos provenientes de ovarios de ovejas en estado de anestro (sin cuerpo lúteo); 2): ovocitos provenientes de ovarios de ovejas con cuerpo lúteo presente; 3): ovocitos provenientes de ovarios de ovejas gestantes.

#### VARIABLES ANALIZADAS

Promedio de ovocitos recolectados por ovario, porcentaje de viabilidad de los ovocitos según número de capas de células del *cumulus oophorus* y la homogeneidad del citoplasma, porcentaje de clivaje a las 72 horas, porcentaje de blastocistos partenogénéticos y eficiencia general.

#### DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA) con tres tratamientos y dos repeticiones por tratamien-

to. Los valores porcentuales fueron analizados utilizando la prueba de distribución de frecuencias Chi-cuadrado ( $\chi^2$ ); para los valores numéricos de ovocitos extraídos y número de ovocitos/ovario se utilizó un Análisis de Varianza (ANDEVA) aplicando el Modelo General Lineal (GLM por sus siglas en inglés) y la prueba de rangos múltiples de Duncan, con un valor de significancia exigido de  $P \leq 0.05$ , utilizando el programa "Statistical Analysis Systems" (SAS® 2013 versión 9.4).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### OVOCITOS RECOLECTADOS POR OVARIO

Las diferencias fueron significativas ( $P=0.0001$ ;  $CV=30.83$ ) entre los tratamientos, siendo el tratamiento de los ovarios aspirados con cuerpo lúteo el que obtuvo el mayor número de ovocitos aspirados/ovario con valor de 3.33 seguido de los ovarios de hembras preñadas con 1.52 y el menor para los ovarios sin cuerpo lúteo con 1.24. Estos resultados se atribuyen a que al presentar el ovario el cuerpo lúteo tiene como principal acción la producción de la hormona progesterona, la cual tiene efecto en el desarrollo folicular ya que se encarga de inhibir al folículo dominante, por lo tanto, al generar a la regresión del folículo dominante se crea una nueva onda de desarrollo folicular (Hafez y Hafez 2013, p.68). Las ovejas presentan una o dos ovulaciones por ciclo y esta variación depende de la genética, edad, estación y nutrición. En este estudio se tomaron ovarios provenientes de un matadero donde se desconoce la edad de las ovejas, pero se conoce que fueron llevadas al matadero en época de días cortos durante el mes de enero, donde presentan mayor ciclicidad y prolificidad.

### PORCENTAJE DE VIABILIDAD

Hubo diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) entre los tratamientos (**Tabla I**) siendo el tratamiento de los ovarios aspirados con cuerpo lúteo el que obtuvo el mayor número de ovocitos viables superando a los tratamientos de ovarios sin cuerpo lúteo y ovarios de hembras preñadas en 54.13% y 43.2% de viabilidad respectivamente. La viabilidad de los ovocitos está relacionada con la capacidad que tienen los ovocitos de generar un embrión, los ovarios con cuerpo lúteo presentan un alto porcentaje de viabilidad. A mayor progesterona circulante, las concentraciones promueven el recambio folicular y con la nueva ola de desarrollo folicular ovárico, resulta en un ovocito viable que se libera (Menchaca *et al.* 2018, p.322). Según estudios realizados por Menchaca *et al.* (2018, p.322) mencionan que al afectar la competencia de los ovocitos con progesterona estos generaron embriones viables. Lo que se atribuye a que los resultados de la presente investigación al comparar los tratamientos, los ovarios con cuerpo lúteo hayan dado resultados mayores que los otros tratamientos.

En la presente investigación se tomaron ovocitos con muchas y compactas capas de células del *cumulus oophorus* y citoplasma homogéneo que es un indicador de ovocitos de alta calidad, es decir, que serán viables para la producción de embriones *in vitro* y según un estudio realizado por Córdova *et al.* (2008, p.78) los folículos mayores de 3mm tienen más capas de *cumulus*

**Tabla I.** Valores medios de ovocitos viables, clivaje, y tasa de blastocistos de ovejas, de acuerdo con la condición fisiológica de ovarios con cuerpo lúteo, sin cuerpo lúteo y preñadas (Mean values of viable oocytes, cleavage, and rate of blastocysts of sheep, according to the physiological condition of ovaries with corpus luteum, without corpus luteum and pregnant).

Tratamiento	Ovocitos viables (%)	Ovocitos clivaje (%)	Blastocistos (%)
Con cuerpo lúteo	40 (100%) <sup>a</sup>	29 (72.5%)	11 (37.93%)
Sin cuerpo lúteo	50 (45.87%) <sup>b</sup>	36 (72.0%)	16 (44.44%)
Preñadas	50 (56.82%) <sup>b</sup>	28 (56.0%)	12 (42.86%)
Probabilidad	<0.0001	0.1499	0.8634
Coefficiente de Variación	12.3718	14.0610	20.3519

ab Valores medios en columnas con distinta letra, difieren estadísticamente entre sí (P ≤ 0.05)

lo que genera una mejor maduración *in vitro*, siendo un aspecto importante para tener en cuenta para seleccionar ovocitos al final de su fase de crecimiento. Esto se atribuye a que los ovocitos tendrán nutrientes y energía para poder desarrollarse mejor en comparación con otros que sean grado C y B, ya que estos ovocitos se descartan por no poseer suficientes capas de *cumulus oophorus* siendo no aptos para su uso en producción de embriones.

Según Lonergan (1994, p.1595) la calidad del ovocito está basada en diferentes aspectos como el estado fisiológico y reproductivo de la donante, el tamaño folicular y la amplitud e integridad de las células del *cumulus*. En este estudio se conoce la amplitud e integridad de las células del *cumulus* y estas jugaron un papel importante para la maduración de los ovocitos ya que brindan energía y nutrientes al ovocito, en este estudio se seleccionaron ovocitos con capas de *cumulus* de alta calidad a lo que se atribuye que los resultados hayan brindado un porcentaje mayor al 50%.

La morfología que presentan los ovocitos aspirados de los ovarios permite la posibilidad de predecir su capacidad de reiniciar la meiosis (Chávez 2017, p.21). Al analizar los tres tratamientos, se observa que los ovocitos provenientes de los ovarios con cuerpo lúteo sobresalieron ya que al momento de seleccionarlos y clasificarlos todos fueron viables, estos resultados se atribuyen a la actividad cíclica que presentaban *in vivo* estas ovejas, ya que se encontraban en época de monta la cual se caracteriza por días cortos resultando en mayor ciclicidad.

#### PORCENTAJE DE CLIVAJE

Las diferencias encontradas no fueron significativas (P>0.05) entre los tratamientos (Tabla I), superando todos los tratamientos el 50% de clivaje. Estos resultados son buenos debido a que en todos los tratamientos presentaron clivaje mayor al 50% lo que puede significar mejores resultados para la formación de un blastocisto viable.

El clivaje de ovocitos es importante ya que significa que al estarse dividiendo las células se puede llegar a la creación de blastocisto (Hafez y Hafez 2013, p.111). En este estudio se buscó analizar la producción de blastocistos por activación partenogenética que van ligados al clivaje de los ovocitos. Al analizar los resultados se determinó que los ovocitos independientes del tratamiento presentaron un clivaje superior al 50% pero no se obtuvo un efecto que diferencie si un tratamiento es

significativo en comparación con los otros, por lo que se infiere que la selección y clasificación de los ovocitos juega un papel importante en la competencia de los ovocitos y con ello en la obtención de tasas de clivaje aceptables. A pesar de que el tratamiento de ovocitos provenientes de ovarios con cuerpo lúteo presentó la mayor viabilidad, este efecto no se vio reflejado ni se mantuvo en el clivaje.

#### PORCENTAJE DE BLASTOCISTOS PARTENOGENÉTICOS

No hubo diferencias significativas (P>0.05) entre los tratamientos (Tabla I) superando en general todos los tratamientos el 35% de producción de blastocistos partenogenéticos. Según estudios realizados por Menchaca *et al.* (2018, p.325) se han establecido las tendencias de producción de blastocistos, siendo el 50% de los ovocitos los que llegan a generar blastocistos. Al comparar con el presente estudio, se obtuvieron resultados inferiores (27.85%) a los obtenidos por este autor.

Al cultivar *in vivo* los ovocitos fertilizados rinden entre 60 y 70% de blastocistos, pero cuando son usados los blastocistos madurados *in vitro* la tasa de desarrollo es de 50% según un estudio realizado por Córdova *et al.* (2008, p.11). Si el objetivo es generar la mayor cantidad de blastocistos, es necesario seleccionar ovocitos competentes para la maduración *in vitro*, fertilización y desarrollo, cumpliendo con esta condición solo los ovocitos grado A y B, sin embargo, esto varía mucho dependiendo de la genética y del ambiente.

Los embriones producidos por activación partenogenética se utilizan con el fin de generar información de alta calidad para mejorar las técnicas de producción *in vitro* en pequeños rumiantes como son las ovejas ya que se debe tomar en cuenta que se evalúa solo la capacidad reproductiva de las hembras ovinas y al momento de realizar la selección los ovocitos se deben tener primordial cuidado ya que eso afectará todo el proceso.

Según estudios de Zhu *et al.* (2018, p.15) demostraron que los avances en la producción *in vitro* en ovejas por nuevas técnicas han mejorado todo el proceso para obtener ovocitos de calidad. Al no haber estudios realizados en ovinos se decide comparar con el estudio realizado por Lonergan (2011, p.1599) quien al evaluar la P<sub>4</sub> en bovinos menciona que esta hormona puede afectar indirectamente a la calidad del ovocito a través de sus efectos sobre la pulsatilidad de la LH y el de-

sarrollo de un folículo dominante persistente. Al comparar estos resultados con la presente investigación no hay diferencias significativas con el cuerpo lúteo que genera progesterona para afectar la producción de blastocistos.

#### EFICIENCIA GENERAL

Las diferencias encontradas no fueron significativas ( $P > 0.05$ ) para las relaciones entre el número de blastocistos partenogenéticos producidos de acuerdo con los ovocitos viables recolectados, número de blastocistos partenogenéticos producidos con los ovocitos en clivaje, sin embargo, para la relación blastocistos partenogenéticos producidos por ovario sí hubo diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ), siendo el tratamiento

con cuerpo lúteo el que obtuvo los mayores valores superando a los tratamientos sin cuerpo lúteo y preñadas en 73.48% y 70.98% respectivamente (Tabla II), lo que demuestra que la etapa fisiológica en la que se encuentra el ovario al momento de ser aspirado, si influye en la cantidad de ovocitos aspirados, la viabilidad y el número de blastocistos partenogenéticos obtenidos.

Por lo tanto, con base en los resultados obtenidos, lo más recomendable sería aspirar solo ovarios que presenten cuerpo lúteo, sin embargo, la dificultad radicaría en poder adquirir exclusivamente esta condición, ya que en las plantas de faenado las ovejas ingresan indistintamente en cualquier etapa del ciclo estral, sin embargo, otra alternativa sería realizar procesos

**Tabla II. Valores medios para la eficiencia general del procedimiento en relación con blastocistos: ovocitos viables; blastocistos: ovocitos en clivaje y blastocistos: ovario en ovocitos de ovarios de ovejas de acuerdo con la condición fisiológica de ovarios con cuerpo lúteo, sin cuerpo lúteo y preñadas (Mean values for overall procedure efficiency in relation to blastocysts: viable oocytes; Blastocysts: Oocytes in cleavage and blastocysts: Ovary in oocytes of ovaries of sheep according to the physiological condition of ovaries with corpus luteum, without corpus luteum and pregnant).**

Tratamiento	Blastocistos: ovocitos viables (%)	Blastocistos: ovocitos en clivaje (%)	Blastocistos: ovario (%)
Con cuerpo lúteo	11:40 (27.50%)	11:29 (37.93%)	11.12 (91.66%) <sup>a</sup>
Sin cuerpo lúteo	16:50 (32.0%)	16:36 (44.44%)	16.88 (18.18%) <sup>b</sup>
Preñadas	12:50 (24.0%)	12:28 (42.86%)	12.58 (20.68%) <sup>b</sup>
Probabilidad	0.6704	0.8634	<0.0001
Coefficiente de variación	14.4086	8.1216	17.5997

<sup>ab</sup> Valores medios en columnas con distinta letra, difieren estadísticamente entre sí ( $P \leq 0.05$ )

de sincronización de celos previos al sacrificio o a la aspiración folicular guiada por laparoscopia, logrando así que un grupo de ovejas puedan tener cuerpo lúteo como estructura dominante en sus ovarios al momento de la aspiración.

La calidad del ovocito es uno de los factores que más afectan el rendimiento y la producción de blastocistos (Rizos et al. 2002). La calidad del ovocito está influenciada por muchos factores (raza, edad, prolificidad de las hembras), sin embargo, uno de los principales es la clasificación correcta de los ovocitos, ya que al utilizar únicamente los de clase A y B, y descartando todos los de clase C y D, se puede esperar un mejor desarrollo y competencia de los ovocitos en el proceso de maduración y fertilización in vitro, lo que significaría un mayor porcentaje de blastocistos.

#### CONCLUSIÓN

Los ovarios con presencia de cuerpo lúteo presentaron mayor producción de blastocistos partenogenéticos, es decir, que la etapa fisiológica en que se encuentra el ovario al momento de ser aspirado si influye en la cantidad de ovocitos aspirados, la viabilidad y el número blastocistos partenogenéticos obtenidos.

#### AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Laboratorio de Reproducción Meyer Hall en el Departamento de Animal

Science, en la Universidad de California, Davis en Estados Unidos y al Laboratorio de Biotecnología de la Reproducción Animal en la Universidad de Zamorano, Honduras por su apoyo tanto en la parte logística como de financiación de esta investigación.

#### BIBLIOGRAFÍA

- Chávez, J 2017, 'Efecto del suero de oveja súper ovulada sobre la maduración y fertilización in vitro de ovocitos de ovino' Universidad del Altiplano, tomado el 4 de mayo, 2020, [http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/6770/Chavez\\_Zapana\\_Jorge\\_Dick.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/6770/Chavez_Zapana_Jorge_Dick.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Córdova, A, Córdova, M, Córdova, C & Guerra, J 2008, 'Procedimientos para aumentar el potencial reproductivo en ovejas y cabras' Revista Veterinaria, vol.19, no. 1, pp. 67-79, revisado el 20 de mayo de 2020, [http://www.produccion-animal.com.ar/produccion\\_ovina/inseminacion\\_ovinos/20-Cordova-Procedimientos.pdf](http://www.produccion-animal.com.ar/produccion_ovina/inseminacion_ovinos/20-Cordova-Procedimientos.pdf)
- Hafez, B & Hafez, E 2013, *Reproduction in farm animals*. 7th ed. New Delhi, India. Lalit Printer & Binder.
- Leoni, G, Palmerini, G, Satta, V, Succu, S, Pasciu, V, Zinellu, A, Carru, C, Macchiarelli, G, Nottola, S, Naitana, S & Berlinguer, F 2015, 'Differences in the kinetic of the first meiotic division and in active mitochondrial distribution between prepubertal and adult oocytes mirror differences in their developmental competence in a sheep model'. PLoS ONE, vol. 10, no. 4, pp. 1-25, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4403920/pdf/pone.0124911.pdf>
- Lonegan, P 1994, 'Effect of follicle size on bovine oocyte quality and developmental competence following maturation, fertilization, and culture in vitro'. *Molecular Reproduction Development*, vol. 37, no. 1, pp-48-53.

- Lonergan, P 2011, 'Influence of progesterone on oocyte quality and embryo development in cows', *Theriogenology*, vol. 76, no. 9, pp. 1594-1601.
- Menchaca, A, Cuadro, F, Dos Santos-Neto, P, Bosolasco, D, Barrera, N, de Bru, n V & Crispo, M 2018, 'Oocyte developmental competence it is improved by relatively greater circulating progesterone concentrations during preovulatory follicular growth'. *Animal Reproduction Science*, vol. 195, no. 1, pp. 321-328.
- Rizos, D, Ward, F, Duffy, P, Boland, MP & Lonergan, P 2002, 'Consequences of bovine oocyte maturation, fertilization, or early embryo development in vitro versus in vivo: Implications for blastocyst yield and blastocyst quality', *Molecular Reproduction Development*, vol. 61, no. 2, pp. 234-248.
- SAS® (Statistical Analysis Institute Inc). 2013 Statistical Analysis System 9.4 for Windows Standard version users Guide.
- Salehnia, M & Zavareh, S 2013, 'The effects of progesterone on oocyte maturation and embryo development', *International Journal of Veterinary Science and Medicine*, vol. 7, no. 2, pp. 74-81.
- Vallejo, J, Gómez, V & Tarín, JJ 2003, 'Inducción de la partenogénesis en ovocitos de mamíferos'. *Revista Iberoamericana de la Fertilidad*, vol. 20, no. 3, pp. 177-187.
- Zhu, J, Moawad, AR, Wang, CY, Li, HF, Ren, JY & Dai, YF 2018, 'Advances in in vitro production of sheep embryos. International', *Journal of Veterinary Science and Medicine*, vol. 6, no. 1, pp. 15-26.