

Fecundación interespecífica de ovocitos porcinos con espermatozoides bovinos como método de evaluación espermática

Gardón J C*, Matás C**, Coy P**, Gadea J**

* Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Lomas de Zamora. Argentina

** Dep. Biología Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad de Murcia. España

INTRODUCCIÓN

El test de penetración in vitro de ovocitos de hamster libres de zona pelúcida ha sido utilizado para evaluar la capacidad de penetración de los espermatozoides de diversas especies (Yanagimachi. Gamete Res 10, 187-232, 1984). Para los espermatozoides de las especies de interés zootécnico, como la bovina, la utilización de ovocitos de la especie porcina podría ser más adecuado, por la facilidad de obtención de los mismos, los buenos resultados que se obtienen en los procesos de maduración in vitro y por estar más próximo filogenéticamente. El objetivo de este trabajo fue la evaluación y puesta a punto de la técnica de penetración de ovocitos porcinos madurados in vitro y libres de zona pelúcida, utilizando espermatozoides de la especie bovina.

MATERIAL Y MÉTODOS

Ovocitos porcinos recolectados de ovarios provenientes de matadero fueron puestos a madurar in vitro durante 44 horas en medio NCSU-37. Finalizado el periodo de maduración, los ovocitos fueron sometidos a tratamiento con pronasa al 0,1% durante 2,5 min a temperatura ambiente a efectos de eliminar la zona pelúcida. El semen bovino congelado en condiciones comerciales se descongeló mediante inmersión a 37°C durante 30 seg. y fue diluido en medio TCM-199 suplementado con BSA, cafeína - benzoato de sodio y heparina. Las muestras de semen fueron centrifugadas a 500g durante 10 min y los pellets resuspendidos en el mismo medio sin cafeína ni heparina. La concentración final de espermatozoides fue ajustada a $1,5 \times 10^6$ células/ml. Seguidamente se procedió a preparar las gotas de inseminación de 100 µl. Los ovocitos madurados fueron lavados tres veces en medio de fecundación y colocados en grupos de 20 por microgota de semen y cultivados durante 18 horas a 38,5 °C y 5% de CO₂ en aire. Posteriormente, los ovocitos fueron fijados y teñidos para su evaluación.

RESULTADOS Y CONCLUSIONES

El semen utilizado presentaba unos valores medios de 71% de vitalidad y 58% de acrosomas intactos. Del total de ovocitos utilizados, el 34,52% (29/84) fueron penetrados, de los cuales 79,31% (23/29) fueron monospermicos y 93,10% (27/29) formaron pronúcleo masculino. Se verifica la penetración interespecífica cuando se utilizan ovocitos porcinos libres de zona pelúcida. Esta técnica podría ser utilizada para evaluar la calidad de los espermatozoides bovinos cuando no se dispone de ovocitos homospecíficos, del mismo modo que se ha utilizado extensamente el test de ovocito de hamster libre de zona (Brackett y cols., Gamete Res 5, 217- 227. 1982). Esta técnica podría aplicarse a otras especies, incluida la humana, de modo que los ovocitos porcinos madurados in vitro fueran utilizados como un bio-reactivo más. Dentro del orden de los artiodáctilos, se ha demostrado previamente la capacidad de penetración in vitro de ovocitos bovinos con espermatozoides ovinos (Slavik et al., Mol Reprod Dev 25:345-347,

1990), penetracion in vitro de ovocitos bovinos y ovinos con espermatozoides caprinos (Slavik y Fulka, Theriogenology 38, 721-726,1992) y fecundación entre gametos ovinos y caprinos (Eppelston y Moore, Theriogenology 8, 165, 1977).

Hasta el momento, los espermatozoides bovinos han sido inyectados (ICSI) en ovocitos porcinos madurados in vitro con una exitosa activación (89,42%) y formación del pronúcleo masculino (51,92%) (Kim et al., Mol Reprod Dev 53, 84-91,1999). Por otra parte, Sartini y Berger (Mol. Reprod. Dev. 55, 446-451, 2000) han demostrado la unión de espermatozoides bovinos a la membrana plasmática de ovocitos porcinos libres de zona. Sin embargo, hasta el momento no se ha encontrado ninguna referencia de penetración y formación de pronúcleos cuando se utilizan un sistema FIV con ovocitos de cerdo libres de zona.