TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y BIOLÓGICAS

CARRERA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

"EFECTO DEL TIEMPO DE CONSERVACIÓN DE OVARIOS A 5 °C SOBRE LA CALIDAD DE LOS COMPLEJOS OVOCITOS-CÚMULOS (COC's) EN ALPACAS (*Vicugna Pacos*)"

Tesis para optar el título profesional de:

Médico Veterinario Zootecnista

Presentado por:

Paola Angeolina Lizana Zapata (0000-0003-3712-1415)

Asesor:

Shirley Sujey Evangelista Vargas (0000-0001-6105-1889)

Lima – Perú

2020

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS

UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Lima, 15 de setiembre del 2021.

Los integrantes del Jurado de tesis:

Presidente: **Mg. JORGE LUIS VILELA VELARDE**
Miembro: **Mg. NATHALY ENCISO BENAVIDES**
Miembro: **M.V.Z. ALEJANDRA UGARELLI GALARZA**

Se reúnen para evaluar la tesis titulada:

"EFECTO DEL TIEMPO DE CONSERVACIÓN DE OVARIOS A 5 °C SOBRE LA CALIDAD DE LOS COMPLEJOS OVOCITOS-CÚMULOS (COC's) EN ALPACAS (Vicugna Pacos)"

Presentada por la bachiller:

PAOLA ANGEOLINA LIZANA ZAPATA

Para optar el Título Profesional de **Médico Veterinario y Zootecnista**

Asesorada por: **Mg. SHIRLEY SUJEY EVANGELISTA VARGAS**

Luego de haber evaluado el informe final de tesis y evaluado el desempeño del bachiller de la carrera de **Medicina Veterinaria y Zootecnia** en la sustentación, concluyen de manera unánime ( ) por mayoría simple ( ) calificar a:

Tesista: **PAOLA ANGEOLINA LIZANA ZAPATA**			Nota : Dieciocho
Aprobado ( )	Aprobado - Muy buena (X)	Aprobado - Sobresaliente ( )	Desaprobado ( )

Los miembros del jurado firman en señal de conformidad.

Mg. JORGE LUIS VILELA VELARDE
Presidente

Mg. SHIRLEY SUJEY EVANGELISTA VARGAS
Asesora

ENCISO BENAVIDES NATHALY - Y2096523H
Firmado digitalmente por ENCISO BENAVIDES NATHALY - Y2096523H
Fecha: 2021.09.20 19:54:00 +02'00'

Mg. NATHALY ENCISO BENAVIDES
Miembro 1

M.V.Z. ALEJANDRA UGARELLI GALARZA
Miembro 2

T // (511) 610 6738
informes@cientifica.edu.pe
cientifica.edu.pe

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue cofinanciado por el Consejo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica (CONCYTEC) y la Universidad Científica del Sur, a través del proyecto "Caracterización de marcadores moleculares en genes relacionados a espermatogénesis y fertilidad espermática a partir de transcriptomas de testículo y epidídimo de alpaca", contrato N.º 118-2016-FONDECYT.

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

EFECTO DEL TIEMPO DE CONSERVACIÓN DE OVARIOS A 5 °C SOBRE LA CALIDAD DE LOS COMPLEJOS OVOCITOS-CÚMULOS (COC's) EN ALPACAS (*Vicugna Pacos*)

EFFECT OF THE STORAGE TIME OF OVARIES AT 5 °C ON CUMULUS-OOCYTES COMPLEXES (COC's) IN ALPACAS (*Vicugna pacos*)

Paola Lizana-Zapata[1], Alejandra Ugarelli[1], Shirley Evangelista-Vargas[1,2]

[1]Laboratorio de Biotecnología Reproductiva y Celular, Facultad de Ciencias Veterinarias y Biológicas, Universidad Científica del Sur, Lima, Perú

[2] Email: sevangelista@cientifica.edu.pe

RESUMEN

En alpacas, uno de los mayores obstáculos en la investigación en gametos femeninos es la dificultad de obtener muestras de animales en pie, por ello se recure al empleo de ovarios procedentes de camal; sin embargo, el tiempo que transcurre entre la colección y transporte de ovarios y la posterior obtención de los complejos ovocitos-cúmulos (COC's, por sus siglas en inglés) puede ser muy prolongado, lo cual podría afectar la calidad de estos últimos. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto del tiempo de conservación de ovarios de alpaca sobre la calidad de los COC's en alpacas. Para ello se emplearon 48 ovarios de alpacas sanas de entre 3 a 4 años obtenidos del camal, los cuales fueron mantenidos a 5 °C y distribuidos equitativamente en dos tiempos de almacenamiento (24 y 48 horas respectivamente). Posteriormente mediante aspiración folicular se colectaron los COC's, Se determinó la calidad de estos como excelente (1), buena (2), regular (3) y mala (4) en base a la caracterización morfológica. Lográndose obtener un total de 301 ovocitos (n=125 en 24 horas, n=176 en 48 horas). Los porcentajes de COC's de mejor calidad (excelente y buena) fueron estadísticamente mayores ($p<0.05$) en los ovarios conservados a 24 horas (4% y 10.4%) en comparación a los obtenidos de ovarios conservados por 48 horas (0% y 2.8%). Nuestros resultados

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

sugieren que la calidad de los COC's se ve afectada por el tiempo de conservación y que un tiempo de almacenamiento de 24 horas en comparación a 48 horas permite obtener mayor número de ovocitos de excelente y buena calidad; es decir, aptos para biotecnologías reproductivas en alpacas.

Palabras clave: COC's, tiempo de conservación, alpaca

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

ABSTRACT

In alpacas, one of the most important obstacles in research on female gametes is the difficulty of obtaining samples from standing animals, for this reason, the use of ovaries from slaughterhouses is used; however, the time that elapses between the collection and transport of ovaries and the subsequent obtaining of the oocyte cumulus complexes (OCC's) can be very long, which could affect the quality. The aim of the present work was to evaluate the effect of the conservation time of ovaries on the quality of the OCC's in alpacas. For this, 48 healthy alpaca ovaries between 3 and 4 years obtained from the slaughter were used, which were kept at 5 ° C and distributed equally in two storage times (24 and 48 hours respectively). Subsequently, by follicular aspiration, the OCC's were collected. Their quality was determined as excellent (1), good (2), fair (3) and bad (4) based on the morphological characterization. Achieving a total of 301 oocytes (n = 125 in 24 hours, n = 176 in 48 hours). The percentages of OCC's of better quality (excellent and good) were statistically higher ($p < 0.05$) in ovaries preserved at 24 hours (4% and 10.4%) compared to those obtained from ovaries preserved for 48 hours (0% and 2.8 %). Our results suggest that the quality of the OCC's is affected by the conservation time and that a storage time of 24 hours compared to 48 hours allows obtaining a greater number of oocytes of excellent and good quality; that is to say, suitable for reproductive biotechnologies in alpacas.

Key words: COC's, conservation time, alpaca

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

INTRODUCCIÓN

Los Camélidos Sudamericanos (CSA) cumplen un importante rol productivo en diversos países de la región siendo la alpaca, la especie con mayor densidad e importancia en nuestro país (MINAGRI, 2019). Sin embargo, a pesar de su importancia, aún se manejan tasa de natalidad y mortalidad alrededor del 45% y 30% respectivamente, valores muy altos comparados a cualquier otra especie productiva (MINAGRI, 2015).

Uno de los eslabones fundamentales en el planteamiento y desarrollo de planes de mejoramiento genético es el manejo y recuperación de ovocitos dentro de los complejos cúmulus-ovocitos (COC´s) (García, 2019) para así, poder realizar biotecnologías como la transferencia de embriones (Choque, 2013) y la producción de embriones *in vitro* (Ruiz, 2015). Ratto et al. (2005), clasificaron por primera vez los COC's de CSA en 4 calidades: Las calidades 1 y 2, son los que mantienen 2 a más capas de células de cúmulus, mientras que las calidades 3 y 4, son los que mantienen 1 sola capa o no posee ninguna capa de células del cúmulus; siendo las calidades 1 y 2, las más empleadas para realizar todas las biotecnologías reproductivas mencionadas. Más adelante, Pérez et al. (2017), concluyeron que se pueden obtener COC's, de calidad 1 y 2, de ovarios provenientes de camal, volviéndose así una fuente importante para la recuperación de complejos a bajo costo (Ruiz y Ratto, 2011).

Un detalle importante del manejo de muestras ováricas provenientes de camales es el conocer que existen diversos factores que pueden influir en la calidad de estos, entre los cuales tenemos la temperatura y el tiempo de conservación (Arana, 2019).

En ratones, Tsuchiya et al., (2001) determinaron mejores tasas de fecundación en ovocitos recuperados de ovarios almacenados a 5°C por hasta 7 días en comparación de ovocitos recuperados de ovarios almacenados por 48 horas a 37°C. En cerdos, Raffel et al., (2020) encontraron que la temperatura óptima para el transporte es a 4°C, en comparación a 38°C, por hasta 24 horas. Luu et al., (2014) también trabajaron con cerdo, además de bovino y felino, determinando que el porcino solo

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

tolera hasta 24 horas, mientras que los ovocitos de bovino y felino pueden tolerar hasta 3 días, todos almacenados a 5°C. En el caso de alpacas, la información es mucho más variable. Arriaga et al. (2014), determinaron que almacenamiento entre 22 a 25 °C por 16 horas proporcionaba mejores ovocitos, Rea (2017), movilizó a 35 °C por 6 horas y mientras que Guillen (2018), encontraron buenos resultados con almacenamiento de 2 a 8 horas con rangos de temperatura entre 4 a 9°C.

Como podemos apreciar existe gran variedad de información sobre temperaturas y tiempos de conservación de tejido ovárico de alpaca; sin embargo, hasta el momento no se ha estudiado una combinación de temperatura baja y tiempo prolongado de conservación que permitan trabajar en cualquier parte del país con COC's clasificados como aptos para ser empleados en fecundación *in vitro* o Inyección Espermática Intracitoplasmáticas (ICSI). Es por ello, que el objetivo del estudio fue evaluar el efecto del tiempo de conservación de ovarios a 5 °C sobre la calidad de COC's en alpacas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar de estudio y obtención de la muestra

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Biotecnologías Reproductivas y Celulares de la Universidad Científica del Sur, ubicado en el kilómetro 19 de la panamericana Sur, Lima, Perú.

Se trabajaron con un total de 48 ovarios de alpacas aparentemente sanas, entre 3 a 4 años (determinado en base a la fórmula dentaria), del camal Municipal de Huancavelica, situada a 3680 m.s.n.m. Inmediatamente después de ser colectados, fueron lavados con Cloruro de Sodio (NaCl) al 0.9% y luego se colocaron en bolsas de polietileno debidamente rotuladas que contenían la misma solución. En cada bolsa se especificó la fecha y hora de la colecta. Para el transporte de los ovarios, se empleó una caja de conservación de temperatura portátil conteniendo gel refrigerante, la cual fue

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

sellada con cinta de embalaje. Además, se monitoreó la temperatura de conservación (5°C) empleando un termohigrómetro durante todo el tiempo de refrigeración.

Manejo de la muestra

Este estudio se dividió en 2 fases: conservación de los ovarios a 5°C y la evaluación de COC's a las 24 y 48 horas. Una vez llegadas las muestras al laboratorio, se procedió a separar los ovarios en dos grupos, aquellos que serían procesados a las 24 horas y los otros a 48 horas, para ello se mantuvieron refrigerados y monitoreados durante todo ese tiempo, garantizando así su conservación a 5°C. En este estudio no se incluyeron ovarios atrésicos con quistes foliculares o cuerpos lúteos muy prominentes que impidieran la correcta aspiración de los folículos.

Obtención de los complejos ovocitos

La recuperación de los COC´s se realizó empleando la técnica de aspiración folicular con una jeringa de 5ml conteniendo 0.5 ml de PBS unida a una aguja hipodérmica de 21G x 1½". Se recuperaron los complejos en base a la selección visual de los folículos con medidas entre 3 a 6 mm (Ratto et al., 2005) y realizando absorción mediante la perforación del ovario desde la ubicación contraria al folículo a ser aspirado, con el bisel hacia abajo. Por último, se colocó el contenido de la jeringa en tubos Falcon de 15 ml conteniendo 10 ml de PBS y se dejó reposar por unos 10 minutos hasta observar la sedimentación de los que aspiró.

Clasificación de los COC´s

Para proceder con la clasificación de COC's se aspiró el sedimento de los tubos Falcon empleando una pipeta Pasteur de vidrio de un solo uso y se colocó el sedimento en una placa Petri grande de vidrio para iniciar la búsqueda empleando un estereoscopio con ampliación a 30X y con luz ámbar para una mayor visibilidad de estos. Por último, una vez visualizados y separados se procedió a clasificarlos tomando en cuenta lo descrito por Ratto et al. (2005).

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

Análisis estadístico

Los números totales de ovocitos colectados en los ovarios de alpacas según el tiempo de conservación a 5°C (24 y 48 horas) fueron resumidos utilizando mediana y rangos comparados mediante la prueba U de Mann Whitney. Asimismo, se reportaron los COC's según su calidad (1,2,3,4) mediante porcentajes y se realizó un análisis de Chi Cuadrado de Homogeneidad para comparar la distribución de los COC's de calidad 1 y 2 (considerados óptimos para procedimientos reproductivos) de ovarios colectados a las 48 horas versus ovarios colectados a las 24 horas (nivel referencial), además de una regresión logística. Todos los análisis fueron realizados con un nivel de significancia de 0.05.

RESULTADOS

Se trabajaron un total de 48 ovarios, obteniéndose en promedio de 6.27$\pm$3.27 COC's por ovarios, dando un total de 301 ovocitos, 125 a las 24 horas y 176 a las 48 horas, no habiendo diferencia significativa entre el promedio total de ovocitos recuperados por tiempo de refrigeración ($p=0.078$). De los ovocitos obtenidos con calidad 1 y 2, el mayor porcentaje fue recuperado a las 24 horas; mientras que el mayor porcentaje de ovocitos recuperados con calidad 3 y 4, fue recuperado a las 48 horas ($p < 0.05$), tal como se observa en la tabla 1.

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

Tabla 1. Número de COC's recuperados según calidades a las 24 y 48 horas de almacenamiento a 5°C.

	Grupo 24 horas		Grupo 48 horas		Total	
Calidad	**n**	**Porcentaje**	**n**	**Porcentaje**	**n**	**Porcentaje**
1	5	(4%)[a]	0	(0%)[b]	5	(1.66%)
2	13	(10.40%)[a]	5	(2.84%)[b]	18	(5.98%)
3	33	(26.40%) [a]	65	(36.93%) [b]	98	(32.56%)
4	74	(59.20%) [a]	106	(60.23%) [b]	180	(59.80%)
Total	125	(100.00%)[a]	176	(100.00%)[a]	301	(100.00%)

a,a. letras iguales en la misma fila indican que no existe diferencia estadística significativa (p=0.078)

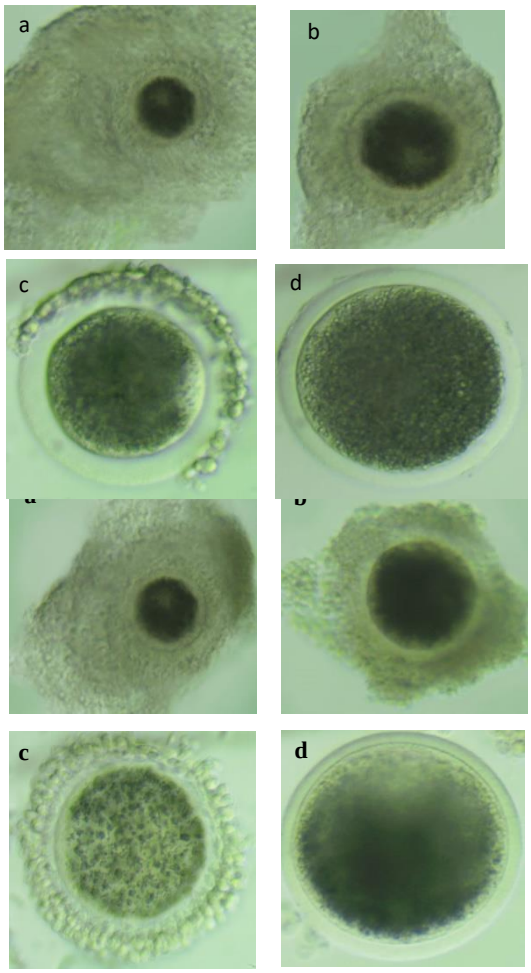
a,b. letras diferentes en la misma fila indican que existen diferencia estadística significativa (p<0.05)

En la Figura 1 y 2 se presentan fotos de COC's que representan a cada una de las calidades obtenidas a las 24 y 48 horas respectivamente. Se seleccionaron como calidad 1 a los COC´s que presentaron las células del cúmulo compactas, transparente y formadas por más de 5 capas; además, el ovocito presentó un citoplasma con granulación fina y homogénea tal como se observa en las figuras 1a y 2a, siendo considerados en la clasificación como excelentes. Los COC´s de calidad 2 fueron los que presentaron de 2 a 4 capas de células del cúmulo, de coloración más oscura; además, el citoplasma del ovocito tenía granulación más gruesa y oscura comparado a los de calidad 1; tal como se observa en la figura 1b y 2b, estos fueron considerados en la clasificación como buenos. Respecto a los COC's de calidad 3, estos presentaron pocas capas de granulosa (cúmulo ≤ 1 capa) o poseían partes desnudas: tal como se observa en las figuras 1c y 2c, siendo considerados en la clasificación como regulares. Mientras que la calidad 4 fueron los que tenían las células del cúmulo expandido o estaban totalmente

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

desnudos, además presentaron el como se puede figuras 1d y 2d, estos como de mala



que los ovocitos citoplasma granular, observar en las fueron clasificados calidad.

Figura 1. Imagen COC's recuperadas a representativa de las 24 horas de almacenamiento a 5°C. (a) Calidad 1 o excelente. (b) Calidad 2 o bueno. (c) Calidad 3 o regular y (d) Calidad 4 o malo.

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

Figura 2. Imagen representativa de COC's recuperadas a las 48 horas de almacenamiento a 5°C. (a) Calidad 1 o excelente. (b) Calidad 2 o bueno. (c) Calidad 3 o regular y (d) Calidad 4 o malo.

El análisis de regresión logística entre las calidades y el tiempo de almacenamiento a 5°C indicó que la chance (odds) de tener COC's aptos para el empleo en biotecnologías reproductivas (calidad 1 y 2) se reduce en 83 % en ovarios almacenados a 48 horas versus los ovarios almacenados a 24 horas (p=0.001), lo cual es estadísticamente significativo.

DISCUSIÓN

En camélidos sudamericanos, aún se están estableciendo los parámetros óptimos para el manejo y conservación de ovarios por tiempo muy prolongado, bajo condiciones que permitan mantener la calidad de los COC's y poder emplearlo en diversas biotecnologías reproductivas.

Respecto a la forma de recuperación de ovocito de ovarios post mortem en alpacas, la literatura menciona dos técnicas: (1) La aspiración con aguja fina y (2) el slicing. Para este estudio empleamos la aspiración con aguja de 21G x ½". encontrando en promedio 6.27±3.27 COC's por ovario. Lo encontrado en este estudio es mayor a lo mencionado por Vasquez et al. (2015), donde obtuvieron 4.50±2.06 COC's con aguja de 20 G x 1". Mientras que el valor es parecido a lo encontrado por Rea. (2017) con un promedio entre 4.90±0.5 y 5.30±0.6 pero empleando una aguja de 19 G x 1.5". Estos estudios podrían indicarnos que el calibre de la aguja y el largo del bisel sería importantísimo al momento de la recuperación de los complejos; además, coincide con lo mencionado por Bols et al. (1997), donde demostraron que la longitud del bisel de la aguja tendría efecto sobre la recuperación de COC's siendo mejor el bisel largo que el corto, además que utilizar agujas desechables realiza la aspiración de ovocitos sin daños hasta en un 90%. Otro dato importante es la cantidad ovocitos recuperado por tipo de

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

técnica, en nuestro estudio recuperamos 6.27±3.27 COC's por ovario, valor bastante cercano al obtenido por Guillen (2018), donde encontraron valores promedio de 5.92±1.48 pero empleando slicing: sin embargo, Rea. (2017) encontraron valores alrededor de 10.70±0.6 ovocitos por ovario, lo que indica que el slicing puede proporcionar mayor cantidad de complejos; no obstante, ésta técnica aumenta las posibilidades de sepsis por todos los residuos que se obtienen al realizar múltiples cortes del órgano (Arav, 2001).

Otro punto importante para tener en cuenta es el medio de preservación sobre la cantidad de ovocitos recuperados. Para nuestro estudio empleamos NaCl al 0.9% para conservar los ovarios a 5°C por 24 y 48 horas, encontrando 6.27±3.27 COC's por ovario en ambas horas, valores parecidos al de Guillen (2018) por 20 horas y Rea. (2017) por 4 horas; así como, Luu et al. (2014) quienes conservaron ovarios de 3 especies: porcino, bovino y felino a 4 °C en NaCl al 0.85% por 5 días, encontrando buena morfología en bovino y felino pero no en porcino, especie más filogenéticamente relacionada a la alpaca, demostrando que el almacenamiento de los ovarios en NaCl solo toleraría hasta las 24 horas. Sin embargo, Tsuchiya et al. (2001), obtuvieron gran cantidad de COC's de buena calidad al conservar los ovarios de ratón en aceite mineral, un medio en el que se podría el almacenamiento por más de 24 horas.

Respecto a la temperatura de transporte y conservación, Tsuchiya et al., (2001), conservaron ovarios de ratonas a 5 °C por 7 días, encontrando COC's con adecuada morfología y calidad; sobre todo las primeras 24 horas. En humanos, Raffel et al. (2020) concluyeron que someter el tejido ovárico a 4 °C hasta por 24 horas permite obtener una mejor viabilidad del folículo y mejor calidad del COC's que manteniéndolo a 38 °C que es la temperatura corporal. Lo mismo que Luu et al., (2014) en bovinos, felinos y porcinos a 4°C. En alpacas, Guillen (2018) trabajó con temperaturas entre 4 y 9 °C por 20 h, sin embargo, no refiere resultados de evaluación de la calidad COC's, sólo refiere porcentajes de fecundación *in vitro*. Nuestro estudio pudo determinar que es posible la conservación de los ovarios a 5 °C por un periodo de 24 y 48 horas, manteniéndose una

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

adecuada calidad de COC's hasta las 24 horas, teniendo en cuenta que las calidades aptas para biotecnologías son las calidades 1 y 2 según Ratto et al. (2005). Por otro lado, existen otros estudios en alpacas que manejan temperaturas cercanas a la temperatura corporal como el de Vasquez et al., (2015) conservaron ovarios a 35 °C en un rango de 5 a 6 horas y obtuvieron un 61% de COC's de calidades 1 y 2 (aptos) mediante la técnica de corte (Slicing); lo cual difiere del presente trabajo, en el que se obtuvo 14.40% de COC's de calidades 1 y 2, mediante la técnica de aspiración folicular y la temperatura de conservación de 5°C; sin embargo, debemos resaltar que el tiempo de conservación fue de 24 horas, lográndose garantizar a esta temperatura la obtención de COC's aptos para biotecnologías después de conservarlos por un periodo mucho más prolongado, lo cual marca una enorme diferencia y ventaja para los trabajos a realizados a distancia.

Con respecto al tiempo de conservación, nuestro estudio es uno de los primeros en los que se busca preservar ovarios de alpaca a 48 horas. La mayoría de los estudios en camélidos sudamericanos son locales, o la investigación se desarrolla en la misma región. Es decir, el tiempo mínimo que transcurre encontrado oscila entre 4 a 8 horas para iniciar los respectivos procedimientos y el tiempo máximo trabajado con ovarios de camélidos fue de 20 horas (Guillen. 2018). Lo ideal es trabajar de manera casi inmediata con los ovocitos; sin embargo, no todos los estudios pueden realizarse rápidamente debido a que muchos laboratorios de biotecnologías están muy distantes, lo que resalta la importancia de este estudio.

Debido a las variaciones de temperatura y la sensibilidad del ovario, es probable que los resultados varíen según la especie; sin embargo, no se pueden excluir de someter a nuevas temperaturas y por ende formar nuevos protocolos para la conservación de los ovarios de alpaca y dentro de ellos a los ovocitos. A partir de los múltiples hallazgos en otras especies conservando los ovarios a bajas temperaturas, en esta investigación se buscó evaluar si existe un efecto del tiempo de conservación de ovarios de alpaca a 5 °C sobre la calidad ovocitaria a las 24 y 48 horas y continuar realizando más estudios de ovarios y posterior aplicación en las biotecnologías reproductivas.

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

CONCLUSIÓN

Se concluye que la calidad de los COC's de alpaca se ve afectada por el tiempo de conservación a 5 °C y nuestros resultados sugieren que un tiempo de almacenamiento de 24 horas en comparación a 48 horas permite obtener mayor número de ovocitos de excelente y buena calidad; es decir, aptos para emplear en biotecnologías.

LITERATURA CITADA

1. **Arana N.** Hormona antimülleriana y su relación con folículos, ovocitos y onda folicular en alpacas Suri. Tesis de Maestría. Lima, Perú: Univ. Nacional Agraria La Molina. 2019**.** 76p.
2. **Arav A.** Transillumination increases oocyte recovery from ovaries collected at slaughter. A new technique report. Theriogenology. 2001; 55(7), 1561–1565. doi: 10.1016/s0093-691X (01)00502-7
3. **Arriaga I, Huanca W, Terreros M, Becerra J, García P, Ampuero A.** Efecto de temperatura y tiempo de almacenamiento de ovarios de alpacas sobre la tasa de maduración y división in vitro de ovocitos. Rev Inv Vet Perú. 2014; 25(4): 477-86. doi: 10.15381/rivep.v25i4.10783
4. **Bols PE,Ysebaert MT, Van Soom A, De Kruif A.** Effects of needle tip bevel and aspiration procedure on the morphology and developmental capacity of bovine compact cumulus oocyte complexes. Theriogenology. 1997; 47(6), 1221–1236. doi: 10.1016/S0093-691X(97)00102-7
5. **Choque D.** Comparación de dos métodos de recuperación de complejos ovocitos-cúmulus (COCs) de alpacas Postmortem. Tesis de médico veterinario y zootecnista. Abancay, Perú: Univ. Nacional Micaela Bastidas de Apurímac. 2013; 65p.
6. **García L.** Biotecnologías reproductivas en camélidos sudamericanos. Tesis de Ingeniera Zootecnista. Lambayeque, Perú: Univ. Nacional Pedro Ruíz Gallo. 2019; 103p.

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

7. **Guillen C.** Efecto de factores de crecimiento sobre la tasa de maduración de ovocitos y desarrollo embrionario in vitro de alpaca. Tesis de médico Veterinario. Ayacucho, Perú: Univ. Nacional de San Cristóbal de Huamanga. 2018; 111p.
8. **Huanca W, Condori R., Chileno M, García P, Cainzo J, Becerra J.** Evaluación de cuatro tiempos de cultivo sobre la tasa de maduración y división posfecundación in vitro de ovocitos de alpaca. Rev In Vet Perú. 2014; 25(4): 468-476. doi: 10.15381/rivep.v25i4.10782
9. **Luu VV, Namula Z, Kim Do LT, Sato Y, Taniguchi M, Karja NWK, Otoi T.** Nuclear status and DNA fragmentation of oocytes from porcine, bovine and feline ovaries stored at 4°C for 5 days. Cryo-Letters.2014; Jan-Feb; 48–53.
10. **MINAGRI. 2015.** Lima: Aspecto productivo de camélidos. [Internet], [01 junio 2021]. Disponible en: https://www.minagri.gob.pe/portal/40-sector-agrario/situacion-de-las-actividades-de-crianza-y-producci/298-camelidos-sudamericanos?start=35
11. **MINAGRI. 2019.** Lima: Potencial productivo y comercial de la alpaca. [Internet], [01 junio 2021]. Disponible en: https://cdn.www.gob.pe/uploads/document/file/423423/potencial_productivo_comercial_de_la_alpaca.pdf
12. **Pérez MG, Zevallos JP, Pérez UH.** Comparación de sistemas de cultivo de embriones de alpacas. Rev Inv Altoandin. 2017; 19(2): 157–164. doi: 10.18271/ria.2017.27r4
13. **Raffel N, Dittrich R, Orlowski P, Tischer H, Söder S, Erber R, Hoffmann I, Beckmann MW, Lotz L.** Is Ovarian Tissue Transport at Supra-zero Temperatures Compared to Body Temperature Optimal for Follicle Survival? In Vivo. 2020 Mar-Apr;34(2):533-541. doi: 10.21873/invivo.11805. PMID: 32111751; PMCID: PMC7157863.
14. **Ratto M., Berland M., Huanca W, Singh J, Adams GP.** In vitro and In Vivo maturation of llama oocytes. Theriogenology. 2005; 63(9), 2445–2457. doi: 10.1016/j.theriogenology.2004.09.053
15. **Rea C.** Evaluación de medios de transporte, colección y métodos de recuperación en la cantidad y calidad ovocitaria de alpacas Huacaya (*Vicugna pacos*) Post-Mortem. Tesis de Médico Veterinario Zootecnista. Abancay, Perú:

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

Univ. Nacional Micaela Bastidas de Apurímac. 2017; 55p.

16. **Ruiz J, Landeo L, Artica M., Ratto M, Correa J.** Activación química de ovocitos de alpaca vitrificados después de la maduración in vitro. Rev Inv Vet Perú. 2011; 22(3): 206–212. ISSN 1609-9117.
17. **Ruiz J, Ratto M.** Capacidad de desarrollo de ovocitos recuperados vía aspiración transvaginal en llamas y alpacas (Vol. 1). Spermova (2011) 1(1): 77-79.
18. **Ruiz J.** Estado de la producción de embriones in vitro en camélidos sudamericanos. Spermova. 2015: 5(2), 264–269. doi: 10.18548/aspe/0002.47
19. **Ruiz J.** Producción y transferencia de embriones in vitro en camélidos sudamericanos: Nuevas oportunidades y desafíos. Spermova. 2018: 8(1), 54–60. doi: 10.18548/aspe/0006.06
20. **Tsuchiya H, Ogonuki N, Kuwana T, Sankai T, Kanayama K.** Short-Term Preservation of Mouse Oocytes at 5°C. Experimental Animals. 2001; 50(5), 441–443. doi: 10.1538/expanim.50.441
21. **Vasquez N, Perez M., Olivera, L, Perez, U.** Efecto de dos métodos de colección sobre la cantidad y calidad ovocitaria de alpacas (*Vicugna pacos*) y llamas (*Llama glama*) POST-MÓRTEM. Puno: Rev Inv Altoandin. 2015. doi: 10.18271/ria.2015.144

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

ANEXOS

RV: Artículo SPERMOVA - Lizana

Inbox

Shirley Sujey Evangelista Varg... 30 Sep
to spermova.pe@gmail.com, me, Martha

Estimados Srs.

La presente es para solicitar la revisión por pares y consiguiente publicación del trabajo: "EFECTO DEL TIEMPO DE CONSERVACIÓN DE OVARIOS A 5 °C SOBRE LA CALIDAD E LOS COMPLEJOS OVOCITOS-CÚMULOS (COC's) EN ALPACAS (*Vicugna Pacos*)", en su prestigiosa revista.

Agradecemos de antemano la confirmación de recepción de la presente, y quedamos atentas a sus gentiles comentarios.

Saludos cordiales

Shirley Sujey Evangelista Vargas
Investigadora Titular
Responsable de Laboratorios y Centros de Investigación
Dirección General de Investigación, Desarrollo e Innovación
C// 992025278
sevangelista@cientifica.edu.pe
cientifica.edu.pe
SEVANGELISTA



Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS

UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

COMITÉ INSTITUCIONAL DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN CON ANIMALES Y BIODIVERSIDAD

UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

Constancia N° 138-CIEI-AB-CIENTÍFICA-2020

El presidente del Comité Institucional de Ética en Investigación con Animales y Biodiversidad de la Universidad Científica del Sur (CIEI-AB-CIENTÍFICA) da constancia que el proyecto de investigación, cuyos datos se registran a continuación, ha sido **aprobado**.

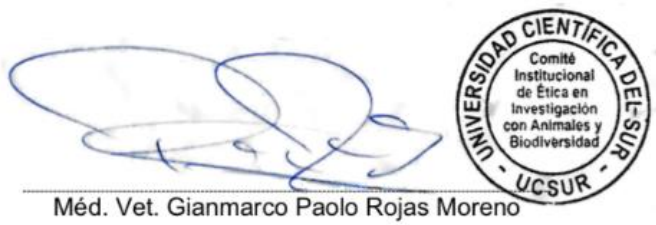
Código de registro:	**070-2020-PRE16**
Título:	**Efecto del tiempo de conservación de ovarios de alpaca a 5 °C y la calidad ovocitaria**
Investigador(a):	**Paola Angeolina Lizana Zapata**

La aprobación del proyecto de investigación implica que el documento presentado a evaluación cumple con los lineamientos de Universidad en materia de investigación y ética, los cuales se sustentan en la normativa internacional vigente. Adicionalmente, en el contexto de la pandemia de enfermedad por COVID-19, le recomendamos cumplir con las normas publicadas por el estado peruano.

En tal sentido, esta aprobación carecerá de valor si es que el proyecto de investigación arriba indicado es modificado de cualquier forma. Toda enmienda, añadido, eliminación o eventualidad (eventos adversos, etc.) posterior a la fecha de aprobación debe ser reportado al CIEI-AB-CIENTÍFICA.

La vigencia de la aprobación de este documento es de dieciocho (18) meses (**hasta el 14 de marzo del 2022**), periodo en el que puede desarrollarse el proyecto. Cualquier trámite para su renovación deberá ser enviado antes del término de la vigencia de este documento, debiendo suspenderse todo desarrollo hasta que la renovación sea aprobada.

Villa El Salvador, 15 de setiembre de 2020



Méd. Vet. Gianmarco Paolo Rojas Moreno
Presidente
Comité Institucional de Ética en Investigación
con Animales y Biodiversidad

T //(511) 610 6738
informes@cientifica.edu.pe
Asesoría al postulante
• Campus Villa 2 - Panamericana Sur km 19
• Calle Cantuarias 398, Miraflores

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS

UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

RESOLUCIÓN DIRECTORAL ACADÉMICA DE CARRERA N° 135-DACMVZ-DAFCVB-U. CIENTÍFICA-2020

Lima, 15 de octubre de 2020

Visto el proyecto de tesis presentada por **PAOLA ANGEOLINA LIZANA ZAPATA** egresada de la Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia, se expide la presente Resolución:

CONSIDERANDO:

- ✓ Que, para optar el título profesional de Médico Veterinario Zootecnista en la Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Científica del Sur, es necesario la realización y sustentación de una tesis.
- ✓ Que, el Reglamento de Tesis pertinente, dispone que el Proyecto de Tesis debe ser presentado a la Carrera de acuerdo al perfil aprobado, el cual debe ser dictaminado por el Comité de Investigación.
- ✓ Que, **PAOLA ANGEOLINA LIZANA ZAPATA**, ha cumplido con presentar su proyecto de tesis titulado **"Efecto del tiempo de conservación de ovarios de alpaca a 5 °C sobre la calidad ovocitaria"**, bajo la Asesoría de la **Mg. SHIRLEY SUJEY EVANGELISTA VARGAS.**
- ✓ Que la Comisión de Grados y Títulos de la Carrera ha emitido una evaluación favorable, habiendo sido aceptado por el Comité de Ética y recomienda la inscripción del proyecto citado.

Estando a lo dispuesto por el Reglamento General de la Universidad Científica del Sur, el Reglamento de Tesis de la Carrera y a las normas vigentes, en uso de las atribuciones conferidas a la Carrera,

SE RESUELVE:

1. **APROBAR** el Proyecto de Tesis para optar el Título Profesional de Médico Veterinario Zootecnista titulado: **"Efecto del tiempo de conservación de ovarios de alpaca a 5 °C sobre la calidad ovocitaria".**
2. Declarar a **PAOLA ANGEOLINA LIZANA ZAPATA** expedita para la realización del Proyecto de Tesis aprobado.
3. Nombrar a la **Mg. SHIRLEY SUJEY EVANGELISTA VARGAS** como Asesora del Proyecto de Tesis que se realizará.
4. Disponer la inscripción del proyecto de tesis aprobado en el Registro de Tesis para optar el Título Profesional de la Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la CIENTÍFICA.

Regístrese, comuníquese y archívese.

FACULTAD CIENCIAS VETERINARIAS Y BIOLOGÍA
DIRECTOR ACADÉMICO DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

M.V.Z. María Lourdes Velarde Marcos
Decana de la Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia

T // (511) 610 6738
informes@cientifica.edu.pe
cientifica.edu.pe

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis