

## Implementación de la tecnología fertilización *in vitro* para la producción de embriones bovinos.

Fuchs, K.<sup>1</sup>; Castillo, M.<sup>1</sup>; Moran, K.<sup>1,2</sup>; Bartolomé, J.<sup>1</sup> y Clazure, M.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Pampa.

<sup>2</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

mclazure@vet.unlpam.edu.ar

### RESUMEN

Las principales ventajas de la producción de embriones bovinos por fertilización *in vitro* (FIV) son la evaluación y el uso eficiente de espermatozoides y ovocitos, la prolongación de la vida reproductiva de animales genéticamente valiosos, la determinación y selección del sexo de embriones y el control de enfermedades reproductivas, entre otras. Si bien la FIV ya está siendo utilizada en distintas regiones de Latinoamérica, es importante señalar que se presentan una serie de dificultades a la hora de implementar la técnica en el laboratorio. De allí surge uno de los objetivos de este proyecto, el cual es estandarizar y validar la técnica de FIV, a partir de ovocitos recolectados de ovarios obtenidos de frigorífico. Para llevar a cabo este proyecto, se obtuvieron ovarios de vacas en edad reproductiva faenadas en frigoríficos de la zona. Los complejos cúmulo-ovocito (COCs) se obtuvieron por punción de folículos de tamaño intermedio (2-8 mm). Posteriormente se realizó la recuperación de los COCs, los cuales fueron visualizados bajo lupa y seleccionados según estándares de calidad para continuar con su maduración por 16 horas en una atmósfera de 6% CO<sub>2</sub> y 100% de humedad a 38,5°C. Se descongelaron pajuelas de semen de 0,5 ml en un baño térmico a 37°C durante 60 segundos y se lavaron los espermatozoides utilizando un medio comercial de activación. Se realizó conteo y dilución para obtener la dosis inseminante de 16 x 10<sup>6</sup> espermatozoides/ml. Las gametas se co-incubaron durante 4 horas en una atmósfera de 6% CO<sub>2</sub> y 100% de humedad a 38,5°C. Posteriormente se realizó la remoción de las células del cúmulo y se evaluó la maduración. Los supuestos cigotos se cultivaron en medio adecuado en estufa gaseada al 6 % de CO<sub>2</sub> en aire humidificado a 38,5°C. El clivaje se evaluó el día 2 y el desarrollo se observó cada 24 horas hasta el día 7. En las experiencias realizadas hasta el momento, se pudo observar alto porcentaje de clivaje pero solo un bajo porcentaje llegó a mórulas día 3/ 4. Se espera que en próximos ensayos se pueda lograr la perpetuidad y la evolución de los mismos. A través de la implementación de estas técnicas en la Facultad de Ciencias Veterinarias, se espera obtener las herramientas para ofrecer a futuro los beneficios productivos que la FIV brinda no solo para la especie bovina sino también para otras especies de interés en la zona, en las cuales aún existen problemas a resolver.

Palabras clave: reproducción, biotecnología, bovinos, embriones.



# Implementation of the in vitro fertilization technology for the production of bovine embryos

## ABSTRACT

The main advantages of the production of bovine embryos by in vitro fertilization (IVF) are the evaluation and efficient use of sperm and oocytes, the prolongation of the reproductive life of genetically valuable animals, the determination and selection of the sex of embryos and the control of reproductive diseases, among others. Although IVF is already being used in different regions of Latin America, it is important to note that a series of difficulties arise when implementing the technique. The objective of this project is to standardize and validate the IVF technique. To carry out this project, ovaries were obtained from cows of reproductive age collected in slaughterhouses near General Pico, La Pampa. Cumulus-oocyte complexes (COCs) were obtained of follicles of intermediate size (2-8 mm). Subsequently, the recovery of the COCs was carried out, which were visualized and selected according to their quality standards to continue their maturation for 16 hours in an atmosphere of 6% CO<sub>2</sub> and 100% humidity at 38.5°C. 0.5 ml cryopreserved semen were thawed at 37°C for 60 seconds and the sperm were washed using the appropriate medium. Counting and dilution were carried out to obtain the desired insemination dose. The gametes were co-incubated for 4 hours in an atmosphere of 6% CO<sub>2</sub> and 100% humidity at 38.5°C. Subsequently, the cumulus cells were removed and maturation was evaluated. The presumptive zygotes were cultured in a suitable medium at 6% CO<sub>2</sub> in humidified air at 38.5°C. Cleavage was assessed on day 2 and development was monitored every 24 hours until day 7. At the moment a high percentage of cleavage could be observed but only a low percentage reached morula on day 3/4. It is hoped that in future trials their perpetuity and evolution can be achieved. Through the implementation of these techniques, it is expected to obtain the tools to offer in the future the productive benefits that IVF provides not only for the bovine species but also for other species of interest in the area, in which there are still problems to be solved.

Keywords: reproduction, biotechnology, cattle, embryos.

