

# Primera obtención de dos preñeces en bovinos por embriones producidos in vitro en el Uruguay

Larocca, C.\*; Kmaid, S.\*; Romano, J.E.\*\*; Calvo, J.\*\*\*; Vigueira, M.\*\*\*; Dochi, O.\*\*\*\*

## RESUMEN

En el otoño de 1993, en el Laboratorio de Transplante de Embriones y Biotécnicas de la Facultad de Veterinaria se efectuó un ensayo sobre producción in vitro de embriones bovinos. De 15 embriones al estadio de blastocito, 13 fueron transferidos por vía no quirúrgica y 2 por vía quirúrgica. A partir de los 31 días de su implante se realiza ultrasonografía por vía rectal y posteriormente palpación rectal. Dos preñeces fueron confirmadas correspondiente una para cada grupo.

Palabras clave: Bovinos, transferencia de embriones, cultivo in vitro, cultivo de embriones, preñez.

## SUMMARY

During fall 1993 at the Laboratorio de Transplante de Embriones y Biotécnicas de la Facultad de Veterinaria an in vitro cattle embryo production trial was done, of 15 blastocyst embryos 13 were transferred by non-surgical method and 2 by surgical method. At day 31 of transfer a rectal ultrasonographic pregnancy diagnosis was done and later rectal palpation, was performed finding 2 pregnancies, each one corresponding at each group.

Key words: cattle, embryo transfer, in vitro culture, embryo culture, pregnancy.

## INTRODUCCION

La selección y mejoramiento genético de los rodeos bovinos se ha basado en gran medida en la inseminación artificial (IA) (2). La transferencia de embriones es otra de las técnicas en reproducción animal que incrementa el número de crías de una hembra (5). Por último, el desarrollo de las tecnologías de la reproducción in vitro, como: maduración de ovocitos, capacitación, fertilización y cultivo de embriones creó nuevas posibilidades para su utilización en bovinos (1). En particular, estas

tecnologías pueden representar la última oportunidad de obtener embriones de vacas de alto valor productivo que debido a patologías del tracto reproductivo así como enfermedades sistémicas terminales impidan producir embriones viables (3).

El objetivo de la presente comunicación es describir la primera obtención de 2 preñeces en bovinos por embriones producidos in vitro en el Uruguay.

## MATERIALES Y METODOS

Los ovarios fueron colectados

de vacas provenientes de un frigorífico local y transportados al laboratorio en solución salina isotónica estéril más antibióticos a 30-35°C dentro de las 3 horas de extraídos. Los folículos de 2-5 mm de diámetro fueron aspirados con aguja 18 G conectada a una jeringa de 5 ml. Los ovocitos utilizados fueron los que contenían cumulus completo y compacto. El líquido de aspiración y lavado fue fosfato buffer salino (PBS) con glucosa y piruvato de Na más 1% de suero de ternero recién nacido (STRN). Los ovocitos se maduraron en medio de cultivo 199 con 1% de STRN

\* Departamento de Reproducción \*\* Departamento de Fisiología

\*\*\* Departamento de Morfología y Desarrollo Facultad de Veterinaria Lasplaces 1550 11600 Montevideo. Uruguay

\*\*\*\* National Livestock Breeding Center Nishi-Shirakawa-Gun. Kukushima-Ken 961, Japan

Financiado por C.S.I.C. U.R.O.U.

durante 22-24 horas, en gotas de 500 microl conteniendo 70 a 100 ovocitos y recubiertos por aceite de parafina estéril en una estufa a 38.5°C con 99% de humedad relativa y 5% de CO<sub>2</sub> en aire.

El semen provino de un eyaculado de un toro de probada fertilidad envasado en pajuelas de 0.5 ml. El semen se descongeló a 37°C durante 20 segundos y se diluyó 2 veces en medio BO modificado y se concentró por centrifugación a 500 g durante 5 minutos cada vez. Se ajustó a una concentración de 12.5 millones de espermatozoides/ml con BO medio con albúmina sérica bovina. Se prepararon gotas de 100 microl de semen a las que se transfirió 20-25 ovocitos y se cultivó durante 5 horas. Luego de la inseminación los ovocitos fueron transferidos al medio de desarrollo Hepes-TCM 199 suplementado con 10% de STRN con antibióticos. El medio fue reemplazado cada 48 horas. Se efectuaron observaciones a las 48 horas de la inseminación y luego cada 24 horas hasta el día 6 a 9 por

intermedio de una lupa estero-microscópica.

Para las pruebas in vivo de 15 embriones al estadio de blastocito 13 fueron transferidos por vía no quirúrgica y 2 fueron transferidos por vía quirúrgica. El diagnóstico de preñez fue realizado por ultrasonografía y palpación rectal luego de los 31 días.

#### RESULTADOS Y DISCUSION

Una recipiente del grupo de transferencia no quirúrgica (7,7%) y una del grupo quirúrgica (50%) se diagnosticaron preñadas a los 31 días y posteriormente confirmadas por palpación rectal a los 90 días de la transferencia. Los embriones obtenidos por fertilización in vitro son hasta el momento menos viables comparados con los obtenidos por superovulación, siendo una de sus causas su menor número de células. En un reciente trabajo con embriones fertilizados in vitro (4) se obtuvieron por transferencia no quirúrgica un 47% de gestaciones a los 35 días que disminuyó al 39% a

los 90 días. Este ensayo conjuntamente con el nuestro demostró la factibilidad de producir preñeces con embriones de fertilización in vitro. Sin embargo, es necesario destacar la necesidad de incrementar nuestra experiencia sobre esta técnica para llegar a maximizar sus resultados.

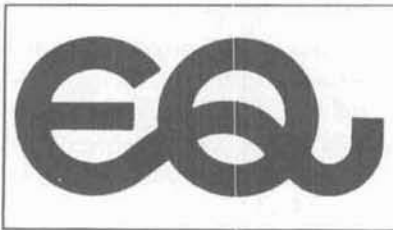
#### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. **Brackett, B.G. and Zuelke, K.A.** Analysis of factors in-volved in the in vitro pro-duction of bovine embryos. *Theriogenology* 39: 43-64, 1993.
2. **Foote, R.H.** The artificial insemination industry. In: *New Technologies in Animal Breeding*. B.J. Brackett, G.E. Seidel Jr. and S.M. Seidel (eds.). New York, Academic Press, 1981, p. 13.
3. **Lazzari, G. and Galli, C.** In vitro embryo production from valuable cows slaughtered for reproductive failure or terminal illness. *Theriogenology* 39: 256, 1993.
4. **Reichenbach, H.D.; Liebrich, J.; Uberg, U. and Brem, G.** Pregnancy rates and births after unilateral or bilateral transfer of bovine embryos produced in vitro. *J. Reprod. Fertil.* 95: 363-370, 1992.
5. **Seidel, G.E. Jr.** Application of embryo transfer and related technologies to cattle. *J. Dairy Sci.* 67: 2786-2792, 1984.

#### AGRADECIMIENTOS

Se agradece: Br. A. Fernández, Dr. A. González, Dres. C. Caorsi; M. Algorta, Dres. A. Carbo; C. Roses, A. Berrosteguieta y De Ibarra. Empresa GENSUR.

Aprobado para su publicación: 28/6 /94



Distribuidora Exclusiva:



Distribuidora:

**QUEIRUGA**

**PRODUCTOS VETERINARIOS**

**ARENAL GRANDE 2682 TEL.: 29 61 59  
MONTEVIDEO - URUGUAY**