



# ¿Por qué y para qué producir embriones bovinos *in vitro*?

Glenda Ríos  
Jorgelina Buschiazzo

Laboratorio Biotecnología de la Reproducción, Departamento de Producción Animal, Instituto para la Innovación Agropecuaria y el Desarrollo Sostenible (INTA Balcarce-CONICET)  
rios.glenda@inta.gob.ar

Nuevo récord mundial de embriones bovinos producidos *in vitro* promueve un giro hacia el uso de la criopreservación asociada al incremento sostenido en la producción de estos embriones.

## ¿Cómo se obtienen los embriones bovinos producidos *in vitro*?

Los embriones producidos *in vitro* (Fig. 1) se obtienen a partir de óvulos (ovocitos) recuperados de ovarios de animales vivos, mediante aspiración de los folículos ováricos guiada por ultrasonido u ovariectomía, o de animales faenados. Los ovocitos o los ovarios son trasladados al laboratorio, y en el caso de los ovarios, los ovocitos son recuperados mediante punción y aspiración folicular. En general, no hay estimulación hormonal de los animales por lo tanto los ovocitos que se recuperan están en un estadio inmaduro y deben ser madurados *in vitro* en el laboratorio para estar luego en condiciones de ser fecundados. Con una dosis de semen de alto valor, se puede generar un gran número de embriones. Los embriones generados, se cultivan *in vitro* en una incubadora y luego de siete días (edad del embrión bovino), se pueden transferir a una vaca receptora o pueden criopreservarse para ser transferidos en el momento apropiado.

## ¿Qué diferencia hay entre los embriones producidos *in vitro* y los embriones derivados *in vivo*?

Las vacas pueden tratarse con hormonas con el fin de estimular los ovarios para que produzcan más can-

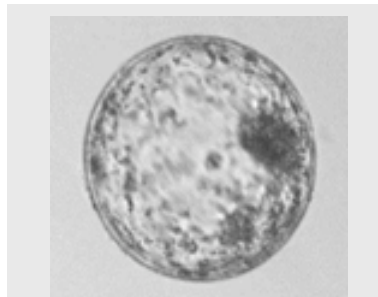


Figura 1 | Embrión bovino producido *in vitro* (Blastocisto día 7)

cantidad de ovocitos. Una vez inseminadas, los embriones desarrollan *in vivo* y se recuperan del útero de la vaca donante para luego transferirse a vacas receptoras o se criopreservan para transferirse en otro momento. En el caso de los embriones producidos *in vitro*, se parte de animales que no han sido tratados hormonalmente. Además de la diferencia en las dosis de semen que se requieren para la inseminación (*in vivo*) o la fecundación (*in vitro*), es mucho más costoso generar un embrión *in vivo*. En el último informe anual de la IETS ("International Embryo Transfer Society") publicado en el año 2021, se destaca que se ha producido un nuevo récord de embriones bovinos producidos *in vitro* (~1.200.000) superando a los embriones derivados *in vivo* (361.728). Esta tendencia se observó por primera vez en el año 2016 y se basa en los datos de países de todo el mundo que voluntariamente informan a la IETS. La producción *in vitro* de embriones bovinos ha aumentado ininterrumpidamente

desde el 2012 a una tasa de crecimiento anual de un 15,8% (+12,1% en el 2020) y se ha duplicado en el 2016 por un incremento de la industria en Norteamérica. Estados Unidos ha superado a un histórico Brasil en el número de embriones producidos *in vitro*, y más recientemente lo ha superado en el número de transferencias embrionarias realizadas. A pesar de la mayor cantidad de embriones producidos *in vitro* en Norteamérica, la mayoría de las transferencias se realizaron en América del Sur. La transferencia de los embriones derivados *in vivo* se realizó en su mayoría a partir de embriones que fueron congelados/descongelados (59,5%). Sin embargo, los embriones producidos *in vitro* son muy sensibles a la congelación y son transferidos en su mayoría en fresco (~60%). La exportación de genética argentina registra un crecimiento exponencial y representa una gran oportunidad para nuestro país. Si bien el mayor volumen en la exportación está centrado en las dosis de semen bovino, en el caso de los embriones, se suman algunos destinos más dado que es un producto más seguro desde el punto de vista sanitario. Argentina se encuentra en el tercer lugar, después de Estados Unidos y Canadá, como país exportador de embriones bovinos para carne, y es el único en Sudamérica que exporta embriones, con Estados Unidos liderando el mercado de la exportación de embriones bovinos de razas lecheras. La mayoría son embriones derivados *in vivo* por la baja criotolerancia de los embriones producidos *in vitro*. A partir de este

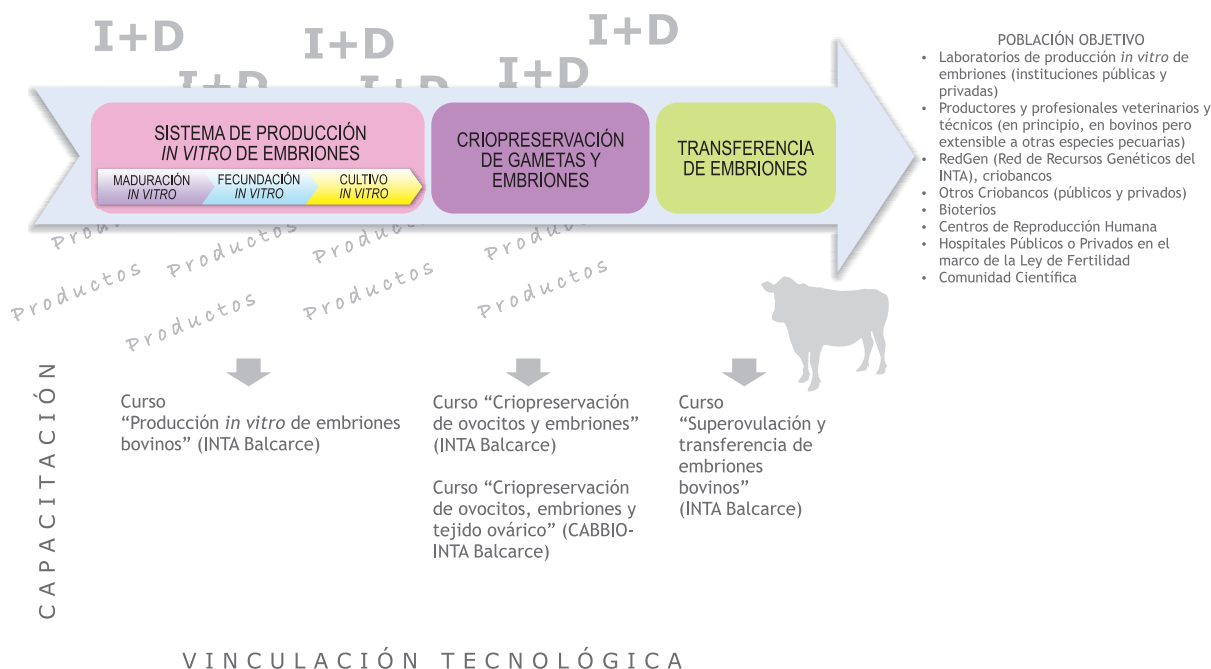


Figura 2 | I+D y su impacto multinivel en la cadena productiva asociada a la generación in vitro de embriones bovinos

*cambio desde las técnicas tradicionales para derivar embriones in vivo hacia la producción in vitro de embriones, ha aumentado la demanda de mejoras en la eficiencia de todo el sistema de producción in vitro.* La criopreservación cobra importancia para los embriones supernumerarios producidos y para el creciente interés en los criobancos de embriones y gametas femeninas. *En este escenario, la producción in vitro de embriones necesariamente deberá complementarse con la implementación de métodos de criopreservación más eficientes.*

### Estrategias en foco: maduración in vitro y criopreservación

La maduración ovocitaria in vitro es la primera etapa en la producción in vitro de embriones bovinos (Fig. 2), y si bien suele interpretarse que es una etapa con una eficiencia satisfactoria, este éxito se refiere a la maduración del ovocito a nivel nuclear. Es decir, la maduración de los ovocitos in vitro es subóptima. Sincronizar la maduración nuclear y la citoplasmática parece ser un punto clave para aumentar la eficiencia en la producción in vitro de embriones. Un sistema de maduración

in vitro más eficiente mejorará la calidad intrínseca del ovocito lo que repercutirá además en su criotolerancia. La vitrificación es la metodología recomendada para la criopreservación de ovocitos y embriones producidos in vitro. Sin embargo, esta metodología tan difundida en el ámbito biomédico aún no se ha instalado en el sector agropecuario por diversos motivos. Entre las ventajas de la vitrificación, podemos mencionar que el costo del equipamiento es bajo (no usa máquinas congeladoras sino dispositivos o soportes plásticos), el procesamiento individual de las muestras es rápido y se previene los daños asociados a la formación de cristales de hielo. En este sentido, la vitrificación se traduce en mejores porcentajes de supervivencia y calidad embrionaria. Como limitantes de la técnica, se destaca que se requiere un entrenamiento específico en el laboratorio (y en el uso correcto del dispositivo de criopreservación), mayor estandarización de los protocolos y la imposibilidad de efectuar transferencia directa de los embriones, que se deben retornar a la temperatura fisiológica antes de ser transferidos. Estos dispositivos para el almacenamiento a bajas temperaturas están diseñados para contener a los ovocitos y embriones en un mínimo volumen y conservarlos por largos períodos de

tiempo a -196°C en tanques con nitrógeno líquido.

La última etapa de la cadena productiva asociada a la generación in vitro de embriones es la transferencia embrionaria a las vacas receptoras (Fig. 2). Así como la inseminación artificial aumenta la capacidad reproductiva de los toros, la transferencia de embriones aumenta la capacidad reproductiva de las hembras. Con la transferencia embrionaria se pretende obtener un número mayor de crías de progenitores de alto valor genético (y por lo tanto de mayor productividad que sus congéneres promedio) que el que se obtendría por apareamiento natural. En Argentina, las actividades relativas a la transferencia de embriones están reglamentadas desde el año 1988 por la Resolución-304-1988-SAGPyA - Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos. Los profesionales que pueden intervenir en las transferencias embrionarias deben ser médicas/os veterinarias/os que se hallen habilitados por el Servicio Nacional de Sanidad Animal (SENASA) y la Dirección Nacional de Fiscalización y Comercialización Ganadera. El crecimiento de la producción in vitro de embriones revela una mayor demanda de transferencistas acreditados.

## Propuestas de I+D en el laboratorio de biotecnología de la reproducción INTA Balcarce

Nuestro equipo de trabajo desarrolla proyectos sobre diversas biotecnologías reproductivas, principalmente en la optimización del sistema de producción *in vitro* de embriones bovinos y en la criopreservación de gametas y embriones de especies pecuarias. La EEA Balcarce es una institución adoptante de estas biotécnicas y referente para su implementación en el ámbito productivo. Los tres ejes principales de la cadena productiva asociada a la generación de embriones *in vitro* se muestran en la figura 2: producción *in vitro* de embriones, criopreservación y transferencia embrionaria. En este contexto, las líneas de investigación que se desarrollan en el laboratorio de Biotecnología de la Reproducción están enfocadas en contribuir a resolver las problemáticas

particulares de los dos primeros ejes, en particular en el proceso de maduración ovocitaria *in vitro* y en la optimización de los protocolos de criopreservación de gametas y embriones. Actualmente, estamos diseñando un dispositivo de vitrificación para embriones bovinos que consideramos tendrá una muy buena adherencia por los profesionales del sector ganadero. La capacitación de profesionales es una labor que realizamos con compromiso y que se refleja en el dictado de nuevos cursos en esta temática (Fig. 2).

Los resultados de estas investigaciones sentarán las bases para la implementación de la transferencia de embriones bovinos producidos *in vitro*, a partir de ovocitos madurados en medios de cultivo complejos, libres de componentes indefinidos en su producción, con un estatus sanitario óptimo para la comercialización, garantizando su calidad. Esta cadena productiva impactará en una mejora

en la competitividad de los productores ganaderos, donde se podría dar no sólo desde el progreso genético y el aumento de la eficiencia reproductiva, sino también por la posibilidad de fomentar el mercado local y el internacional a través de la comercialización de embriones producidos *in vitro* criopreservados. El INTA Balcarce cuenta con reservas ganaderas experimentales donde se desarrollan módulos de experimentación que funcionan como puentes entre la actividad científico-tecnológica y el sector productivo. A su vez, la provincia de Buenos Aires cuenta con un amplio stock ganadero principalmente destinado a la producción de carne, por lo que existe a nivel regional un sector adoptante potencial de estas biotécnicas reproductivas. Consecuentemente, la producción *in vitro* de embriones, en combinación con la transferencia de tecnología al sector ganadero local, generará un impacto positivo en la competitividad de los rodeos regionales.

