

Resumen | Presentación en Modalidad Oral

Área Biotecnología. *Proyecto con resultados*

## Establecimiento de preñeces equinas mediante colapso y vitrificación de blastocistos expandidos (>900 µm) con un sistema novedoso de punción con microaguja en micropocillos

### *Establishment of pregnancies by collapse and vitrification of expanded equine blastocysts (>900 µm) using a novel, microneedle and microwell-assisted puncture*

Clérico, G.<sup>1,2</sup>; Rodríguez, M.B.<sup>2</sup>; Taminelli, G.<sup>1</sup>; Sansiñena, M.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Pontificia Universidad Católica Argentina, UCA

<sup>2</sup>Consejo de Investigaciones Científicas y Técnicas, CONICET

Contacto: msansinena@uca.edu.ar

Palabras clave: equine, vitrification, blastocyst, pregnancy

Keywords: equine, vitrification, blastocyst, pregnancy

La criopreservación del embrión equino es una herramienta importante para el diferimiento de los transplantados embrionarios y la comercialización de genética. Los reportes de preñeces logradas con embriones de diámetros  $\geq 300\mu\text{m}$  son escasos<sup>1,2</sup>. Debido a que el lavado (d 7-9 post-inseminación) resulta generalmente en blastocistos de gran volumen (500-2000 µm), es necesario un colapso total o parcial del blastocisto para evitar cristalización durante el proceso de vitrificación. Este colapso, generalmente realizado mediante equipamiento complejo de micromanipulación, es de difícil implementación en condiciones de campo. El objetivo de éste ensayo preliminar fue desarrollar un sistema de reducción de volumen sencillo y efectivo, que permita el colapso del embrión equino previo a la vitrificación. Para este ensayo, se obtuvieron un total de 6 embriones (1023 ± 601 µm, 7 días post-inseminación) de yeguas de polo con buen estado corporal. Los embriones fueron asignados aleatoriamente: 1) colapso tradicional con microscopio y micromanipulador (tratamiento MM) y

2) colapso con sistema novedoso de inmovilización en micropocillos, punción con microaguja para diabéticos (NovoFine™ Diamond Needle, 32g) seguido de pipeteado en microcapilar (tratamiento MP). Los embriones colapsados fueron vitrificados en solución de 20% DMSO, 20% glicerol y 0.65M trehalosa en Cryoleaf™ (Origio; Denmark), almacenados durante 12 meses a -196 °C; luego calentados y transferidos a receptoras. El colapso promedio del blastocisto fue 81 y 90% del volumen embrionario inicial para el tratamiento MP y MM, respectivamente. Se observó un 50% de re-expansión en ambos tratamientos, indicando viabilidad embrionaria post-vitrificación. Se lograron establecer 2 preñeces viables con latido fetal a los 60, una con tratamiento MM (volumen inicial embrionario=920 µm) y otra con el tratamiento MP (volumen inicial=1050 µm). Estos resultados preliminares indican que este sistema novedoso permite el colapso y establecimiento de preñeces en embriones equinos de gran volumen, representando una alternativa para implementación a condiciones de campo.

#### Referencias bibliográficas

<sup>1</sup>Hochi, S., Fujimoto, T. and Oguri, N., 1995. Large equine blastocysts are damaged by vitrification procedures. *Reproduction, fertility and development*, 7(1), pp.113-117.

<sup>2</sup>Hinrichs, K., 2012. Assisted reproduction techniques in the horse. *Reproduction, Fertility and Development*, 25(1), pp.80-93.