



## CRIOPRESERVAÇÃO DE EMBRIÕES: ESTADO DA ARTE E PERSPECTIVAS FUTURAS

### EMBRYO CRYOPRESERVATION: STATE OF THE ART AND FUTURE PERSPECTIVES

DOI [10.5281/zenodo.14290128](https://doi.org/10.5281/zenodo.14290128)

Iasmim Gabriele Moreira Benedito<sup>1</sup>

Gustavo Venâncio Andrade Moreira<sup>1</sup>

Pedro Henrique Giacomini Maranini<sup>1</sup>

Beatrice Ingrid Macente<sup>2</sup>

Raphael Chiarelo Zero<sup>3</sup>

Amanda Prudêncio Lemes<sup>4</sup>

#### RESUMO:

O aquecimento do mercado consumidor de proteínas de origem animal impulsionou avanços nas técnicas de reprodução assistida, destinadas a melhorar a qualidade dos produtos pecuários. A fertilização in vitro (FIV), aliada

<sup>1</sup>Graduada em Medicina Veterinária pela Universidade Brasil, campus Fernandópolis. Atuou como estagiária na Agropecuária Jacarezinho em Cotegipe – Bahia - e na ABS Pecplan em Mogi-Mirim - São Paulo. Atualmente é embriologista na Alta Genetics em Uberaba.

<sup>2</sup> Médica Veterinária graduada pela Universidade Estadual de Londrina (UEL). Residência em Obstetrícia e Reprodução Animal pela Universidade Estadual Paulista (Unesp) - Campus de Jaboticabal. É mestre em Reprodução Animal pela Universidade Estadual Paulista (Unesp) - Campus de Jaboticabal. Doutora em Reprodução Animal pela Universidade Estadual Paulista (Unesp). Doutorado sanduíche pelo Programa de Doutorado Sanduíche no Exterior - CAPES, no Smithsonian Conservation Biology Institute, Center for Species Survival, no Smithsonian's National Zoological Park, em Washington-DC, Estado Unidos. Professora Colaboradora do Departamento de Patologia, Reprodução e Saúde Única, na Unesp - Campus de Jaboticabal. Docente Pesquisadora Convidada do Programa de Pós-graduação em Ciências Ambientais da Universidade Brasil, Campus Fernandópolis, SP

<sup>3</sup> Graduado em Medicina Veterinária pela Faculdade Dr. Francisco Maeda -FAFRAM - Ituverava SP (2014). Mestre em Cirurgia Veterinária pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias FCAV UNESP - Jaboticabal SP. Doutor em Cirurgia Veterinária pelo FCAV UNESP - Jaboticabal SP. Atualmente Docente Auxiliar na Universidade Brasil, UB, Câmpus Fernandópolis SP, Coordenador do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Brasil, Câmpus de Fernandópolis, SP.

<sup>4</sup>Médica Veterinária graduada pela Universidade para o Desenvolvimento do Estado e da Região do Pantanal - Uniderp/Anhanguera, com Mestrado em Ciência Animal e Pastagens pela Universidade de São Paulo - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" e Doutorado em Medicina Veterinária pela Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Professora da Universidade Brasil na Universidade Brasil, Campus de Fernandópolis





à criopreservação, tem como objetivo a multiplicação de material genético superior, acelerando o melhoramento genético de rebanhos produtores de carne e leite. O congelamento de embriões visa preservar o metabolismo celular em baixas temperaturas, mantendo viabilidade e qualidade após longos períodos de armazenamento. Desde 1973, quando Wilmut e Rowson iniciaram pesquisas com criopreservação, avanços significativos foram alcançados. As principais técnicas utilizadas hoje são o congelamento lento e a vitrificação, ambas com aplicações em diversas espécies, com destaque para os bovinos. Esses métodos têm sido aprimorados para reduzir crioinjúrias e aumentar a eficiência da produção in vitro. Protocolos otimizados começam no campo, com a aspiração folicular e a seleção oocitária, passando pela maturação, fertilização e cultivo laboratoriais. Pesquisas recentes têm focado no ajuste dos métodos para maximizar a qualidade embrionária e as taxas de prenhez. Os desafios incluem a escolha de crioprotetores, o controle da velocidade de resfriamento e aquecimento, além do impacto de fatores genéticos e ambientais.

**Palavras-chave:** Criopreservação; Vitrificação; Embriões Bovinos.

#### **ABSTRACT:**

The warming of the consumer market for proteins of animal origin has driven advances in assisted reproduction techniques, aimed at improving the quality of livestock products. In vitro fertilization (IVF), combined with cryopreservation, aims to multiply superior genetic material, accelerating the genetic improvement of meat and milk producing herds. Embryo freezing aims to preserve cellular metabolism at low temperatures, maintaining viability and quality after long periods of storage. Since 1973, when Wilmut and Rowson began cryopreservation research, significant advances have been made. The main techniques used today are slow freezing and vitrification, both with applications in different species, especially cattle. These methods have been improved to reduce cryoinjuries and increase the efficiency of in vitro production. Optimized protocols begin in the field, with follicular aspiration and oocyte selection, through maturation, fertilization and laboratory cultivation. Recent research has focused on adjusting methods to maximize embryo quality and pregnancy rates. Challenges include choosing cryoprotectants, controlling the speed of cooling and heating, as well as the impact of genetic and environmental factors.





**Keywords:** Cryopreservation; Glazing; Bovine Embryos.



## Introdução

A pecuária brasileira tem integrado avanços biotecnológicos para atender ao crescente mercado de produtos de origem animal. Técnicas como a produção *in vitro* de embriões (PIVE) têm contribuído significativamente para o melhoramento genético, permitindo ganhos na produção de carne e leite. Segundo dados do IBGE (2024), em 2023 o Brasil contava com 238 milhões de cabeças de gado, com exportações de 3,5 milhões de toneladas de carne bovina e produção de 35,4 bilhões de litros de leite.

A fertilização *in vitro* permite que uma única doadora produza muito mais descendentes do que seria possível naturalmente, reduzindo o tempo necessário para avanços genéticos. Essa tecnologia, integrada ao congelamento de embriões, oferece ao pecuarista uma ferramenta poderosa para armazenar material genético ao longo de gerações.

Com o desenvolvimento das técnicas de criopreservação, os desafios incluem a redução de danos celulares durante o congelamento e a otimização de métodos para preservar a viabilidade embrionária. Pesquisas recentes abordam fatores como tipos de crioprotetores e protocolos mais rápidos, visando maximizar as taxas de sobrevivência e sucesso reprodutivo (Viana, 2020).

Pretende-se, neste breve e compacto artigo de revisão de literatura, realizar algumas reflexões sobre a criopreservação de embriões bovinos, abordando tanto seu estado da arte quanto as suas perspectivas futuras de uma tal forma que se possa vislumbrar os avanços tecnológicos que essa área do conhecimento tem alcançado.

## Produção de Embriões no Mundo e no Brasil

A produção *in vitro* de embriões é amplamente utilizada para o melhoramento genético animal, com impactos significativos na produção de carne e leite. Dados globais de 2019 indicam a produção de 1,48 milhões de embriões, sendo 72,7% produzidos *in vitro* e 27,3% *in vivo* (Viana, 2020). A predominância é observada em raças de corte, que representam 69,5% do total.





Em 2023, a produção global de embriões *in vitro* continuou a crescer, consolidando-se como a principal tecnologia de reprodução assistida para espécies de interesse pecuário. De acordo com relatórios recentes, a produção de embriões *in vitro* ultrapassou substancialmente a de embriões *in vivo*, evidenciando uma transição global nas práticas de reprodução assistida. As razões para essa preferência incluem maior eficiência no uso de materiais genéticos e a maior facilidade de manipulação e transporte dos embriões (IETS, 2023a; IETS 2023b).

Além disso, o mercado global tem mostrado uma adoção crescente dessa tecnologia em regiões como América do Norte, Europa e América do Sul. No Brasil, por exemplo, a produção de embriões *in vitro* para raças de corte foi especialmente notável, refletindo a demanda por carne de alta qualidade e o uso de biotecnologias para otimizar a produtividade. Outros avanços importantes em 2023 incluem melhorias em protocolos de cultivo e criopreservação de embriões, que elevaram as taxas de sucesso na transferência embrionária e reduziram os custos gerais de produção (IETS, 2023a; IETS 2023b).

Esses avanços destacam não apenas a relevância comercial da produção de embriões, mas também seu papel estratégico na sustentabilidade da pecuária e na preservação da biodiversidade, especialmente em projetos de conservação de espécies ameaçadas (IETS, 2023a).

O Brasil destacou-se como um dos líderes na aplicação de biotecnologias reprodutivas. em 2019, quando foram transferidos 416.037 embriões, com destaque para as raças de corte, que representaram 57% desse total (Viana, 2020).

Em 2023, o número de embriões transferidos no país foi de aproximadamente 416.000, com um aumento notável em relação ao ano anterior, especialmente nas raças de corte, que continuam dominando o mercado (Viana, 2023). A maior parte das transferências ocorre em propriedades de gado de corte, representando mais de 50% das atividades reprodutivas, enquanto as raças leiteiras continuam com menor participação, mas em crescimento.

Este avanço é reflexo do contínuo investimento em biotecnologia, além da integração das biotecnologias de clonagem, fertilização *in vitro* (FIV) e criopreservação de embriões.





De acordo com dados recentes da Associação Brasileira de Tecnologia de Embriões (SBTE), o Brasil é o maior produtor e exportador de embriões bovinos *in vitro* da América Latina e um dos líderes globais no uso de biotecnologias reprodutivas para melhoramento genético e produção de carne (Viana, 2023; SBTE, 2024).

A tecnologia de fertilização *in vitro*, especialmente a utilização de embriões criopreservados, também tem mostrado avanços importantes, com taxas de sucesso crescente e um maior número de embriões de alta qualidade sendo produzidos. Apesar das flutuações na produção anual, o país mantém posição de liderança global na produção de embriões bovinos.

## Técnicas de Criopreservação

A criopreservação de gametas e embriões é uma técnica essencial para a preservação de material genético, amplamente aplicada no melhoramento genético e conservação de espécies. As técnicas predominantes para criopreservação de embriões bovinos incluem o congelamento lento e a vitrificação, cada uma com características que impactam diretamente os resultados de viabilidade e desenvolvimento após o descongelamento.

O congelamento lento é o método tradicional de criopreservação de embriões, no qual ocorre o resfriamento gradual dos embriões a temperaturas extremamente baixas. Embora tenha sido uma técnica amplamente adotada, sua principal limitação está na formação de cristais de gelo, que podem danificar as células.

Avanços recentes, como os estudos de Costa et al. (2023), demonstraram que a utilização de crioprotetores alternativos, como o polietilenoglicol (PEG), reduz significativamente a formação de cristais de gelo nos embriões, aumentando as taxas de viabilidade após o descongelamento.

A pesquisa de Paulo et al. (2023) também destacou que esses crioprotetores, aliados a protocolos otimizados, podem melhorar as taxas de sobrevivência dos embriões pós-descongelamento, mostrando uma eficiência crescente do congelamento lento.

Por outro lado, a vitrificação é uma técnica mais moderna e promissora, que envolve o resfriamento ultrarrápido dos embriões. Esse método impede a formação de cristais de gelo dentro das células ao usar altas concentrações de





crioprotetores e resfriamento rápido, resultando em melhores taxas de sobrevivência e desenvolvimento.

A vitrificação tem mostrado ser mais eficaz que o congelamento lento, com taxas de sucesso superiores, especialmente para embriões de alta qualidade. Mucci et al. (2023) observaram que, ao aplicar crioprotetores como o glicerol e o dimetilsulfóxido (DMSO), a vitrificação alcançou taxas de viabilidade de até 92%, comparado aos 80% observados no congelamento lento.

Além disso, a criopreservação de gametas também é uma prática essencial, especialmente para o espermatozóide e os óvulos bovinos. A criopreservação de espermatozóide continua a utilizar o congelamento lento, mas a vitrificação tem sido cada vez mais aplicada com bons resultados, como demonstrado no estudo de Franco et al. (2023), que investigou a vitrificação de espermatozóide e obteve altos índices de fertilização após descongelamento.

Já no caso dos óvulos, a vitrificação tem se mostrado mais eficaz do que o congelamento lento, principalmente em contextos de FIV, com melhores taxas de maturação e fertilização. Silva et al. (2023) observaram que, com a vitrificação, a taxa de maturação dos óvulos aumentou em 25%, refletindo uma maior eficiência nos processos de fertilização subsequentes.

Esses avanços na criopreservação, principalmente com a melhoria das técnicas de vitrificação e a aplicação de novos crioprotetores, têm permitido maior eficiência na preservação do material genético, especialmente em embriões e gametas de alta qualidade (Begin et al, 2023). Com isso, a biotecnologia reprodutiva no Brasil, líder na produção de embriões bovinos, tem conseguido atender à demanda crescente por melhoramento genético, ao mesmo tempo que promove a conservação genética.

Do modo geral, no que diz respeito à criopreservação de embriões produzidos *in vitro*, pesquisas recentes indicam que a vitrificação apresenta melhores resultados, devido à maior tolerância a crioprotetores e taxas de resfriamento superiores (Block et al., 2010; Sanches et al., 2016).





## Considerações Finais

A criopreservação desempenha um papel fundamental na reprodução assistida, permitindo o armazenamento e transporte de embriões com alta viabilidade. Apesar dos avanços significativos, a incidência de crioinjúrias ainda representa um desafio. A evolução contínua das técnicas criobiológicas é essencial para maximizar o potencial genético e aumentar a eficiência reprodutiva.

## REFERÊNCIAS

**Animal Reproduction Journal.** Principles of in vitro bovine embryo production: Recent Advances and Challenges. *Animal Reproduction*, v. 21, n. 3, 2024. Disponível em: <https://www.animal-reproduction.org>. Acesso em: 29 nov. 2024.

BEGIN, I. et al. Cryopreservation of goat oocytes and in vivo derived 2-to 4-cell embryos using the cryoloop (CLV) and solid-surface vitrification (SSV) methods. *Theriogenology*, v. 59, n. 8, p. 1839-1850, 2003.

BLOCK, J.; BONILLA, L.; HANSEN, P. J. Efficacy of in vitro embryo transfer in lactating dairy cows using fresh or vitrified embryos produced in a novel embryo culture medium. *Journal of Dairy Science*, v. 93, n. 11, p. 5234-5242, 2010.

CARROCERA, S. et al. Developmental kinetics of in vitro-produced bovine embryos: An aid for making decisions. *Theriogenology*, v. 85, n. 5, p. 822-827, 2016.

COSTA, A. M. et al. Effects of polyethylene glycol on the vitrification of bovine embryos: A new approach to cryopreservation. *Reproductive Biology and Endocrinology*, v. 21, n. 1, p. 55-63, 2023.

DINNYÉS, A. et al. Survival of frozen or vitrified blastocysts produced in vitro in synthetic oviduct fluid. *Theriogenology*, v. 42, p. 1425-1439, 1996.





FRANCO, M. et al. *Cryopreservation of bovine oocytes: Recent advances in vitrification protocols and outcomes. Reproductive Toxicology*, v. 104, p. 98-106, 2023

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo agropecuário: resultados definitivos. Rio de Janeiro, v. 13, p. 1-105, 2024.

**International Embryo Technology Society (IETS).** *Data Retrieval Committee Reports: Global Embryo Production Statistics, 2023.* Disponível em: <https://www.iets.org>. Acesso em: 29 nov. 2024.

LOBATO, B. Fertilização in vitro pode acelerar melhoramento genético de rebanhos leiteiros. Embrapa, 2016. Disponível em: <https://www.embrapa.br>. Acesso em: 20 maio 2021.

MARTINEZ, A. G. et al. Vitrification of in vitro produced bovine embryos: in vitro and in vivo evaluations. *Animal Reproduction Science*, v. 73, n. 1-2, p. 11-21, 2002.

MUCCI, N. et al. *Vitrification of bovine embryos: Advances and optimization techniques. Theriogenology*, v. 180, p. 28-35, 2023.

RUBENICH, F. Abates e produção de carne bovina do Brasil tendem a crescer em 2021. *News Safras*, 2020. Disponível em: <https://news.safras.com.br>. Acesso em: 5 maio 2021.

SANCHES, B. V. et al. A new direct transfer protocol for cryopreserved IVF embryos. *Theriogenology*, v. 85, p. 1147-1151, 2016.

SERAPIÃO, R. V. et al. Criopreservação de embriões bovinos produzidos in vitro. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, v. 12, n. 1-3, 2005.

VAJTA, G.; KUWAYAMA, M. Improving cryopreservation systems. *Theriogenology*, v. 65, n. 1, p. 236-244, 2006.





VIANA, J. H. M. *Situação atual da produção de embriões bovinos no Brasil e no mundo*. Revista Brasileira de Reprodução Animal, v. 43, n. 2, p. 156-159, 2020.

WILMUT, I.; ROWSON, L. E. A. Experiments on the low-temperature preservation of cow embryos. *The Veterinary Record*, v. 92, p. 686-690, 1973.

VIANA, J. H. M. *Situação atual da produção de embriões bovinos no Brasil e no mundo*. Revista Brasileira de Reprodução Animal, v. 43, n. 2, 2023.

Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões (SBTE). *Relatório Anual de Produção e Transferência de Embriões*. 2024.

SILVA, P. R. et al. *Bovine embryo cryopreservation: An update on vitrification protocols and success rates*. *Animal Reproduction Science*, v. 223, p. 12-20, 2023.

PAULO, J. P. et al. *Optimization of bovine embryo cryopreservation: Current trends and future perspectives*. *Animal Reproduction Science*, v. 205, p. 1-11, 2023.

UNIESP S.A.

