

The background of the slide is a microscopic view of several bovine embryos in culture dishes. The embryos are circular and show varying stages of development, with some appearing as dark, dense masses and others as lighter, more diffuse structures. The dishes are arranged in a scattered pattern across the slide.

Produção *in vitro* de embriões bovinos (PIV)

Med. Vet. Liziane Lemos Vianna
Orientador: Marcio Nunes Corrêa
Coorientadora: Lígia M. C. Pegoraro

- **Introdução**
 - Produção mundial e nacional de embriões
 - Limitações da PIV
- **Etapas da PIV**
 - Projeto

PRODUÇÃO DE EMBRIÕES

Embrapa



MUNDO (2007)

823.134

BRASIL (2007)

269.809

**1º LUGAR
(33%)**



**PIV
(85%)**

(Vianna, 2008)

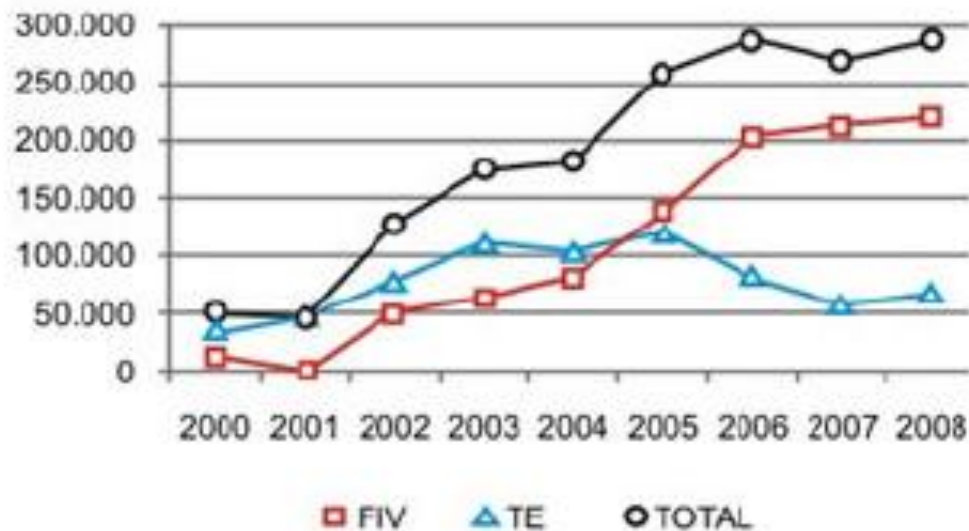
PRODUÇÃO DE EMBRIÕES



BRASIL



Figura 1: Produção de embriões no Brasil, por técnica, no período 2000-2008. (TE: Embriões produzidos *in vivo*, FIV: embriões produzidos *in vitro*).



(Vianna, 2008)

LIMITAÇÕES DA PIV



- Baixa resistência a criopreservação
- Inconsistência dos resultados
- Desvio na proporção sexual
 - Diferença na velocidade de desenvolvimento
 - Condições de cultivo *in vitro*
 - Método de preparação espermática

PONTOS FRACOS DA PIV



Tabela 1 : Proporção sexual em diferentes estágios de desenvolvimento, de acordo com o método de seleção espermática.

Estágio de desenvolvimento	Macho:Fêmea (% macho)	
	Swim-up	Percoll
Blastocisto inicial + Blastocisto	59:54 (52%)	58:78 (43%)
Blastocisto expandido	91:61 (60%)*	65:75 (46%)
Blastocisto. em eclosão + Blastocisto eclodido	56:32 (64%)*	32:26 (55%)
Total	206:147 (58%)	155:179 (46%)

* Apresentam proporção sexual diferente do esperado de 50%

(Rheingantz, 2006)

**Efeito dos gradientes de densidade Percoll e
Optiprep na qualidade espermática,
desenvolvimento embrionário e proporção
sexual de embriões bovinos produzidos *in vitro***



Objetivos

- Melhores taxas de desenvolvimento embrionário
- Maior proporção de embriões do sexo feminino
- Maior resistência a criopreservação

ETAPAS DA PIV

Embrapa



Coleta dos ovócitos



ETAPAS DA PIV

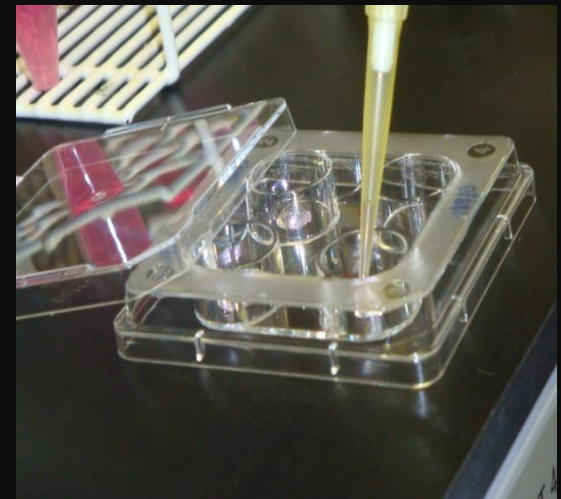
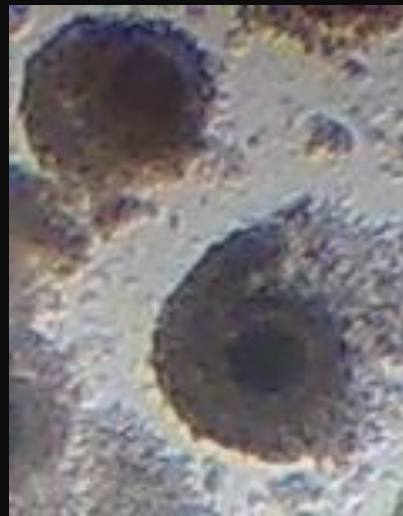


Maturação *in vitro*



ETAPAS DA PIV

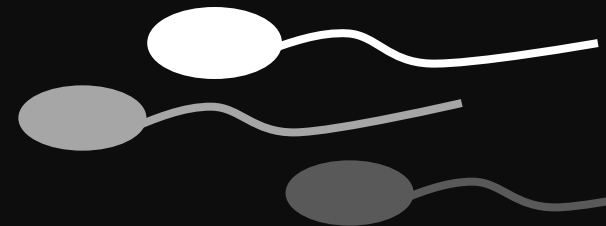
Maturação *in vitro*



Incubados por 18 a 22h

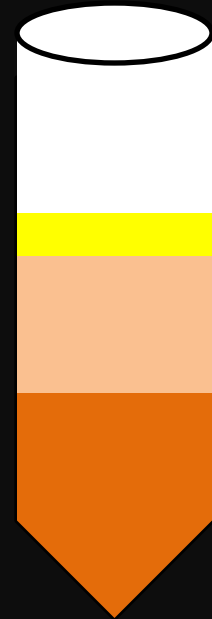
Preparação espermática

- Vários métodos
 - Gradientes de densidade – Percoll
 - Migração ascendente – Swim-up
- Objetivo : separar espermatozoides viáveis



Projeto

- Percoll
 - * Solução de sílica coloidal recoberta com polivinilpirrolidona.
- OptiPrep
 - * Solução de Iodixanol

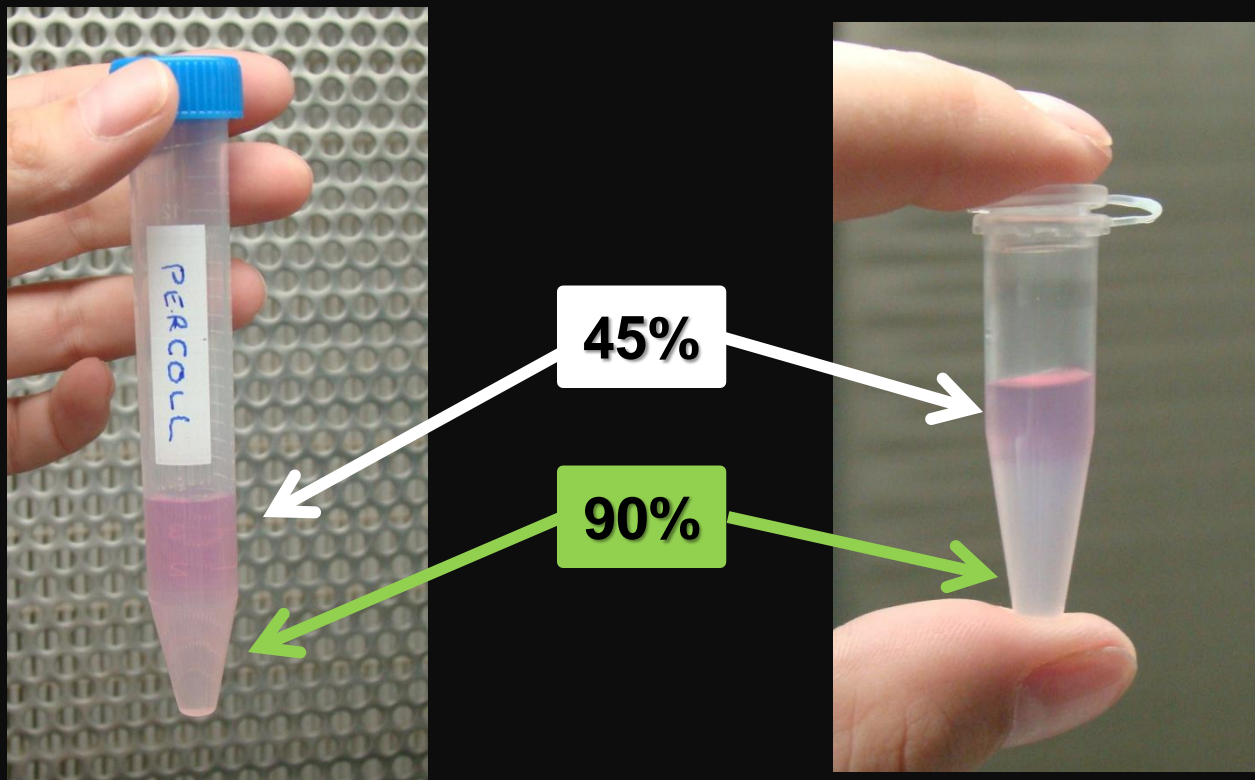


Projeto

Percoll	Volume: 4mL Concentrações: 90 e 45% 1 centrifugação: 20min à 700xg
Minipercoll	Volume: 800 μ l Concentrações: 90 e 45% 1 centrifugação: 5min à 700xg
Minioptiprep	Volume: 1,2ml Concentrações: 30, 28 e 26% 1 centrifugação: 15min à 900xg

ETAPAS DA PIV

Projeto



ETAPAS DA PIV

Fecundação *in vitro* (FIV)



Cultivo *in vitro* (CIV)

- Oito dias
- Dia 2: Clivagem
- Dia 7 e 8: Desenvolvimento embrionário



PARÂMETROS AVALIADOS

Embrapa



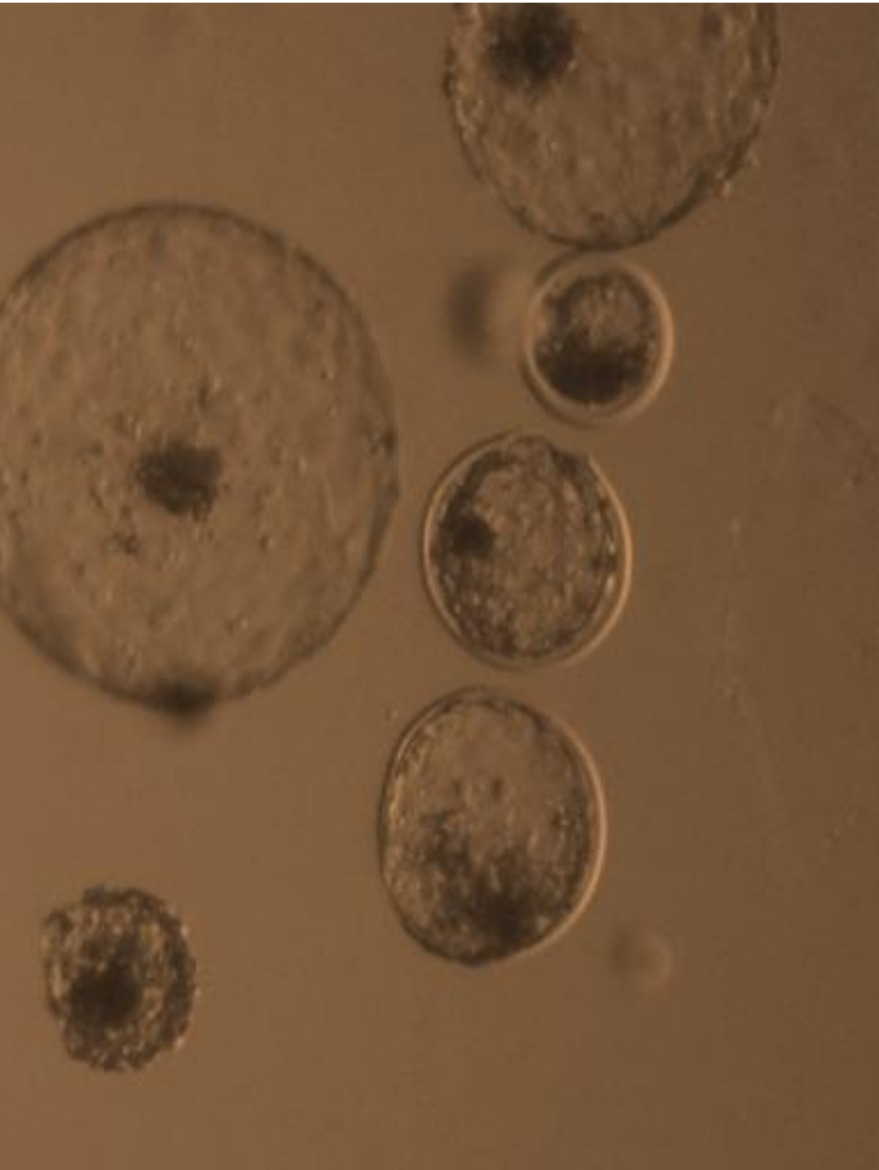
PIV

Clivagem

Desenvolvimento em D7 e D8

Resistência a criopreservação

Proporção sexual



PARÂMETROS AVALIADOS



Sêmen

Motilidade e vigor

Integridade de acrossoma

Integridade de membrana

Integridade de DNA



RESULTADOS



Tabela 2 : Taxa de desenvolvimento embrionário de acordo com o tratamento

Tratamento	Clivados	Desenv. D7	Desenv. D8	Global
Percoll	72%	32%	23%	19%
Minipercoll	73%	33%	35%	25%
Minioptiprep	66%	32%	36%	23%

Proporção Sexual



Percoll (n= 38)

19 : 19

Minioptiprep (n=20)

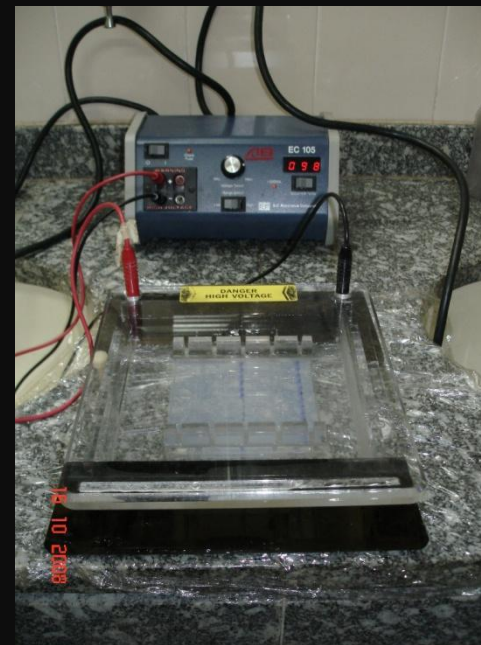
9 : 11

Minipercoll

?????

RESULTADOS

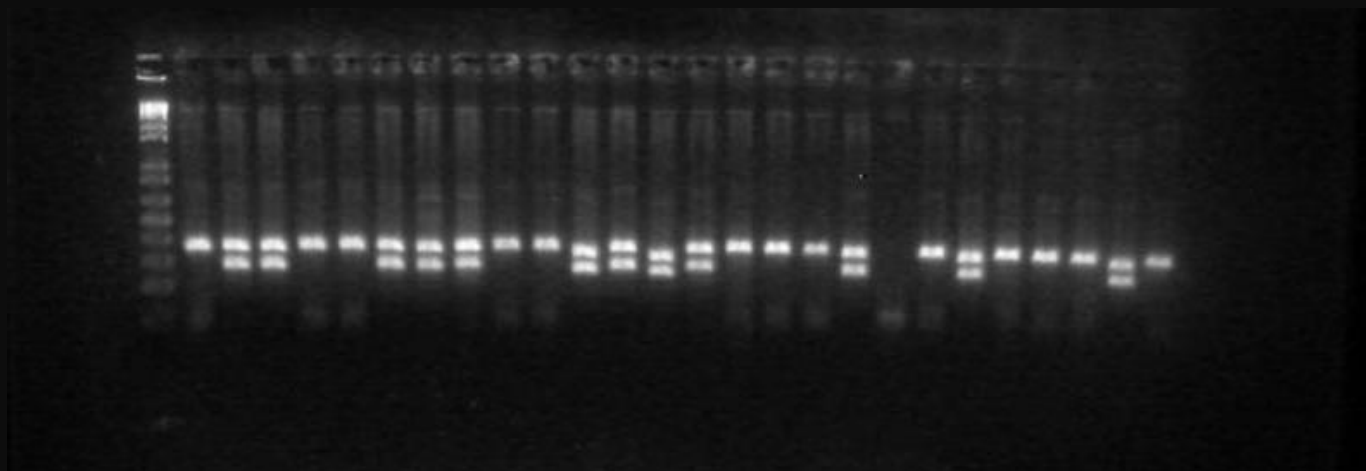
Sexagem dos embriões - PCR



RESULTADOS



Sexagem dos embriões - PCR





29 10 2008

Obrigada pela atenção de todos!!!