



NUPEEC

Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária



Produção *in vitro* de embriões ovinos

•Apresentadores: Mauri Mazurek

Rodrigo C. de C. de Azambuja

• Orientação: Liziane Lemos Viana

Small Ruminant Research 44, 89-95 (2002).

***In vitro* maturation and *in vitro* fertilization of sheep oocytes**

WANI, N.A*

**Faculty of Veterinary Sciences and Animal Husbandry, S.K.
University of Agricultural Sciences and Technology, P.O. Box 953,
G.P.O. Srinagar 190001, India.*

Fator de impacto:

Introdução



BRASIL



REFERÊNCIA MUNDIAL NA PRODUÇÃO DE EMBRIÕES BOVINOS

Introdução



**EMBRIÕES
TRANSFERIDOS NO
BRASIL**

60 MIL

200 MIL

**ÚLTIMOS
5 ANOS**

**90 % PRODUZIDOS
EM LABORATÓRIO**

Introdução



Em ovinos...

No mundo: Primeiros cordeiros obtidos por PIV em meados da década de 80

No Brasil técnica em Expansão (...2000)

EMPRESA PAULISTA PIONEIRA...



CANADÁ

AUSTRÁLIA

Introdução



**EMPRESA
PAULISTA
PIONEIRA...**

**2006 – PRIMEIRO
CORDEIRO OBTIDO
POR PIV**

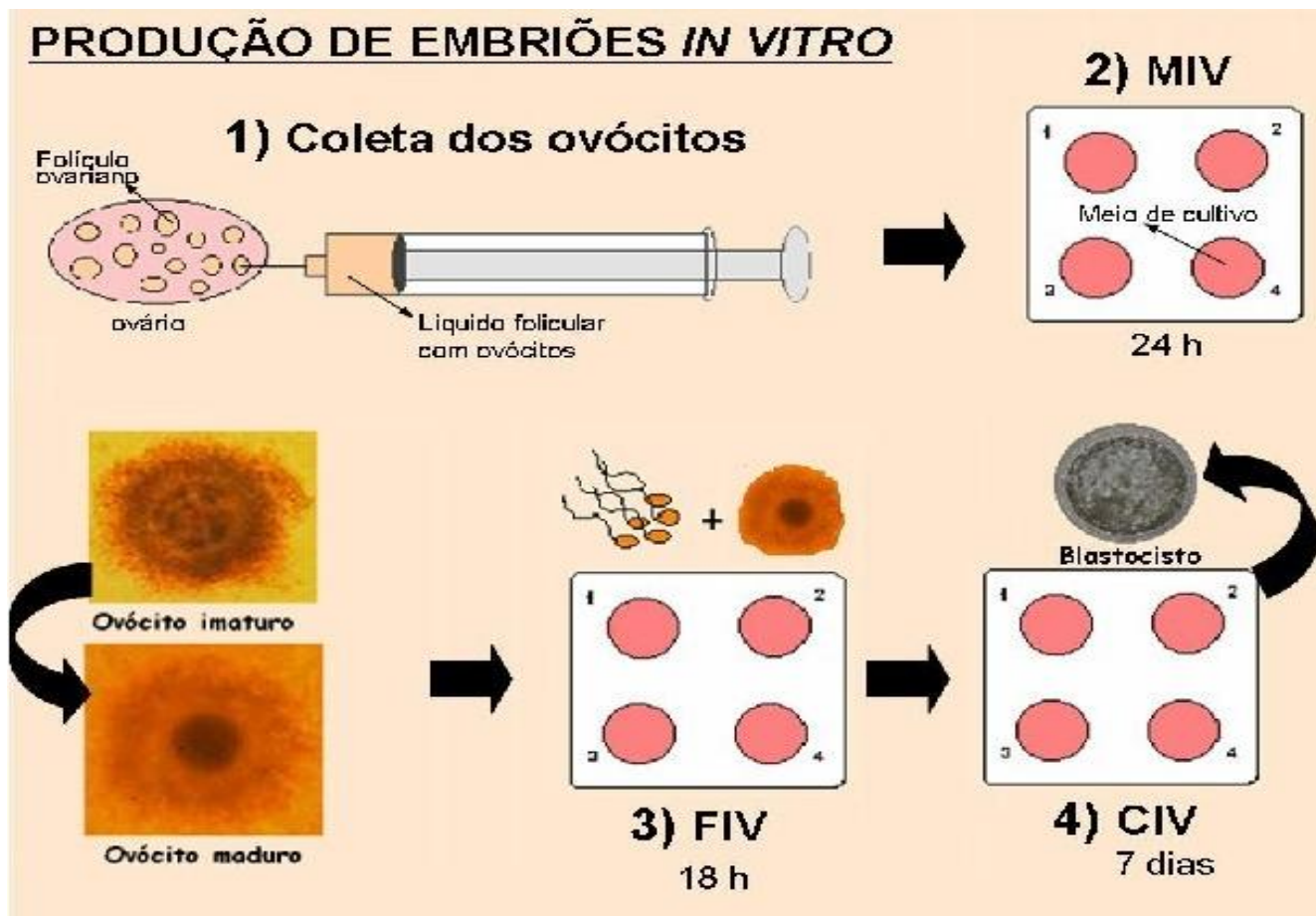


Hoje... Exportações de embriões para a Colômbia

Introdução



Bom...Mas como funciona a PIV?

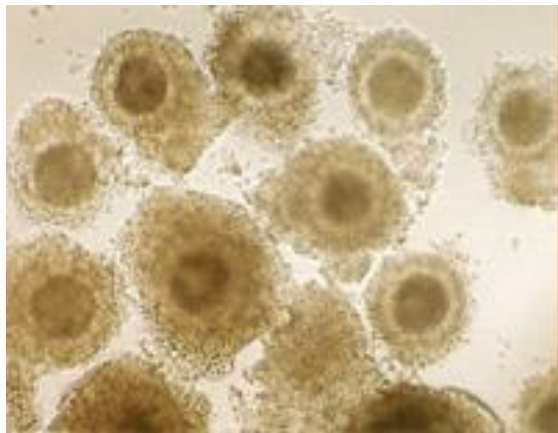
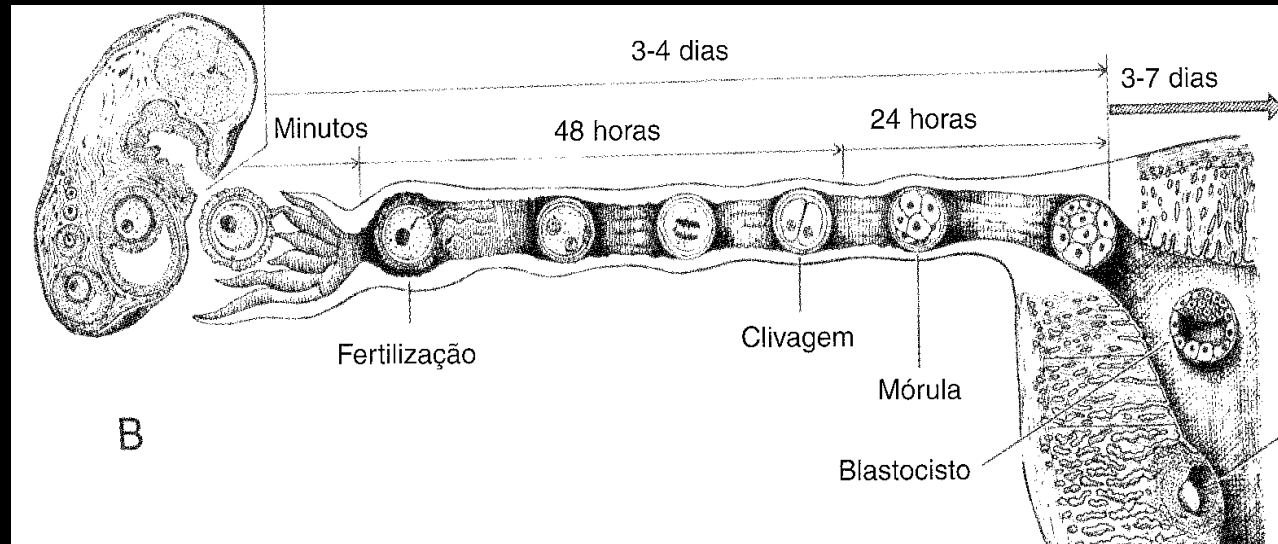
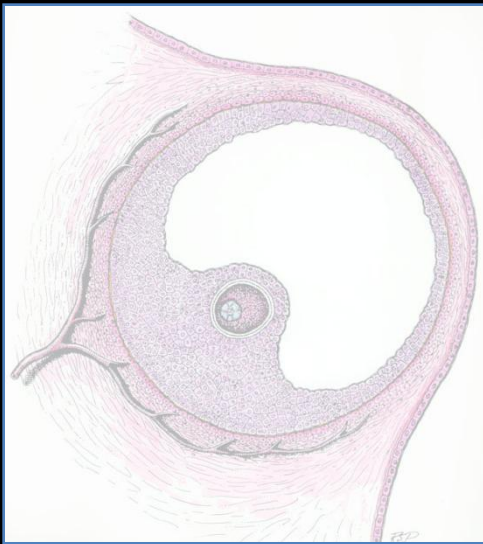


Fonte: Rheingantz, M. G . T.

Introdução



Desenvolvimento embrionário...



Objetivos



Este trabalho é uma revisão das etapas referentes à PIV de embriões ovinos, sendo enfocada a eficiência de cada uma e os avanços obtidos. Também serão discutidos aspectos relativos ao papel dos hormônios gonadotróficos, células foliculares e fluído folicular para o sucesso da técnica.



Coleta de Oócitos



FONTES



➤ Por pequenos folículos maduros antes da ovulação.



➤ Folículos de material oriundo de fêmeas abatidas.



➤ Após Ovulação no oviduto.

Coleta dos oócitos

➤ Oriundos de animais abatidos

➤ Coleta dos ovários em abatedouros.



➤ Levar os ovários para o laboratório em solução salina/tampão Dulbeccos Fosfatada



Temperatura da solução de 10 a 30 ° C, sem efeitos negativos na maturação



➤ Tempo de coleta dos ovários e colheita dos oócitos



Foram usados protocolos com intervalos de 1 – 2 hs ou 3 – 4 hs, sem efeitos negativos na maturação

Coleta dos oócitos

➤ Oriundos de animais *in vivo*
(*Por laparoscopia*)

Atualmente...

➤ Por meio de aspiração ou punção
(agulha)

Resultados Obtidos

Uso de punção com
agulha hipodérmica
apresentou melhores
resultados

Aspiração
apresentou maior
ocorrência de
dejetos, que
dificultam a
identificação dos
oócitos

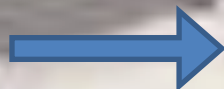
Coleta dos oócitos



➤ Oriundo de animais *in vivo*
(*Por laparoscopia*)

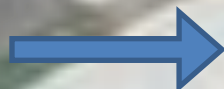
Outros estudos apresentam os seguintes resultados:

Punção com
agulha
hipodérmica



Mais eficiente para a recuperação
de oócitos nos ovários menores de
cordeiras.

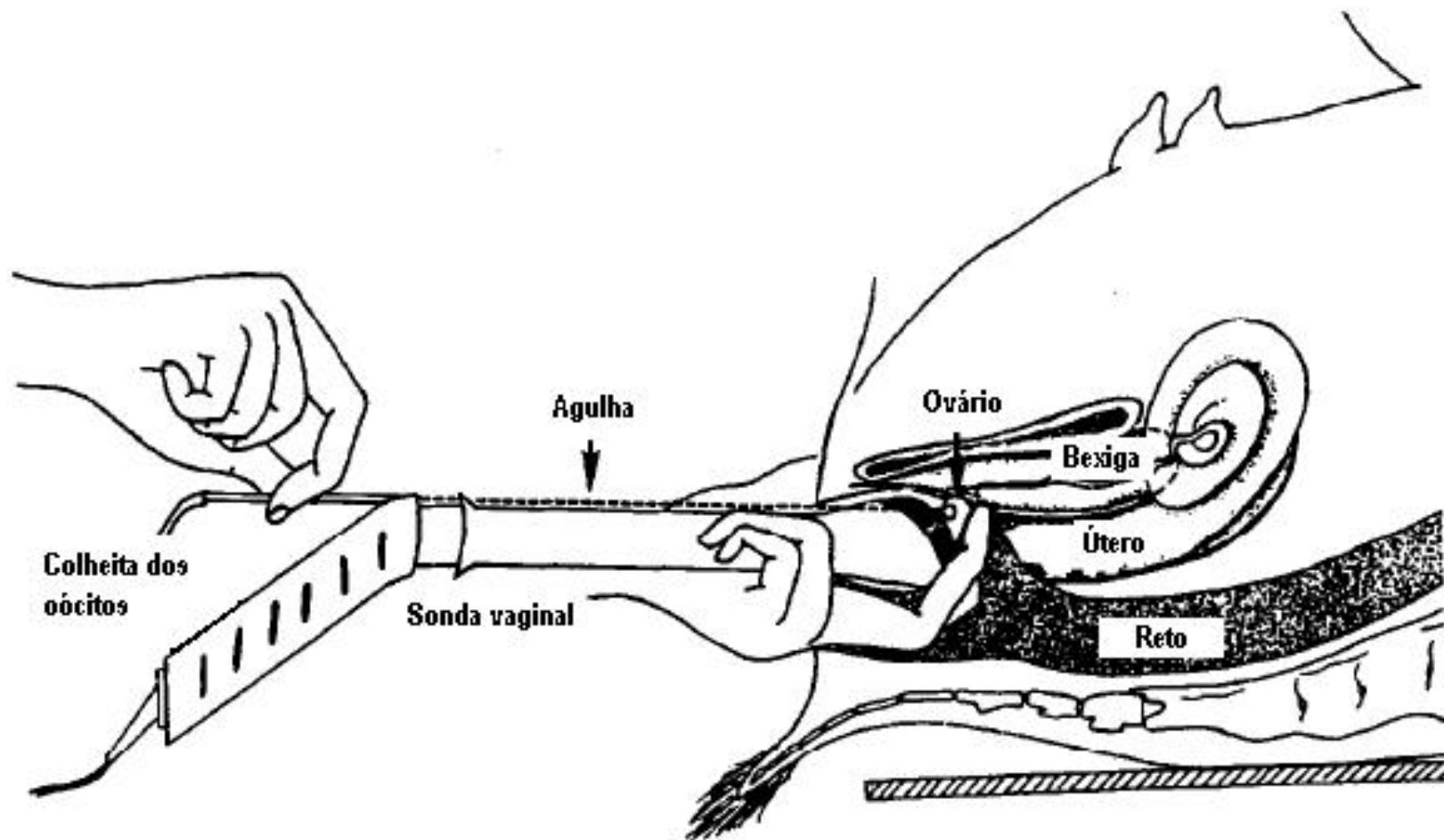
Aspiração



Melhores resultados para os
ovários maiores de ovelhas.

Apresentou 10 % de oócitos de melhor
qualidade comparado com a punção.

IMPORTANTE



Coleta dos oócitos

➤ Idade dos animais coletados
Ovelhas X Cordeiras

Qualidade dos oócitos

Não apresentou diferença...

Taxa de Maturação

Clivagem e Fertilização

Porém, apresentou diferença...

Taxa de Blastocisto maior em
ovelhas

Por quê?

Mas, sem diferença na taxa de
prenhês

Coleta dos oócitos



➤ Tamanho dos folículos e oócitos coletados

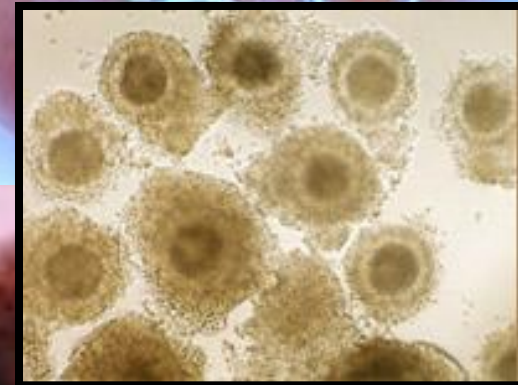
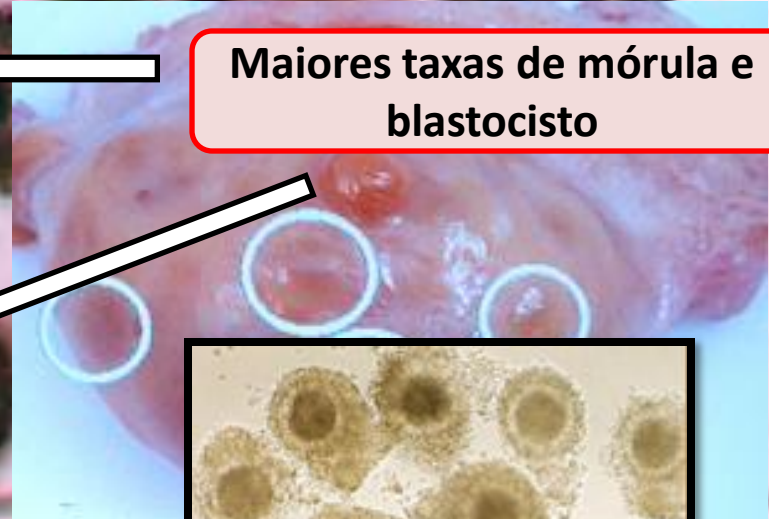
Folículos maiores (> 5mm)

Folículos menores (2 a 5 mm)

Ovócitos maiores

Ovócitos menores

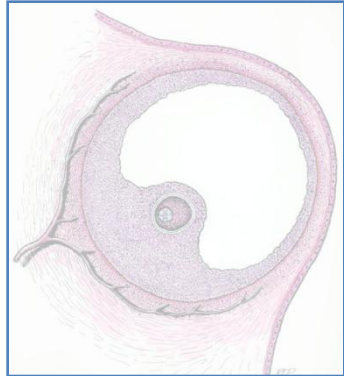
Maiores taxas de mórula e blastocisto



Porém a maioria dos pesquisadores selecionam pelas características citoplasmáticas e camadas do cumulus

Maturação *in vitro*

➤ Papel dos hormônios gonadotróficos



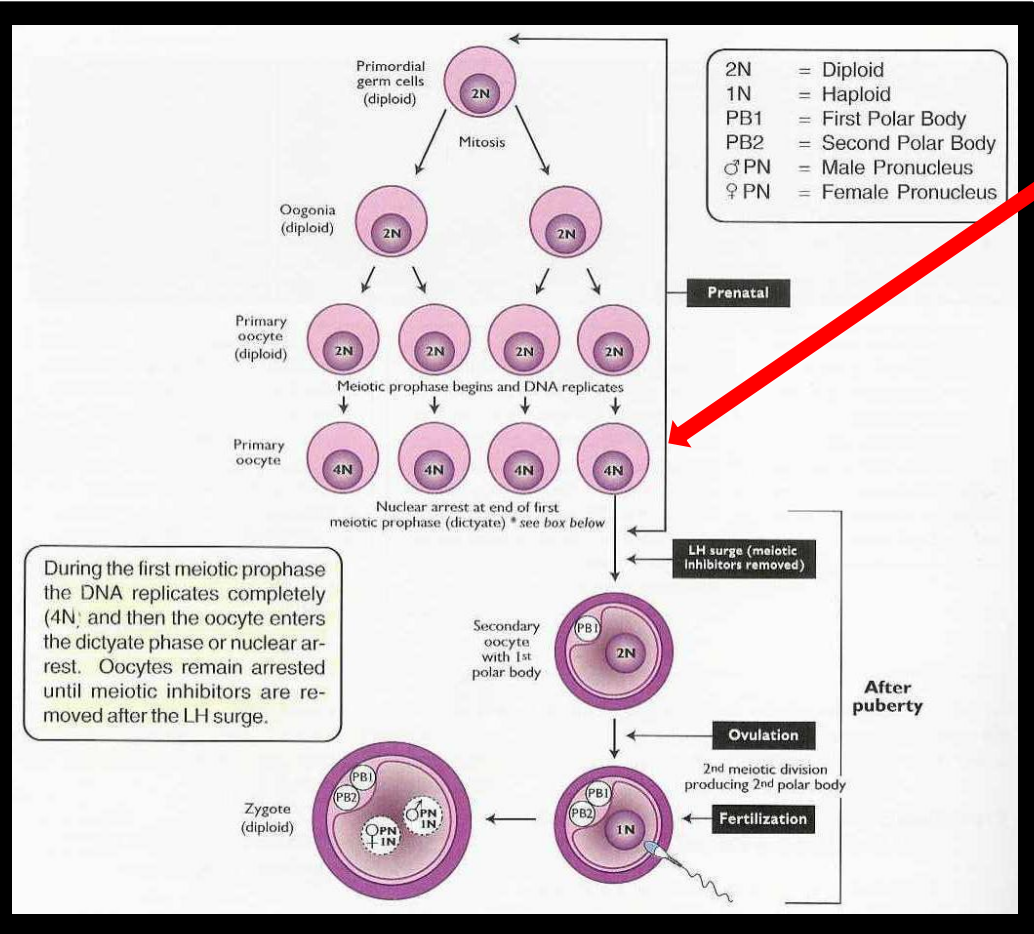
**Ovócitos
(Prófase meiose I)**

Céls. da granulosa

**Fator inibidor da
maturação ovocitária**

**IMPORTANTE
Lembrar
hormônios
parácrinos e
autócrinos**

**Gonadotrofinas
FSH e LH
OVULAÇÃO**



Maturação *in vitro*



➤ Papel dos hormônios gonadotróficos

Adição de Gonadotrofinas Exógenas nos meios de maturação

Inicialmente...

1 μ /ml FSH
+
2 μ /ml LH

Não houveram diferenças
(Taxa de blastocisto,
Embriões viáveis)

Mais tarde...

10 μ /ml LH

IMPORTANTE
Indispensável na maturação de oócitos de pré-puberes

IMPORTANTE
Controvérsias com relação a utilização de hormônios

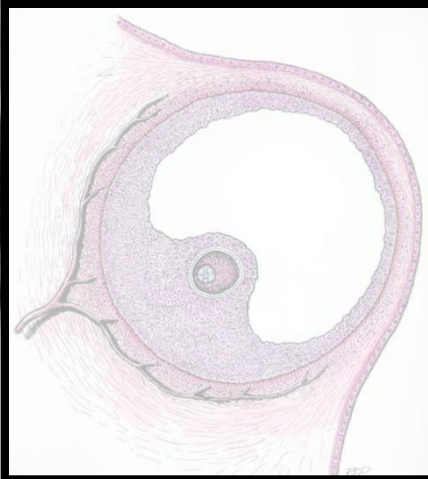


Embriões viáveis

Maturação *in vitro*



➤ Papel das células foliculares



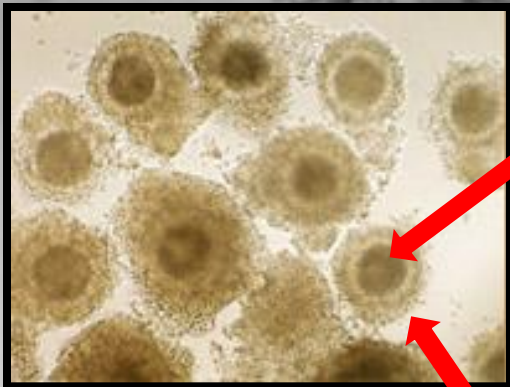
Células do folículo desempenham papel nutritivo no oócito (Pinocitose)

Células do *cumulus*

Aminoácidos, nucleotídeos, fosfolípidos

Sinais para síntese de proteínas estruturais

Regulação da maturação oocitária (Clivagem)



IMPORTANTE



Classificação de cumulus oophorus segundo LEIBFRIED E FIRST

EXCELENTE (CLASSE 1)	Cumulus completo
BOM (CLASSE 2)	+ de 2 camadas de células
REGULAR (CLASSE 3)	1 camada de células
RUIM (CLASSE 4)	Ausência de células

Maturação *in vitro*



➤ Papel de diferentes tipos de soro

Vários tipos de soro utilizados para suplementar os meios de maturação...

NUTRIÇÃO OOCITÁRIA

SORO DE OVINOS

SORO FETAL BOVINO

SORO DE HUMANOS

Maiores taxas de clivagem
para o soro ovino

Maturação *in vitro*



➤ Papel do fluído folicular

O Fluído folicular possui substâncias inibidoras da maturação oocitária...

FLUÍDO DE SUÍNOS

Inibem maturação de oócitos de suínos, ratos, camundongos e hamsters

FLUÍDO DE BOVINOS

No entanto alguns trabalhos afirmam...

FLUÍDO DE OVINOS

Mostrou efeito estimulador da maturação oocitária

Por quê?

Cultura de embriões *in vitro*



Embriões ovinos são normalmente cultivados em meios contendo...

SORO OVINO

BSA (Albumina sérica bovina)

SORO FETAL BOVINO

Adição de glicose mostrou-se benéfica

Inclusão de aminoácidos específicos mostrou-se benéfica para a formação de blastocisto

Condições semelhantes as do oviduto

No entanto...A produção de amônio pelo metabolismo embrionário interrompe o desenvolvimento a partir de determinado momento

Cultura de embriões *in vitro*



Outros trabalhos...

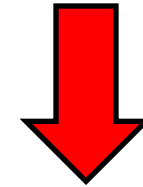
CULTIVO EM GRUPO



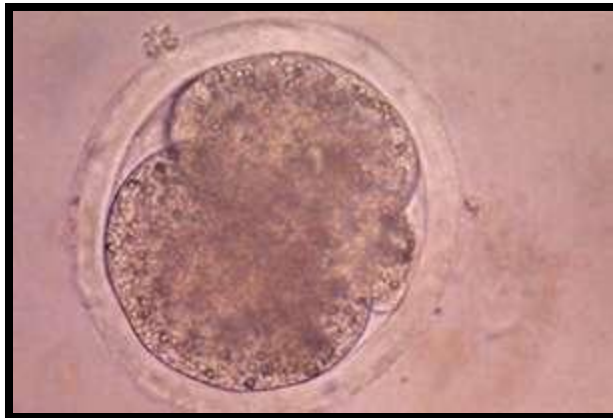
Aumento nas taxas de blastocisto

X

CULTIVO INDIVIDUAL



Associou-se a produção pelos embriões de fatores estimulantes da clivagem e desenvolvimento embrionário



Cultura de embriões *in vitro*



Outros trabalhos...

CO -CULTIVO

Sobre monocamadas de células do trofoblasto e do oviduto

Melhorou o desenvolvimento e a clivagem *in vitro*

Creditado a produção de fatores de crescimento e retirada de substâncias nocivas do meio (amônia)



Conclusões

