

## INTERFERÊNCIA DE EXTERNO NA PRODUÇÃO DE EMBRIÕES IN VITRO

Ana Luiza De Melo Paiva<sup>1\*</sup>, Jordana Spencer Magalhães Novais<sup>1</sup>,

Júlia Cerqueira Madureira<sup>1</sup>, Gustavo Henrique Ferreira Abreu Moreira<sup>2</sup>, Breno Mourão de Souza<sup>3</sup> e Josiane Rossi Ribeiro<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Discente no Curso de Medicina Veterinária – Centro Universitário de Belo Horizonte - UniBH – Belo Horizonte/MG – Brasil – \*Contato: analuizamp.bh@gmail.com

<sup>1</sup>Discente no Curso de Medicina Veterinária – Centro Universitário de Belo Horizonte - UniBH – Belo Horizonte/MG – Brasil

<sup>1</sup>Discente no Curso de Medicina Veterinária – Centro Universitário de Belo Horizonte - UniBH – Belo Horizonte/MG – Brasil

<sup>2</sup>Docente do Curso de Medicina Veterinária – Centro Universitário de Belo Horizonte - UniBH – Belo Horizonte/MG – Brasil

<sup>3</sup>Docente do Curso de Medicina Veterinária – Centro Universitário de Belo Horizonte - UniBH – Belo Horizonte/MG – Brasil

<sup>4</sup>Médica Veterinária e diretora técnica do laboratório na empresa de produção de embriões in vitro EMBRYOPLUS- Monte Mor/SP- Brasil.

### INTRODUÇÃO

A produção in vitro de Embriões (PIVE) atualmente vem sendo aprimorada, o que proporcionou a eficiência no melhoramento genético dos rebanhos<sup>7</sup>. No comércio agropecuário essas biotecnologias inovadoras proporcionaram que uma vaca de valor zootécnico alto, produzisse vários descendentes ao longo de sua vida reprodutiva diminuindo o intervalo entre as gerações, enquanto um ciclo estral apenas um oócito se desenvolve hoje conseguimos utilizar aqueles óvulos que teriam se degenerados se tornam embriões através de aspiração folicular. As interferências na produção de embriões in vitro, tem uma grande relevância podendo afetar diretamente na taxa de prenhez do rebanho.

### METODOLOGIA

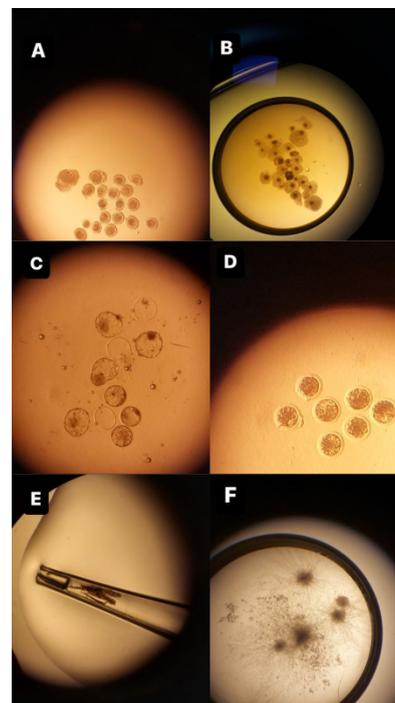
A Revisão de literatura foi realizada através de artigos disponibilizados nas plataformas digitais como Google Acadêmico e Scielo. Entre os anos de 2015 a 2022, foram utilizadas as palavras chaves: Produção de Embriões in vitro, biotecnologias e reprodução animal, maturação Oocitaria.

### RESUMO DE TEMA

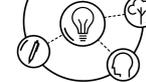
O técnico qualificado vai a campo aspirar as vacas por meio de aspiração folicular orientada por ultrassonografia (OPU)<sup>1</sup>, esse processo tem que ser cauteloso e extremamente higiênico, tanto as técnicas desse profissional quanto a higienização correta dos equipamentos, porque isso pode interferir diretamente na maturação oocitaria. A OPU é uma técnica muito versátil e permite a utilização de animais muito jovens, a partir de dois a 3 meses, ou sênior. Não interfere no estado fisiológico do animal, não requer estimulação hormonal exógena e pode ser executada duas vezes por semana.<sup>8</sup> Após aspirar esse oócitos, passa pelo processo de filtragem desse líquido onde estão os oócitos, para tirar o muco sangue e outras coisas que podem dificultar o rastreamento. O rastreamento usa lupa, placas de petri e meio de lavagem dos oócitos, após o rastrear esses oócitos, em um tubo de ensaio com meio de maturação e acontece a maturação in vitro (MIV), O meio de cultura mais utilizado para a maturação de oócitos é o TCM 199 acrescido de 10% de soro bovino, FSH, LH, estradiol e EGF.<sup>8</sup> É necessária a utilização de uma incubadora de CO<sub>2</sub>, sendo a temperatura ideal 39°C em atmosfera a 5% de CO<sub>2</sub> em ar e umidade saturada, essa incubadora deve estar com a temperatura correta, sem riscos de instabilidade de energia, bem higienizada e sem presença de fungos para não alterar a produção de embriões in vitro.<sup>9</sup> Após os oócitos ficarem nesse meio de maturação por 24h, lava em outras gotas na placa de petri com meio de FIV e assim realizar a fecundação in vitro (FIV) nesse momento pode ocorrer o melhor cruzamento que normalmente o proprietário já pré define qual será para qual vaca, após descongelar o sêmen coloca ele em uma solução que dá mais mobilidade para esses espermatozoides, e assim na mesma gota onde está o oócito maturado colocamos o sêmen<sup>8</sup>. O dia da fertilização é considerado como o dia zero (D0). A fusão do oócito com o espermatozóide ocorre após a penetração, especificamente pelo contato entre o segmento equatorial do espermatozóide e a membrana plasmática do oócito<sup>7</sup>. Após 3 dias (D3), observa essa gota onde em cultivo in vitro (CIV), e observamos já a formação de embriões já clivados no estado de mórula (MO), após 3 dias (D6) consegue observar esses embriões mais desenvolvidos e também conseguimos ver embriões que não conseguiram desenvolver, no dia 7 (D7) consegue observar embriões em fase de BL/BX prontos para ser envasados.<sup>3</sup> O envasamento que requer muita atenção e cuidado que transferir esses embriões ou congelar e armazenar em nitrogênio, esse armazenamento por criopreservação deixa esses

embriões menos resistentes do que os in vivo, isso se dá por vários motivos entre eles o uso inadequado dos métodos de criopreservação, como o uso indevido de vitrificação tendo uma toxicidade por um período muito longo levando a exposição dessas células.<sup>7</sup>

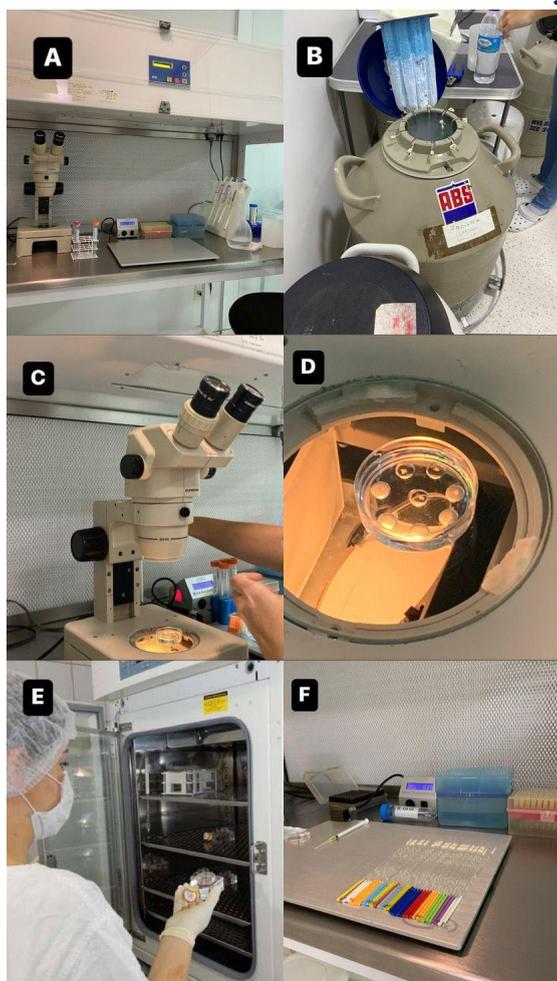
Os fatores que interferem na produção de embriões in vitro são: as doadoras onde a variabilidade entre elas é muito grande e também diferentes respostas a aspiração folicular, as raças sendo as doadoras do tipo corte e superior ao número de oócitos referente a doadora do tipo leite<sup>2</sup>. Segundo Domingues, 1995 vacas de origem europeia apresentam maior quantidade de folicúlos grandes, sendo quanto maior o folicúlo menor a qualidade dos oócitos obtidos. A utilização de sêmen congelado também pode interferir na produção de embriões in vitro, a qualidade do sêmen está diretamente relacionada a uma boa fecundação, os equipamentos utilizados na OPU devem ser específicos para esse procedimento, bem higiênico armazenamento em lugar adequado e limpo para não ocorrer interferência na maturação oocitaria<sup>2</sup>. É importante salientar, que o laboratório tem que ser planejado e construído em um local adequado para que não tenha interferência de externos como poeiras, cheiros e odores dentro do laboratório, o uso de jaleco e proteção para os pés é indispensável, ter atenção com produtos de limpeza utilizados no laboratório<sup>2</sup>. Com a finalidade de ter um bom resultado na taxa de prenhez e nascimento do rebanho de transferência de embriões.



**Figura 1:** A e B oócitos em meio de maturação, C embriões eclodidos, DE embriões em fase de BI, E ponteira suja, F placa de petri com fungos.<sup>5</sup>



## X Colóquio Técnico Científico de Saúde Única, Ciências Agrárias e Meio Ambiente



**Figura 2:** A exasutor do laboratório, B botijão de Nitrogênio para armazenamento de embriões, C Lupa, D Placa de Petri, E incubadora, F paletas com embriões pronto para transferir. <sup>5</sup>

### CONSIDERAÇÕES FINAIS

A Produção de Embriões In Vitro (PIVE) no Brasil é importante para acelerar o ganho genético do rebanho, no entanto o sucesso desse processo depende diretamente da quantidade e qualidade da doadora é uma rigorosa produção de embriões in vitro. Portanto é importante salientar as principais interferências de externo na produção de embriões in vitro, desse modo é considerável uma boa higienização e organização para ter um ganho reprodutivo excelente em seu rebanho.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BUENO, P A, PRODUÇÃO IN VITRO DE EMBRIÕES BOVINOS. REVISTA CIENTÍFICA ELETÔNICA DE MEDICINA VETERINÁRIA, Julho de 2008.
2. DAYAN, André. FATORES QUE INTERFEREM NA PRODUÇÃO DE EMBRIÕES BOVINOS MEDIANTE ASPIRAÇÃO FELICULAR E FECUNDAÇÃO IN VITRO. 2015. 56 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, 2015.
3. LEITE, A C, GRÁZIA, J G V , SOLLECITO, N V , ANDRADE V B, MANTIS, T M , BORGES, A M, REVISTA LEITE INTEGRAL ,Março de 2016.
4. MOREIRA VIANA, J H , CLASSIFICAÇÃO DE EMBRIÕES BOVINOS PRODUZIDOS IN VIVO. PECUARIA DE LEITE, Janeiro de 2013. Acessado em 25 de abril de 2022.
5. PAIVA, A M, ARQUIVO PESSOAL. JULHO 2022.
6. SOUZA, N S , ABADE, C C, PRODUÇÃO IN VITRO DE EMBRIÕES BOVINOS : ETAPAS DE PRODUÇÃO E HISTORIOCI NO BRASIL. Ciência Veterinária UniFil jul/set 2018..
7. VARAGO, F C, MENDONÇA L F , LAGARES M A, Produção in vitro de embriões bovinos: estado da arte e perspectiva de uma técnica em constante evolução, Rev Bras Reprod Anim, Belo Horizonte, abr./jun. 2012.
8. VIEIRA, R J, BIOTÉCNICAS APLICADAS À REPRODUÇÃO BOVINA: GENERALIDADES, Ciência Animal, 22(1): 55-65, 2012 – Edição Especial.
9. SANGUINET, E O , Sobrevivência in vitro de sêmen criopreservado equino e de ruminantes após indução à capacitação espermática e da reação acrossômica para aplicação na produção in vitro de embriões, UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL, 2020.
10. SANTOS, V S P, IMPACTO DA LEUCOSE ENZOÓTICA BOVINA NA PRODUÇÃO IN VITRO DE EMBRIÕES BOVINOS, Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, 2018.
11. GONÇALVES, R L R , VIANA, J H M, Situação atual da produção de embriões bovinos no Brasil e no mundo, XXIII Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, Maio 2019.

APOIO:

