

Fotos: Mariana Groke Marques

COMUNICADO
TÉCNICO

570

Concórdia, SC
Dezembro, 2019



Metodologia para coleta *in vitro* de embriões em suínos

Mariana Groke Marques
Andressa Pereira de Souza
José Rodrigo Cláudio Pandolfi

Metodologia para coleta *in vitro* de embriões em suínos¹

¹ Mariana Groke Marques, Médica Veterinária e Zootecnista, doutora em Reprodução Animal, pesquisadora da Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC. Andressa Pereira de Souza, Médica Veterinária, doutora em Ciência Animal, Facc-Faculdade Concórdia, Concórdia, SC. José Rodrigo Cláudio Pandolfi, Médico Veterinário, doutor em Biotecnologia, pesquisador da Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC.

Introdução

A crescente necessidade de transferência de material genético em todo o mundo, com riscos sanitários mínimos e baixos custos, motiva a utilização de biotecnologias reprodutivas na espécie suína, entre elas a transferência de embriões. Além disso, o sucesso das técnicas de coleta e transferência não cirúrgica de embriões de bovinos, sendo esta uma ferramenta valiosa na disseminação do potencial genético das fêmeas, estimula a demanda para desenvolver técnicas semelhantes em suínos.

Na espécie suína, a aplicação comercial da transferência de embriões tem sido limitada pela necessidade de cirurgia para coleta e transferência dos embriões. Essa biotecnologia atualmente é aplicada como auxiliar em procedimentos de criopreservação de embriões, para conservação de raças ou linhagens, e também para produção de animais geneticamente modificados. O fato da fêmea suína ter cornos uterinos longos, dificulta o processo, pois a lavagem dos mesmos, por completo, para obtenção dos embriões se torna um processo trabalhoso e com resultados não

satisfatórios. Protocolos que viabilizem a lavagem de porções menores do útero, com altas taxas de recuperação, podem ser o caminho para desenvolvimento desta tecnologia na espécie suína, podendo se transformar em ferramenta comercial.

O objetivo deste comunicado técnico é descrever uma metodologia fácil e com altas taxas de recuperação para coleta de embriões na espécie suína, podendo este protocolo posteriormente ser otimizado para coletas *in vivo* mais eficientes.

Metodologia

As coletas podem ser realizadas dois dias após a primeira inseminação quando a intenção é coletar embriões em estágios iniciais de desenvolvimento (2 a 8 células), ou 4 a 6 dias após a inseminação artificial para coleta de mórulas e blastocistos, respectivamente.

Na metodologia aqui descrita, os tratos reprodutivos foram coletados em abatedouro comercial e acondicionados a 30°C para transporte, não excedendo duas a três horas entre o abate e a coleta dos embriões. No laboratório, para

verificação da taxa de recuperação dos embriões, recomenda-se contar o número total de corpos lúteos de cada ovário.

Os embriões são coletados por lavagem, conforme ilustrado na Figura 1. Os 20-30 centímetros dos cornos uterinos proximais aos ovários devem ser dissecados, assim como os ovidutos. A extremidade distal da secção do útero é obliterada com auxílio de pinça hemostática. Após completa dissecação do oviduto (Figuras 1A e 1B), deverá ser localizada a entrada do infundíbulo (Figura 1C) e nela inserir uma sonda plástica acoplada à seringa de 20 ml, contendo PBS com 1% de soro fetal bovino para a realização da lavagem (Figura 1D). O conteúdo líquido do oviduto deve ser massageado em direção ao corno uterino. A junção útero-tubárica deve ser obliterada com auxílio de pinça hemostática e o oviduto retirado (Figura 1E).

Uma segunda lavagem deve ser realizada com a inserção da sonda plástica na região caudal do útero, a qual já deve estar previamente obliterada com pinça. O corno uterino deve ser suspenso pela região caudal, sendo o conteúdo líquido deslocado por massagem em direção à junção útero-tubárica (Figura 1G). A extremidade cranial então deve ser liberada e inserida em um tubo cônico de centrifuga de 50 mL. O líquido que contém os embriões deve ser recuperado por gravidade, pela suspensão da região caudal do corno uterino e por massagem dos cornos para deslocamento do líquido (Figura 1H e 1I). O lavado deve ser colocado em placas de Petri de 100

mm e observado em estereomicroscópio para recuperação dos embriões.

A taxa média de recuperação de embriões por esta técnica é de $80\% \pm 15$ (média \pm DP).

Conclusão

A metodologia aqui descrita apresenta resultados muito bons de recuperação de embriões, mesmo com a lavagem de apenas parte do útero, quando comparada com estudos anteriores descritos por Marques (2009), Viana (2001) e Viana et al., (2006). Desta forma, realizar a coleta torna o processo mais rápido, podendo viabilizar no futuro que a coleta via cirúrgica seja realizada com mais rapidez e sucesso, ampliando sua utilização. Além disso, é de grande valia para recuperação de embriões de fêmeas com alto potencial genético que forem descartadas por causas não reprodutivas e para coleta de embriões para criopreservação de germoplasma.

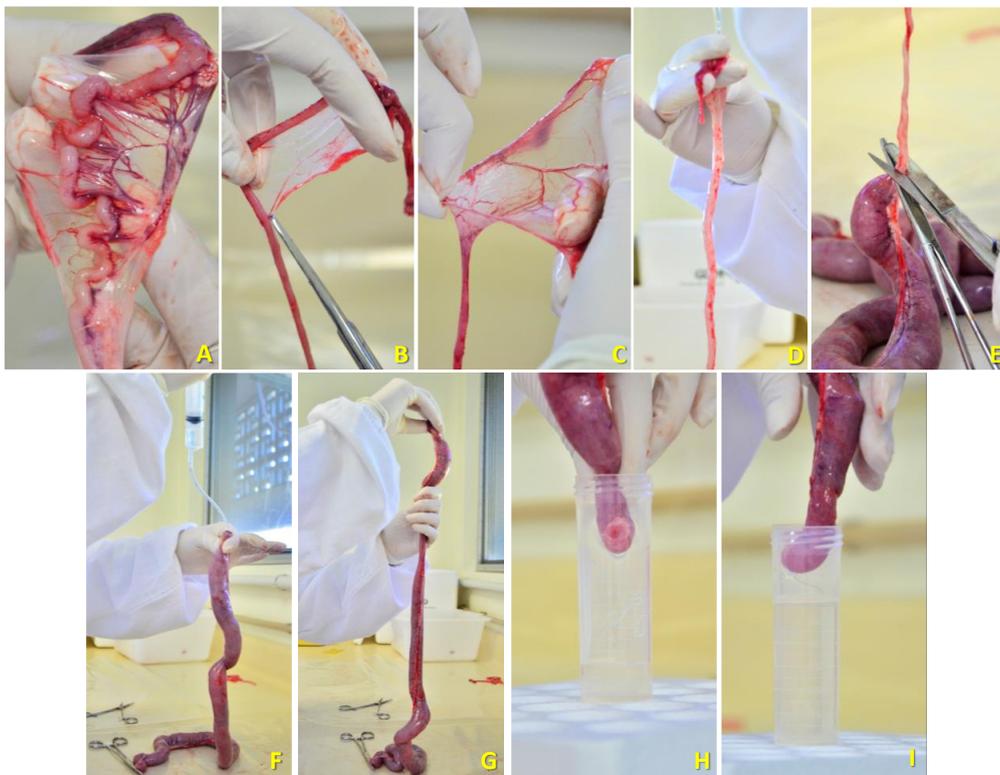


Figura 1. Coleta de embriões suínos. Dissecção do oviduto (Figuras 1A e 1B). Localização da entrada do infundíbulo (Figura 1C). Lavagem do oviduto (Figura 1D). Retirada do oviduto por incisão na junção útero-tubárica (Figura 1E). Inserção da sonda plástica para a realização de nova lavagem (Figura 1F). Suspensão do corno uterino pela região caudal e massagem para deslocamento do líquido (Figura 1G). Coleta do líquido que continha os embriões por gravidade pela suspensão da região caudal do corno uterino (Figura 1H e 1I).

Referências

MARQUES, M. G. **Efeito da tensão de oxigênio e do meio na maturação oocitária in vitro e sua influência no desenvolvimento embrionário em suínos**. 2009. Tese (Doutorado em Reprodução Animal) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP.

VIANA, C. H. C. **Avaliação dos intervalos inseminação-ovulação e desmame-cio e da duração do cio como parâmetros na determinação de programas alternativos de inseminação artificial em suínos**. 2001. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP.

VIANA, C. H. C.; CANDINI, P. H.; GAMA, R. D.; CARBONE, S. A.; SANTOS, I. C. C.; VIANA, W. L.; BARNABE, R. C. Effect of insemination to induced ovulation interval on fertilization rate, embryo viability and number of accessory sperms in sows. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 43, p. 132-138, 2006.

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:

Embrapa Suínos e Aves
Rodovia BR 153 - KM 110
Caixa Postal 321
89.715-899, Concórdia, SC
Fone: (49) 3441 0400
Fax: (49) 3441 0497
www.embrapa.br
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

1ª edição

Versão eletrônica (2019)



MINISTÉRIO DA
AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO



Comitê Local de Publicações
da Embrapa Suínos e Aves

Presidente

Marcelo Miele

Secretária-Executiva

Tânia Maria Biavatti Celant

Membros

Airton Kunz, Clarissa Silveira Luiz Vaz,

Gerson Neudi Scheuermann,

Jane de Oliveira Peixoto e

Monalisa Leal Pereira

Supervisão editorial

Tânia Maria Biavatti Celant

Revisão técnica

Elsio Antônio P. de Figueiredo

Vitor Hugo Grings

Revisão de texto

Monalisa Leal Pereira

Normalização bibliográfica

Claudia Antunez Arrieche

Projeto gráfico da coleção

Carlos Eduardo Felice Barbeiro

Editoração eletrônica

Vivian Fracasso

Foto da capa

Mariana Groke Marques

CGPE 15790