

BIPARTIÇÃO DE EMBRIÕES BOVINOS EM DIFERENTES ESTÁDIOS DE DESENVOLVIMENTO

BOVINE EMBRYO SPLITTING AT DIFFERENT DEVELOPMENTAL STAGES

Fernandes, C.A.C.^{1,2}; Oliveira, E.R.²; Vasconcelos, T.D.²; Alves,
B.F.L.²; Gioso, M.M.¹; Viana, J.H.M.³; Oba, E.⁴; Figueiredo,
A.C.S.¹

¹Unifenas, Rod. MG 179, Km 0, 37130-000 Alfenas MG; ²Biotran Ass. e Consult.
em Reprod. Animal Ltda. R. Tatuin, 93, Res. Teixeira, 37130-000 Alfenas MG;
³Embrapa Gado de Leite, 36038-330 Juiz de Fora, MG; ⁴FMVZ-U nesp, 18618-000
Botucatu, SP. cacf@biotran.com.br

RESUMO

Uma alternativa para melhorar a viabilidade econômica da transferência de embriões em bovinos seria a bipartição de embriões, visando aumentar os resultados da técnica. Embriões de qualidade boa e excelente poderiam ser bipartidos originando 2 hemi-embriões, dos quais as taxas de gestação somadas seriam superiores à do embrião intacto que os originou. A literatura é contraditória ao indicar qual seria o melhor estágio de desenvolvimento para a bipartição de embriões bovinos. Lambeth et al. (1983) observaram melhor taxa de gestação com embriões no estágio de mórula, onde a bipartição pode ser feita em qualquer sentido. Gyujin et al. (1998) relatam melhores resultados com embriões em estádios mais avançados. Khurana & Niemann (2000), relatam que não existem diferenças nas taxas de gestação de hemi-embriões originados de mórulas e blastocistos. O objetivo do presente estudo foi avaliar a taxa de gestação hemi-embriões originados de embriões bovinos com uma mesma classificação morfológica quanto a qualidade, grau 1, porém com diferentes estádios de desenvolvimento. Utilizou-se para bipartição um micro-manipulador mecânico de um braço, com lâminas metálicas e um estereomicroscópio num aumento de 80x. Foram bipartidos 62 embriões bovinos, nos estádios de desenvolvimento de mórula (n=21), blastocisto inicial (n=19) e blastocisto (n=22), coletados pelos métodos tradicionais de doadoras das raças Simental e Red Angus, sete dias após a inseminação. As bipartições e as transferências dos hemi-embriões foram feitas por um mesmo técnico. Foram utilizadas receptoras que no momento da transferência se encontravam entre os dias 6 e 8 do ciclo estral. As taxas de gestação das receptoras foram comparadas por χ^2 . As receptoras foram avaliadas por ultra-sonografia aos 23 e 53 dias após a inováção. As taxas de gestação para os hemi-embriões nos diferentes estádios foram: mórula: 31,0 e 19,0%; Blastocisto inicial: 44,7 e 31,6%; Blastocisto: 50,0 e 45,4%, para os dois momentos de avaliação. Foram observadas diferenças entre as taxas de gestação de hemi-embriões nos estádios de mórula e blastocisto nos dois períodos de avaliação ($P < 0,05$). Os melhores resultados na bipartição de embriões em estádios mais adiantados podem decorrer da maior compactação celular, característica que favorece a viabilidade após a bipartição, pois neste período a bipartição desestabiliza menos a união entre os blastômeros (Escriba et al, 2002). Conclui-se que a bipartição de embriões bovinos em estágio de blastocisto fornece melhores resultados que quando este procedimento é aplicado a embriões em estádios mais recentes, como mórula.

ABSTRACT:

An alternative to improve the economic viability of bovine embryo transfer would be the embryos splitting, aiming to improve the results of the technique. Embryos of good and excellent quality could be bipartite originating 2 hemi-embryos, and the added pregnancy rate of then could be greater than the pregnancy rate of the original intact embryo. The literature is contradictory on when would be the best development

stage for bovine embryos splitting. Lambeth et al. (1983) observed greater pregnancy rates with embryos in the morulae developmental stage, where the bipartition can be performed in any direction. Gyujin et al. (1998) showed better results with embryos in more advanced stages. Khurana & Niemann (2000) reported no differences in pregnancy rates of hemi-embryos originated from morulae to blastocyst. The aim of the present study was to evaluate the pregnancy rates of bovine hemi-embryos with similar morphologic classification (quality grade 1), but at different stages of development. A mechanical one-arm micro-manipulator was used for splitting, with metallic blades and a stereomicroscopic with a magnification of 80x. Bovine embryos (N=62), flushed from Simental and Red Angus donors seven days after artificial insemination, in the periods of development of morulae (n=21), early blastocyst (n=19) and blastocyst (n=22) were used. The split procedures and the transfers of hemi-embryos were made by the same technician. Recipients were evaluated by ultrasound 23 and 53 days after insemination and pregnancy rates were compared by χ^2 . The pregnancy rates for the hemi-embryos in the different stages were 31.0 and 19.0% for morulae; 44.7 and 31.6% for early blastocyst; 50.0 and 45.4% for blastocyst; considering the two evaluation moments, respectively. Pregnancy rates were higher for hemi-embryos in the period stage of blastocyst, when compared to morulae, in both evaluation moments ($P < 0.05$). The best results of embryo splitting in more advanced stages may be consequence of the greater cellular compaction, characteristic which increases viability after the procedure, once in this stage the cell mass remains more stable after the split (Scribe et al, 2002). In conclusion, bovine embryo splitting in the blastocyst stage showed better results than when this procedure was applied in embryos in more recent stages, as morulae.

INTRODUÇÃO

Embriões de qualidade boa e excelente poderiam ser bipartidos originando 2 hemi-embriões, dos quais a taxa de gestação somada seria superior ao embrião intacto que os originou (Khurana & Niemann, 2000). A literatura é contraditória ao indicar qual seria o melhor estágio de desenvolvimento para a bipartição de embriões bovinos. Lambeth et al. (1983) observaram melhor taxa de gestação com embriões no estágio de mórula, onde a bipartição pode ser feita em qualquer sentido. Gyujin et al. (1998) relatam melhores resultados com embriões em estádios mais avançados. Khurana & Niemann (2000), relatam que não existem diferenças nas taxas de gestação de hemi-embriões originados de mórulas e blastocistos.

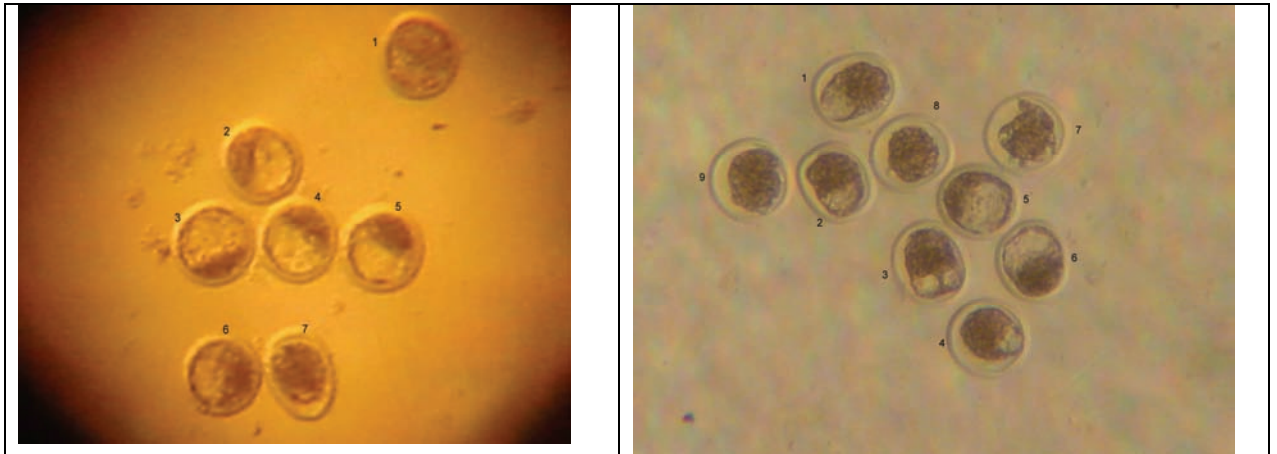
OBJETIVOS

O objetivo do presente estudo foi avaliar a taxa de gestação hemi-embriões originados de embriões bovinos com uma mesma classificação morfológica quanto a qualidade, grau 1, porém com diferentes estádios de desenvolvimento.

MATERIAL E MÉTODOS

Utilizou-se para bipartição um micro-manipulador mecânico de um braço (Lietz), com lâminas metálicas e um estereomicroscópio num aumento de 80x. Foram bipartidos 62 embriões bovinos, nos estádios de desenvolvimento de mórula (n=21), blastocisto inicial (n=19) e blastocisto (n=22), coletados pelos métodos tradicionais de doadoras das raças Simental e Red Angus, sete dias após a inseminação.

Figura 1: Embriões utilizados para bipartição



As bipartições e as transferências dos hemi- embriões foram feitas por um mesmo técnico. Foram utilizadas receptoras que no momento da transferência se encontravam entre os dias 6 e 8 do ciclo estral. As taxas de gestação das receptoras foram comparadas por χ^2 . As receptoras foram avaliadas por ultra-sonografia aos 23 e 53 dias após a inovulação.

Figura 2: Seqüência de bipartição de uma mórula realizada durante o trabalho.



RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram observadas diferenças entre as taxas de gestação de hemi-embriões nos estádios de mórula e blastocisto nos dois períodos de avaliação ($P < 0,05$).

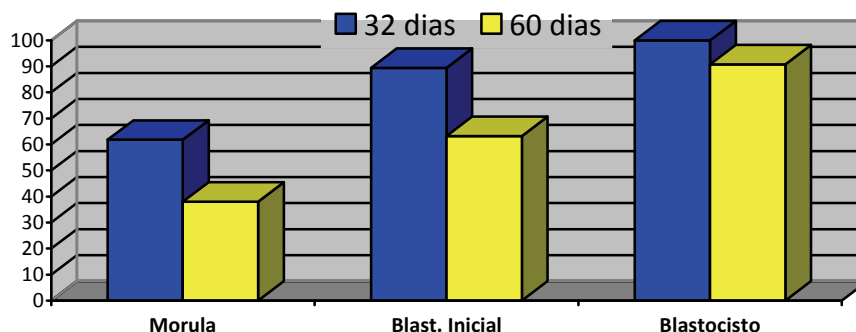
Tabela 1. Número embriões, inovulações e de receptoras gestantes e taxa de gestação (por hemi-embrião transferido) nos diferentes dias de avaliação de acordo com o estágio de desenvolvimento do embrião intacto que originou a inovulação.

Grupo	Embriões	Inov.	Gest. 28 -32 dias	Gest. 53-60 dias
Mórula	21	42	13 (30,9) ^{a1}	8 (19,0) ^{a1}
Blast. inicial	19	38	17 (44,7) ^{a1}	12 (31,6) ^{a1}
Blastocisto	22	44	22 (50,0) ^{b2}	20 (45,4) ^{a1}

Letras iguais nas colunas não diferem a 1% de probabilidade (χ^2)
 Números iguais nas linhas não diferem a 5% de probabilidade (χ^2)

Os melhores resultados na bipartição de embriões em estádios mais adiantados podem decorrer da maior compactação celular, característica que favorece a viabilidade após a bipartição, pois neste período a bipartição desestabiliza menos a união entre os blastômeros (Escriba et al, 2002).

Figura 3: Taxa de gestação aos 32 e 60 dias de acordo com o estágio de desenvolvimento do embrião bipartido.



CONCLUSÃO

Conclui-se que a bipartição de embriões bovinos em estágio de blastocisto fornece melhores resultados que quando este procedimento é aplicado a embriões em estádios mais recentes, como mórula

REFERÊNCIAS

- KHURANA, N.K. & NIEMANN, H. Effects of cryopreservation ... Theriogenology, v.54, n.2, p.313-326; 2000.
 ESCRIBA, M.J.; VALBUENA, D.; et al. New techniques on ... J. Reprod. Immunol. v.55, p.149-161, 2002.
 LAMBETH, V.A LONNEY, C.P. et al. Microsurgery on bovine ...Theriogenology, v.20, p.85-95, 1983.

GYUJIN, R.; JOHNSON, W.H.; et al. Cellular composition ... Theriogenology, v.50, n.6, p.885-895, 1998.

Agradecimentos

