



**Aspectos da produção *in vitro* de embriões bovinos no Brasil – revisão**

Felipe Eduardo Luedke<sup>1</sup>, Flávia Luiza Lavach<sup>2</sup>, Frederico Guerra Cassanta<sup>3</sup>, Luan Felipi do Nascimento Nunes<sup>4</sup>,  
Carolina Schlotefeldt<sup>5</sup>, Sigrid Machado de Paiva<sup>6</sup>, Sérgio Ivan dos Santos<sup>7</sup>, Adriana Pires Neves<sup>8</sup>

**Resumo** - A pecuária brasileira está em constante crescimento, seja em números na balança comercial ou através do emprego de técnicas que sejam capazes de maximizar os resultados e os índices produtivos. Dentre estas técnicas, destaca-se a Produção *in vitro* de embriões bovinos (PIVE), que juntamente com as demais biotécnicas da reprodução, foi responsável pela grande expansão da pecuária brasileira, reduzindo o intervalo entre gerações e selecionando, cada vez mais os reprodutores. Além disso, a PIVE é capaz de gerar produtos viáveis de animais que não estão em condições de se reproduzir, é o fato de animais jovens, animais com problemas reprodutivos, animais mortos e até extintos. A técnica em si é um procedimento complexo, que envolve várias etapas, que vão desde a colheita do oócito, em animais vivos ou em ovários retirados de fêmeas abatidas, passando pela maturação, fertilização e cultivo em laboratório, até a classificação dos embriões viáveis. Seguindo-se nesta linha de pensamento e levando-se em consideração todos os benefícios desta técnica para o agronegócio brasileiro, o objetivo deste trabalho foi revisar o processo de produção *in vitro* de embriões bovinos a partir de ovários coletados em abatedouro e explanar sobre a aplicabilidade das diferentes biotécnicas da reprodução.

**Palavras-Chave:** Biotécnicas da reprodução. Pecuária. Produção *in vitro*. Zootecnia.

*Aspects of the in vitro production of bovine embryos in Brazil – review*

**Abstract** - Brazilian livestock breeding is constantly growing, due to trade balance or through employment of technologies to improve results and productive indexes. Among these, stands out *in vitro* embryo production (IVP) in bovine cattle, which along with other reproductive techniques, is responsible for a greater expansion in Brazilian

<sup>1</sup> Zootecnista pela Universidade Federal do Pampa, mestrando da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo – USP. Rua Dr. Orlando Marques de Paiva, 87 – Cidade Universitária – São Paulo – RS. E-mail: [felipeeduardoluedke@gmail.com](mailto:felipeeduardoluedke@gmail.com)/[felipeluedke@usp.br](mailto:felipeluedke@usp.br)

<sup>2</sup> Graduanda do Curso de Zootecnia da Universidade Federal do Pampa – UNIPAMPA. E-mail: [flavialavach@gmail.com](mailto:flavialavach@gmail.com).

<sup>3</sup> Graduando do Curso de Zootecnia da Universidade Federal do Pampa – UNIPAMPA. E-mail: [fredericocassanta@gmail.com](mailto:fredericocassanta@gmail.com).

<sup>4</sup> Graduando do Curso de Zootecnia da Universidade Federal do Pampa – UNIPAMPA. E-mail: [lfnnunes@gmail.com](mailto:lfnnunes@gmail.com).

<sup>5</sup> Graduando do Curso de Zootecnia da Universidade Federal do Pampa – UNIPAMPA. E-mail: [carolinaschlotefeldt@gmail.com](mailto:carolinaschlotefeldt@gmail.com).

<sup>6</sup> Graduando do Curso de Zootecnia da Universidade Federal do Pampa – UNIPAMPA. E-mail: [sigridpaiva@gmail.com](mailto:sigridpaiva@gmail.com)

<sup>7</sup> Engº Mecº Prof. Dr. Docente da Universidade Federal do Pampa – UNIPAMPA. E-mail: [sergioivandossantos@yahoo.com.br](mailto:sergioivandossantos@yahoo.com.br).

<sup>8</sup> Med Vet Profª Drª. Docente da Universidade Federal do Pampa – UNIPAMPA. E-mail: [Adrianeves@yahoo.com.br](mailto:Adrianeves@yahoo.com.br)

cattle breeding, so reducing generation interval, and selecting animals. Besides, IVP can generate viable products from animals that are no longer able to breed, with reproductive problems, dead or even extinct. This technique is a complex procedure, in several steps, since oocyte collection from live or slaughter animals, undergoing maturation, fertilization and laboratory culture, to classifying viable embryos. Considering every benefit of this technique to brazilian agribusiness, the aim of this work was to review the process of IVP of bovine embryos from slaughterhouse ovaries, and to explain the applicability of different reproductive biotechnologies.

**Keywords:** Reproductive biotechnologies. Livestock breeding. *in vitro* production. Animal Science.

## Introdução

O Brasil, desde seu período de colônia, vem mantendo os traços de economia baseada nos setores agropecuários. Mesmo com os avanços industriais e tecnológicos, o Agronegócio vem se mantendo por tempos como carro chefe da balança comercial brasileira.

A cadeia produtiva da pecuária do Brasil movimentou em 2018 mais de R\$ 597 bilhões, 8,3% acima dos R\$ 551,41 bilhões apurados em 2017, demonstrando pujança e solidez mesmo em tempos de instabilidade econômica (ABIEC, 2019).

É neste cenário, tanto em desenvolvimento econômico quanto técnico, que o emprego das diferentes biotécnicas da reprodução vem em constante crescimento, seja ele em números ou em eficiência de resultados. Todo este desenvolvimento da pecuária nacional está intimamente associado ao emprego das diferentes biotécnicas da reprodução, e o Brasil é detentor de um bom nível técnico-científico nesta área, destacando-se como um dos maiores produtores de embriões *in vitro*, não só pelo domínio da técnica, mas pela qualidade do seu rebanho (DA SILVA, 2015).

Com a expansão do mercado, várias biotecnologias foram desenvolvidas e aprimoradas, principalmente na espécie bovina. Inicialmente, a inseminação artificial (IA) teve um importante papel na disseminação do material genético do macho e, posteriormente, técnicas como o controle do ciclo estral, a superovulação (SOV) e a transferência de embriões (TE) proporcionaram um aumento na possibilidade da multiplicação do material genético da fêmea (DAYAN, 2001).

Em 2009 foram realizadas as primeiras transferências de embriões bovinos produzidos *in vitro* por empresas comerciais no Brasil (VIANA et al., 2017). Neste ínterim ocorreram transformações significativas na indústria de embriões no país (GONÇALVES et al., 2019) com impacto nas tecnologias disponíveis e também nos programas de melhoramento dos rebanhos de corte e leite (VIANA et al., 2017).

A possibilidade de obtenção de oócitos de animais vivos surgiu com a aspiração folicular guiada por ultrassom (OPU), que foi responsável pelo intenso aproveitamento do material genético de fêmeas superiores (OLIVEIRA, 2014), além de proporcionar proles de alto valor genético, oriundas de animais com problemas reprodutivos adquiridos, novilhas pré-puberais e vacas gestantes e senis, sendo responsável pelo aumento da velocidade de multiplicação dos animais de alto valor genético e por uma grande pressão de seleção (RENESTO,

2004). Passados quinze anos, onde inicialmente o uso desta tecnologia ainda estava em consolidação, em 2017 o uso da OPU como principal meio de obtenção de oócitos, tornou-se evidente (VIANA, 2018).

Atualmente as pesquisas relatam o refinamento das técnicas (BARUSELLI et al., 2019), a preocupação em relação à quantidade de folículos e à qualidade oocitária (BARUSELLI et al. 2012) que é dependente de vários fatores intrínsecos e extrínsecos (BARUSELLI et al., 2019).

Seguindo-se nesta linha e de acordo com este cenário de desenvolvimento, o objetivo deste trabalho foi entender os diferentes processos da PIVE que ocorrem desde o abate das fêmeas bovinas até a obtenção do embrião apto a ser transferido à receptora, passando por toda logística e processos laboratoriais, além de explanar sobre a aplicabilidade das diferentes biotécnicas da reprodução no âmbito nacional.

## **Revisão de Literatura**

### **Biotécnicas da Reprodução Animal no Brasil**

As biotécnicas da reprodução animal foram ferramentas singulares para o avanço tecnológico da pecuária nacional, pois possibilitaram a expansão e seleção do material genético adequado para o melhoramento animal (OLIVEIRA et al., 2014) e foram indispensáveis para o avanço da pecuária brasileira até os dias de hoje (ABIEC, 2019).

Os avanços biológicos e tecnológicos, desencadeados pelo desejo de controle dos processos reprodutivos, proporcionaram o desenvolvimento de quatro gerações de tecnologias de reprodução assistida para humanos e animais. A primeira geração incluiu: Inseminação artificial, criopreservação de gametas e embriões; na segunda geração encontram-se a superovulação e a transferência de embriões; já a terceira geração compreendeu a sexagem espermática e embrionária, a recuperação de oócitos e a fertilização *in vitro*; e a quarta geração envolveu a clonagem por transferência nuclear de células embrionárias ou somáticas, a transgenia e a biologia de células-tronco. Sendo que estas tecnologias estão amplamente interligadas umas com as outras (BERTOLINI e BERTOLINI, 2009).

### **Produção *in vitro* de embriões**

A Produção *in vitro* de embriões (PIVE) é uma técnica de reprodução assistida que consiste na preparação e co-cultivo de gametas em ambiente laboratorial para geração do zigoto, e seu cultivo até o estágio de desenvolvimento embrionário desejado. A técnica está relacionada a uma série de procedimentos integrados, que vão desde o manejo reprodutivo das doadoras e receptoras, punção folicular guiada por ultrassom, procedimentos no laboratório até a transferência dos embriões (RIZOS, 2008).

A Produção de embriões *in vitro* tem como aplicações principais o melhoramento genético animal, pois aumenta a intensidade e a pressão de seleção, quando reduz o intervalo entre gerações (DAYAN, 2001; RENESTO, 2004; VARAGO et al., 2008) e a reprodução assistida de fêmeas de alto valor genético, portadoras de patologias reprodutivas adquiridas (DAYAN, 2001; FABER et al., 2003; RENESTO, 2004). A possibilidade de multiplicação do material genético obtido a partir de fêmeas bovinas vem contribuindo de maneira decisiva na melhoria da qualidade e quantidade do produto final (DA SILVA et al., 2015, GUIMARÃES, 2018, BARUSELLI et al., 2019).

Segundo Hasler (2014) há ainda, dentre as possibilidades que a PIVE apresenta, a formação de um banco de germoplasma para a conservação e regeneração de espécies animais em perigo de extinção.

Esta técnica apresentou muitos avanços ao longo do tempo, e foi gradativamente incorporada aos projetos de produção. Com o desenvolvimento do método de punção folicular, tornou-se possível à recuperação de ovócitos de fêmeas vivas para fertilização *in vitro* (FIV), o que contribuiu para a abertura de novos caminhos para multiplicação de animais de interesse zootécnico e econômico superando os índices da transferência de embrião (TE) clássica até então obtidos, no que diz respeito à produção de bezerro por vaca por ano (DAYAN, 2001). Em 2017, o Brasil registrou a produção de 345.528 embriões através de OPU e 343.811 transferências e atualmente segue como referência no uso da PIVE, respondendo por 34,8% da produção global (VIANA, 2018).

A PIVE pode ser utilizada em animais jovens, gestantes ou lactantes e com problemas de infertilidade adquiridos (GOODHAND et al., 1999; TANEJA et al., 2000; DAYAN, 2001; RENESTO, 2004), e inclusive utilização de bezerras como doadoras de ovócitos em programas de TE possibilita a oferta constante de embriões F1, oferecendo assim, um grande potencial para acelerar o ganho genético através da redução do intervalo entre gerações (TANEJA et al., 2000), em um local que ainda comporta um grande crescimento como é o caso de Brasil (VIANA et al., 2017).

Todo o processo de PIVE (maturação, fertilização e cultivo) é realizado em estufa com temperatura em 38,5°C com 5% CO<sub>2</sub> em ar e umidade controlada, as estufas precisam estar calibradas e manter precisamente a temperatura e o teor de CO<sub>2</sub> durante todo o processo de formação do embrião, inconsistências e variações podem resultar negativamente na produção dos embriões (GONÇALVES et al., 2002).

### **Coleta de ovários em abatedouro**

Ovários de abatedouro não podem ser utilizados em programas de melhoramento genético, pois, em geral, são oriundos de animais de descarte, cujos históricos sanitário, nutricional e reprodutivo são desconhecidos, sendo, portanto, destinados apenas às pesquisas por constituírem uma fonte abundante e barata de oócitos (GIBBONS et al., 2008).

Em frigoríficos, os ovários são coletados imediatamente após o abate e evisceração dos animais, identifica-se quanto ao lado em ovário direito (OD) e ovário esquerdo (OE) (CHACUR, 2006), após isso são armazenados e transportados em solução salina a 0,9% e com temperatura entre 35°C e 37°C, e podem ser utilizadas garrafas térmicas com bom isolamento (LEIVAS, 2004).

### **Obtenção de oócitos**

Os oócitos podem ser obtidos de doadoras vivas, através da aspiração folicular, ou a partir da punção de ovários de fêmeas abatidas em abatedouros. Há algum tempo atrás, a aspiração *in vivo* era realizada através de laparotomia, dificultando o procedimento pelas complicações pós-cirúrgicas (incluindo aderências ovarianas), tempo e custo relacionados (CALLESEN et al., 1987).

Os oócitos destinados à PIV podem ser obtidos do oviduto, logo após a ovulação, sendo que neste caso, o processo de maturação oocitária já se iniciou *in vivo*, ou de folículos pré-ovulatórios, imaturos e por vezes atresícos, havendo necessidade de ser realizada a maturação oocitária *in vitro* (WANI, 2002).

Quando se trabalha com ovários oriundos de abatedouro, os oócitos podem ser obtidos por meio da técnica do fatiamento dos ovários (*slicing*) ou do método da aspiração folicular com agulha acoplada à seringa ou bomba a vácuo (BERNARDI, 2005). De acordo com Wani et al. (2000), a técnica de *slicing* possibilita o acesso a folículos localizados profundamente dentro do córtex do ovário, resultando na recuperação de maior quantidade de oócitos do que o método da aspiração folicular com agulha acoplada à seringa, no qual ainda há maior possibilidade de perdas.

Por outro lado, através da aspiração folicular com agulha e seringa, o líquido folicular obtido é muito mais límpido, pois não apresentam a quantidade de células e *debris* resultantes do processo de *slicing* (BERNARDI, 2005). São aspirados os folículos de diâmetro entre 2-8 mm e o líquido folicular é depositado em tubo Falcon de 50mL até a seleção dos oócitos (SENEDA et al., 2001, LEIVAS, 2004, SOLLECITO, 2019), folículos maiores do que 8 mm são desprezados, pois nestes geralmente os oócitos já estão expandidos e não se encontram mais no estágio de metáfase II (MII) inviabilizando o processo de maturação *in vitro* (MIV) (SOLLECITO, 2019).

Logo após a coleta, os oócitos são analisados sob estereomicroscópio e classificados em diferentes graus, de acordo com a presença das células do *cumulus* e características do ooplasma (SHIRAZI et al., 2005), sendo selecionados para a posterior maturação *in vitro*. Esta classificação passa pelos estágios I, II, III e IV, sendo o grau I o melhor estágio, declinando sua qualidade até o estágio IV, sem a presença de células do *cumulus* ou com desenvolvimento parado (GONÇALVES, 2002; LEAL, 2008). A presença das células do *cumulus*, bem como sua íntima associação com oócito por meio das junções GAP comunicantes (GJCs), é fundamental para aquisição de competência oocitária para suportar os posteriores eventos da fertilização e do desenvolvimento embrionário (SHIMADA E TERADA, 2002).

### **Maturação *in vitro* (MIV)**

Em bovinos, o primeiro bezerro nascido de PIV a partir de um oócito, cuja maturação foi realizada *in vitro*, nasceu em 1981. A maturação é essencial no processo de PIV, pois é o momento em que o oócito adquire capacidade para ser posteriormente fecundado. Assim, a maturação dos oócitos depende da eficiência do método de colheita e principalmente do método de maturação *in vitro*, pois somente os oócitos maturados nuclear e citoplasmaticamente poderão ser fecundados (BRACKET et al., 1982).

Esta etapa, que ocorre em um período de 22 a 24 horas, tem recebido a atenção de pesquisadores que visam melhorar os resultados da produção *in vitro* de embriões (PARRISH, 2014), dada a sua importância, visto que envolve uma série de transformações nucleares, citoplasmáticas e moleculares que tornam o gameta feminino apto a ser fecundado (SMITZ et al., 2004). Diversos estudos que estão sendo realizados visam entender as transformações que ocorrem no gameta feminino levando em consideração o estresse térmico (RODRIGUES et al., 2018), a qualidade folicular e oocitária (BARUSELLI et al., 2012), a alteração dos meios convencionais (OLIVEIRA et al., 2018) e as diferenças entre raças (GUIMARÃES, 2018), visando melhores índices no processo

de MIV e conseqüentemente na PIV. De acordo com Thompson et al. (2000) entre 18 a 22 horas são necessárias para que ocorra a maturação nuclear em bovinos, passando do estágio de diplóteno da prófase I da primeira divisão meiótica para o estágio de metáfase II.

Existem vários métodos que já foram testados e que podem ser utilizados durante a MIV em bovinos, sendo que a grande maioria dos laboratórios tem optado pela suplementação do meio de maturação com soro fetal bovino (SFB) e gonadotrofinas (FSH, LH e estradiol) em condições controladas de atmosfera gasosa e temperatura (RODRIGUES et al., 2000). Em contraponto, atualmente o papel do SFB tem sido contestado por alguns grupos de pesquisa, Oliveira et al., (2018) avaliaram as taxas de clivagem e taxa de produção de blastocisto em embriões produzidos com meios com presença e meios com a ausência de SFB e obtiveram um aumento de 7% na taxa de clivagem com a ausência de SFB, mas uma diminuição de 9% na taxa de blastocisto, gerando um efeito bifásico do SFB na produção de embriões bovinos.

A adequação dos meios e as diferenças entre protocolos utilizados por diferentes pesquisadores também pode ser vista como uma tentativa de avanço e de melhoria na qualidade da maturação, após a MIV, os oócitos estão aptos à fecundação (AVELINO et al., 2002).

### **Fecundação *in vitro* (FIV)**

Após o processo de maturação dos oócitos e separação dos espermatozoides viáveis, deve-se proporcionar um ambiente adequado para que ocorra a fecundação, para tanto os oócitos são retirados da placa de MIV e alocados em outra placa com meio com características necessárias para a manutenção da qualidade oocitária e atividade espermática (GONÇALVES et al., 2002).

A fecundação *in vitro* ocorre através da incubação de oócitos maduros com espermatozoides capacitados, em meio de fecundação, após a fusão das membranas e o emparelhamento dos pró-núcleos feminino e masculino, origina-se o zigoto (OLIVEIRA et al., 2014) com novo arranjo citoplasmático, neste momento se inicia a formação de um novo organismo multicelular com outro potencial genético e se iniciará o processo de clivagem até a formação do blastocisto (GONÇALVES et al., 2002).

No processo de fertilização *in vitro*, são usados espermatozoides de palhetas de sêmen congelado e o sistema baseado na separação pelo gradiente Percoll tem sido o método mais comum para a obtenção da fração espermática viva após o descongelamento (GALLI, 1996). *In vivo*, o processo acontece durante a passagem do espermatozoide pelo trato genital feminino, e envolve a desestabilização da membrana plasmática e hiperativação espermática. *In vitro*, o processo de capacitação é desencadeado por glicosaminoglicanas, como a heparina, que são adicionadas aos meios de fecundação (VARAGO et al., 2008).

Ao entrar em contato com o oócito, na presença de cálcio extracelular, o espermatozoide capacitado se liga aos receptores presentes na zona pelúcida e sofre a reação acrossômica, determinada pela fusão das membranas plasmática e acrossomal. O período de incubação dos oócitos com os espermatozoides varia entre 12 a 20 horas (SANGILD et al., 2000).

### **Cultivo *in vitro* (CIV)**

Na PIVE os oócitos fertilizados, agora denominados zigotos, são trocados novamente de placa, retirados da placa de FIV e alocados agora em uma placa de “cultivo” com meios que podem variar entre o KSOM, SOF ou TCM-199 (GONÇALVES et al., 2002). O cultivo *in vitro* corresponde à etapa de desenvolvimento do oócito fertilizado até o estágio de blastocisto (SANGILD et al., 2000). É durante este período de desenvolvimento pré-implantação que ocorrem eventos como ativação do genoma embrionário, processo de divisão celular, compactação dos blastômeros no estágio de mórula e início da diferenciação embrionária com a formação da blastocele (HOSHI, 2003).

O período de desenvolvimento embrionário pré-implantação é marcado por importantes eventos, como clivagem, diferenciação do trofoblasto e embrioblasto, formação e expansão da blastocele e rompimento da zona pelúcida (LONERGAN et al., 1999).

As condições de cultivo *in vitro* são consideradas muito importantes para que bons índices de produção de embriões sejam alcançados, razão pela qual, inúmeras pesquisas têm sido realizadas visando avaliar o efeito que diferentes fatores, intrínsecos e extrínsecos, possam exercer sobre o metabolismo e capacidade de desenvolvimento destes embriões, como por exemplo, a composição dos meios de cultivo e condições de temperatura e atmosfera gasosa, a adição de aminoácidos, vitaminas, macromoléculas e fatores de crescimento, assim como o uso de soro (NAGAI, 2001). Embora todas as condições artificiais no cultivo tentem mimetizar as condições do trato reprodutivo, ainda não se conseguiu um ambiente com condições ideais (LIMA, 2018), sendo necessários, diversos estudos para o aperfeiçoamento destes meios de cultivo (HANSEN et al., 2008).

### **Classificação dos embriões**

O desenvolvimento embrionário *in vitro* é avaliado no 6º dia de cultivo, visualizando-se a compactação dos blastômeros e início da formação da blastocele, sendo que no 7º dia é feita a seleção e avaliação final dos embriões para a transferência a fresco ou para o congelamento (THOMPSON, 2000). Já Gonçalves et al., (2002), relata que a avaliação final pode ser realizada até mesmo no 10º dia pós-fecundação.

A classificação morfológica é uma ferramenta indispensável para a seleção dos embriões aptos à transferência e criopreservação. Estruturas que se apresentam viáveis, aptas ao desenvolvimento pós-implantacional e com maior tolerância ao congelamento normalmente correspondem a estruturas bem desenvolvidas morfológicamente (OLIVEIRA et al., 2014).

Ao final do cultivo *in vitro* é realizada a taxa de produção de blastocistos, ou seja, o número total de blastocistos expandidos produzidos em relação ao número de oócitos que foram selecionados (GONÇALVES et al., 2002).

### **Criopreservação de embriões**

A criopreservação é uma maneira de solucionar problemas relacionados com o armazenamento de embriões produzidos *in vivo* ou *in vitro* não transferidos e o seu domínio torna viável a formação de bancos de embriões, promovendo a oportunidade de se preservar material genético fundamental no melhoramento genético

dos plantéis, podendo ser efetuado com maior rapidez e eficiência, mesmo em pequenas populações de animais, com a possibilidade de disseminação do material genético de animais zootecnicamente superiores (SIQUEIRA-PYLES et al., 2003).

No entanto, percebeu-se que o abaixamento da temperatura, em qualquer grau, afeta de forma muito mais drástica o ovócito bovino, em relação ao de outras espécies de mamíferos (ARAV et al., 1996). Khurana e Niemann (2000) ressaltaram que o manejo das receptoras seria o mais interessante, mas afirmam a sua inviabilidade, visto que, a estimativa do número de blastocistos produzidos é sempre muito imprecisa.

Embriões bovinos são estruturas com apenas cerca de 90 células, envoltas pela zona pelúcida, o que torna o processo de criopreservação bastante complexo, pois a perda ou injúria destas células pode ser irreparável, principalmente se atingir algum tipo celular específico, como a massa celular interna ou trofotoderma (OLIVEIRA et al., 2014).

De acordo com Dode et al., (2013), dois métodos são utilizados para a criopreservação de embriões: congelamento lento ou clássico e vitrificação. Sendo que o congelamento clássico, método mais utilizado, utiliza baixas quantidades de crioprotetores, contudo permite a formação de cristais de gelo (efeito solução), que, em maior ou menor escala, resultam em lesões às membranas e organelas. Segundo o mesmo autor, neste processo, controla-se a queda da temperatura até que se atinja - 32°C e, após isso, mergulham-se as palhetas no nitrogênio líquido.

### **Considerações Finais**

De acordo com a revisão de literatura realizada, pode-se perceber que a produção *in vitro* de embriões, juntamente com as demais biotécnicas da reprodução, foi responsável em parte pelo grande desenvolvimento que a pecuária brasileira obteve nos últimos anos. A técnica envolve várias etapas e o sucesso nos resultados depende do êxito de cada uma dessas etapas do processo.

A produção *in vitro* de embriões a partir de ovários coletados em frigorífico serve para o aperfeiçoamento da técnica e para fins de pesquisa, mas a coleta de oócitos em animais vivos é capaz de reduzir o intervalo de gerações entre as espécies, uma vez que possibilita inclusive, a reprodução de animais em idade muito jovem.

Dentre os benefícios da técnica podem-se ressaltar a redução do intervalo entre gerações, a reprodução de animais em situações problemáticas, o aumento do número de produtos por fêmea e a reprodução de animais mortos e até mesmo considerados extintos. O Brasil, recentemente ultrapassou a barreira entre a produção de embriões produzidos *in vivo versus in vitro* o que demonstra a magnitude desta área para a pecuária nacional

Ainda existe um longo caminho a ser percorrido no tocante ao aperfeiçoamento da técnica, mas os esforços realizados até então têm garantido bons resultados. Além de ser uma das grandes responsáveis pelo crescimento da pecuária animal, em números e qualidade, nos últimos anos, a PIVE juntamente com as demais biotécnicas da reprodução foi uma das principais protagonistas da expansão do mercado pecuário nacional até o momento.



## Referências

- ABIEC, **Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne**. Perfil da pecuária no Brasil – Relatório anual 2019. Disponível em: <<http://www.abiec.com.br/control/uploads/arquivos/sumario2019portugues.pdf>>. Acesso em: 09 Set 2019.
- ARAV, A; ZERON, Y.; LESLIE, S.; BEHBOODI, E.; ANDERSON, G.B.; CROWE, J.H. Phase Transition Temperature and Chilling Sensitivity of Bovine Oocytes. *Animal Science*, Agriculture Research Organization (ARO), POB 6 Bet Dagan, 50250 Israel. **Animal Science**. Section of Molecular and Cellular Biology, University of California, Davis, California. 1996.
- AVELINO, K.B., VANTINI, E., SENEDA, M.M., et al. In vitro production of embryos of cows with acquired infertility. **Theriogenology**, v.57, p.656, 2002.
- BARUSELLI PS, SÁ FILHO MF, FERREIRA RM, SALES JNS, GIMENES LU, VIEIRA LM, MENDANHA, MF, BÓ GA. Manipulation of follicle development to ensure optimal oocyte quality and conception rates in cattle. **Reprod Domest Anim**, v.47, p.134-141, 2012.
- BARUSELLI, PS, ELLIFF, FM, SILVA, LG, CATUSSI, BLC, BAYEUX, B. Estratégias para aumentar a produção de embriões em bovinos. **Anais do XXIII Congresso Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA-2019)**; Gramado, RS, 15 a 17 de maio de 2019.
- BERNARDI ML. Produção in vitro de embriões ovinos. **Acta Sci Vet**, v.33, p.1-16, 2005
- BERTOLINI, M.; BERTOLINI, L.R. Advances in reproductive technologies in cattle from artificial insemination to cloning. **Rev. Med. Vet. Zoot.** v.56, p. 184-94, 2009.
- BRACKETT, B.G.; BOUSQUET, D.; BOICE, M.L.; DONARVICK, W.J.; E VANS, J.F.; DRESSEL, M.A. Normal development following in vitro fertilization in the cow. **Biol. Reprod.**, v.27, p.147-158, 1982.
- CALLESEN, H.; GREVE, T.; CHRISTENSEN, F. Ultrasonically guided aspiration of bovine follicular oocytes. **Theriogenology**, Stoneham, v.27, p.217, 1987. (Abstract).
- CHACUR, M.G.M., VALENTIM, N.C., MARTINEZ, A.I.S., TOSTES, R.A., KRONKA, S.N. Morfometria de ovários de fêmeas zebu *Bos taurus indicus* coletados em matadouro. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 34, n. 1, p. 65-70, 2006.
- PESQ. AGROP. GAÚCHA, Porto Alegre, v.25, ns.1/2, p. 120-132, 2019

DA SILVA, J.S.; BORGES, L.S.; MARTINS, L.E.L.L.; LIMA, L.A.; BARBOSA, Y.G.S; SILVA, N.A.; PAIVA BRITO T.K. Aspectos comerciais da transferência de embriões e fertilização in vitro em bovinos – revisão. **Nutritime Revista Eletrônica**. Vol. 12, Nº 05, set/out de 2015 ISSN: 1983-9006. 2015.

DAYAN, A. **Fatores que interferem na produção de embriões bovinos mediante aspiração folicular e fecundação in vitro**. Dissertação – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Botucatu. UNESP. 2001.

DODE, M.A.N; LEME, L. O.; SPRÍCIGO, J.F.W. Criopreservação de embriões bovinos produzidos in vitro. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, Belo Horizonte, v.37, n.2, p.145-150, abr./jun. 2013

FABER, D. C.; MOLINA, J. A.; OHLRICHS, C. L.; VANDER ZWAAG, D. F.; FERRÉ, L. B. Commercialization of animal biotechnology. **Theriogenology**, v. 59, p. 125-138, 2003.

GALLI, C.; LAZZARI, G. Practical aspects of IVM/IVF in cattle. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v.42, p.371-379, 1996.

GIBBONS A, BONNET FP, CUETO MI, SALAMONE D, CATALA M. Colheita de oócitos guiada por laparoscopia em caprinos e ovinos. **Acta Sci Vet**, v.36, supl. 2, p.s223-230, 2008.

GONÇALVES, LRL, VIANA, JHM. Situação atual da produção de embriões bovinos no Brasil e no mundo. **Anais do XXIII Congresso Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA-2019)**; Gramado, RS, 15 a 17 de maio de 2019.

GONÇALVES PBD, FIGUEIREDO JR, FREITAS VJF. **Biotécnicas Aplicadas à Reprodução Animal**. 1.ed. São Paulo, Brasil: Varela, 340p, 2002.

GOODHAND, K. L. et al. In vivo oocyte recovery and in vitro embryo production from bovine donors aspirated at different frequencies or following fsh treatment. **Theriogenology**, Stoneham, v.51, p.951-961, 1999.

GUIMARÃES, ASB. Produção in vitro de embriões bovinos de doadoras zebuínas (*Bos indicus*) e taurinas (*Bos taurus*). Tcc apresentado ao curso de Med Vet da **Universidade Federal do Recôncavo da Bahia**. 2018.

HANSEN, P. Survival vs death pathways in the thermally-stressed preimplantation embryo. **Biology of Reproduction**. Monroe ST, Madison. 2008.

HASLER, J. F. Forty years of embryo transfer in cattle: a review focusing on the journal *Theriogenology*, the growth of the industry in North America, and personal reminiscences. **Theriogenology**, v. 81, p. 152-169, 2014.

HOSHI, H. In vitro production of bovine embryos and their application for embryo transfer. **Theriogenology**, v.59, p.675-685, 2003.

KHURANA N.K., NIEMANN H. Effects of cryopreservation on glucose metabolism and survival of bovine morulae and blastocysts derived in vitro or in vivo. **Theriogenology**, v.54, p.313-326, 2000.

LEAL, L. S. Estudo morfofisiométrico de ovários e maturação ovocitária in vitro em bubalinos e bovinos nas diferentes fases da atividade reprodutiva. 2008. 178 f. Tese (doutorado) - **Universidade Estadual Paulista**, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, 2008.

LEIVAS, G.F.; BRUM DOS SANTOS, D.; MEZZALIRA, A.; PILLA CÁCERES, L. F.; BERNARDI, M.L; RUBIN BATISTELLA, M. I.; SILVA MONDINO, C.A. Transporte de oócitos bovinos em meio de maturação sem controle de atmosfera gasosa. **Ciência Rural**, vol. 34, núm. 1, janeiro - fevereiro, pp. 219 – 224, 2004.

LIMA, C.B. A relação entre a cinética de clivagem e a resposta metabólica de embriões bovinos submetidos à condições estressoras durante o cultivo *in vitro*. Tese apresentada ao PPG Interunidades em Biotecnologia – Instituto Butantan, **Universidade de São Paulo – USP**. São Paulo – SP. 2018

LONERGAN, P.; KHATIR, H.; PIUMI, F.; RIEGER, D.; HUMBLLOT, P.; BOLAND, M. P. Effect of time interval from insemination to first cleavage on the developmental characteristics, sex ratio and pregnancy rate after transfer of bovine embryos. **J. Reprod. Fertil.**, v. 117, p. 159-167, 1999.

NAGAI, T. The improvement of in vitro maturation systems for bovine and porcine oocytes. **Theriogenology**, v.55, p.1291-1301, 2001.

OLIVEIRA, C.S.; SERAPIÃO, R.V.; QUINTÃO, C.C.R. Biotécnicas da reprodução em bovinos: minicursos ministrados durante o 3º Simpósio “Biotécnicas da Reprodução em Bovinos” no Laboratório de Reprodução Animal do Campo Experimental Santa Mônica – Juiz de Fora: **Embrapa Gado de Leite**, 52 p. (Embrapa Gado de Leite. Documentos, 175). 2014.

OLIVEIRA, A.M, CAMARGO, J; SUDANO, M.J. Efeito da ausência do SFB sobre conteúdo lipídico e produção in vitro de embriões bovinos. Anais do 10º SALÃO INTERNACIONAL DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO - **SIEPE Universidade Federal do Pampa** | Santana do Livramento, 6 a 8 de novembro de 2018.

PARRISH, J. J. Bovine in vitro fertilization: in vitro oocyte maturation and sperm capacitation with heparin. **Theriogenology**, v. 81, p. 67-73, 2014.

RENESTO, A. ASSOCIAÇÃO DAS BIOTÉCNICAS: ASPIRAÇÃO FOLICULAR GUIADA POR ULTRASONOGRAFIA E SUPEROVULAÇÃO NA PRODUÇÃO IN VITRO E IN VIVO DE EMBRIÕES BOVINOS. Dissertação - **Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP**. Jaboticabal. 2004

RIZOS, D.; CLEMENTE, M.; BERMEJO-ALVAREZ, P.; DE LA FUENTE, J.; LONERGAN, P.; GUTIÉRREZ-ADÁN, A. Consequences of in vitro culture conditions on embryo development and quality. **Reprod. Domest. Anim.**, v. 43, Suppl. 4, p. 44-50, 2008.

RODRIGUES, C.F.M., GARCIA, J.M. Fecundação in vitro em bovinos: aplicação comercial. **Arq. Fac. Vet. UFRGS Supl.**, v.28, p.186-187, 2000.

RODRIGUES, T.A; PAULA-LOPES, F.F. Efeitos deletérios da temperatura elevada na função de oócitos bovinos: o papel do fluido folicular. VI Congreso Aupa - Asociación Uruguaya De Producción Animal 19, 20, 21 de Marzo - 2018 Campus Interinstitucional Tacuarembó, Uruguay. 2018.

SANGILD, P.T., SCHMIDT, M., JACOBSEN, H., et al. Blood chemistry, nutrient metabolism, and organ weights in fetal and newborn calves derived from in vitro produced bovine embryos. **Biol. Reprod.**, v.62, p.1495-1504, 2000.

SENEDA MM. Aspectos Técnicos e Biológicos da Obtenção in vivo de oócitos Bovinos. Jaboticabal, SP: **University of São Paulo State (UNESP)**, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. 76pp. Dissertation. 2001.

SHIMADA, M.; TERADA, T. FSH and LH induce progesterone production and progesterone receptor synthesis in cumulus cells: a requirement for meiotic resumption in porcine oocytes. **Mol Hum Reprod**, vol.8, p.612-618, 2002.

SHIRAZI, A.; SHAMS-ESFANDABADI, N.; HOSSEINE, S.M. A comparison of two recovery methods of ovine oocytes for in vitro maturation. **Small Rumin Res**, v.58, p.283-286, 2005.

SIQUEIRA-PYLES, E.S.C. Criopreservação de embriões bovinos. Monografia apresentada à disciplina “Seminários II” do programa de pós-graduação em Medicina Veterinária, nível doutorado, área de concentração em Reprodução Animal da **Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP**, Campus de Botucatu, 2003.

SMITZ, J. E. J.; NOGUEIRA, D.; VANHOUTTE MATOS, D. G.; CORTVRINDT, R. N. Oocyte: in vitro maturation. In: SUH, C. S.; SONNTAG, B.; ERICKSON, G. F. The ovarian life cycle: a contemporary view. **Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders**, v. 3, p. 5-12, 2004.

SOLLECITO, N.V. et al. Atividade antioxidante de óleo essencial obtido de *Lippia origanoides* melhora a qualidade de embriões bovinos produzidos in vitro. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** [online]. 2019, vol.71, n.3, pp.723-731. Epub June 14, 2019.

TANEJA, M.; BOLS, P.E.J.; VELDE, V. Development competence of juvenile calf oocytes in vitro and in vivo: influence of donor animal, variation and repeated gonadotrooin stimulation. **Bio. Reprod.**, Champaign, v. 62, p. 206-213, (2000).

THOMPSON, J.G. In vitro culture and embryo metabolism of cattle and sheep embryos - a decade of achievement. **Anim. Reprod. Sci.**, v.60-61, p.263-275, 2000.

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.**, v. 32, p. 100-109, 2008.

VIANA JHM, FIGUEIREDO ACS, SIQUEIRA LGB. Brazilian embryo industry in context: pitfalls, lessons, and expectations for the future. **Anim Reprod**, v.14, p.476-481, 2017.

VIANA JHM. Statistics of embryo production and transfer in domestic farm animals: Is it a turning point? In 2017 more in vitro-produced than in vivo-derived embryos were transferred worldwide. **Embryo Transfer Newsl**, v.36(4), p.8-25, 2018.

WANI NA, WANI GM, KHAN MZ, SALAHUDIN S. Effect of oocyte harvesting techniques on in vitromaturation and in vitro fertilization in sheep. **Small Rumin Res**, v.36, p.63-67, 2000.

WANI NA. In vitro maturation an in vitro fertilization of sheep oocytes. **Small Rumin Res**, v.44, p.89-95, 2002.