

## SELEÇÃO, CLASSIFICAÇÃO E MATURAÇÃO *IN VITRO* DE OÓCITOS DE FÊMEAS BOVINAS

ISABELA RODRIGUES DIAS<sup>1\*</sup>; ISADORA CORAZZA CASTAGNARO<sup>2</sup>; MATHEUS  
RAMOS ROSIN<sup>3</sup>; ADALGIZA PINTO NETO<sup>4</sup>

### 1. Introdução

A produção *in vitro* de embriões (PIVE) destaca-se como uma ferramenta importante para aprimorar o ganho genético e otimizar a eficiência reprodutiva e produtiva em rebanhos destinados à produção de leite e carne (Mello *et al.*, 2016). O ovário desempenha papel fundamental no processo reprodutivo, servindo como reservatório de oócitos que se desenvolvem durante a vida fetal ou após o nascimento das fêmeas. Poucos são os folículos que chegam ao seu ápice de desenvolvimento ao longo da vida reprodutiva do animal, uma vez que a grande maioria sofre atresia (Palma *et al.*, 2012; Filipiak *et al.*, 2016).

Para que os folículos ovarianos atinjam a maturação, e possam ser ovulados, é necessário que sejam cercados por células foliculares (células da granulosa e células do cumulus oophorus) (Palma *et al.*, 2012). A dinâmica de crescimento folicular é marcada por diferentes fases de desenvolvimento, onde os folículos primordiais são constituídos por um oócito rodeado de células imaturas, o qual progride para os estádios de folículo primário, secundário, terciário ou folículo de Graaf (Berisha *et al.*, 2009; FILIPIAK *et al.*, 2016).

O folículo maduro na superfície de ovários de abatedouro, é visível como uma pequena vesícula cheia de líquido, sendo composto pelas camadas das células da teca externa e interna, membrana basal, oócito e seu núcleo ou vesícula germinativa, além de um acúmulo de células da granulosa conhecido como cumulus (Gilchrist *et al.*, 2004; Scaramuzzi *et al.*, 2011).

Com os avanços nas biotecnologias reprodutivas, é crescente a utilização de técnicas

---

<sup>1</sup>Bolsista ITI Fundação Araucária. Acadêmica Medicina Veterinária. Campus Realeza. Universidade Federal da Fronteira Sul. Contato: [isabela.dias@estudante.uffs.edu.br](mailto:isabela.dias@estudante.uffs.edu.br)

<sup>2</sup>Curso de Medicina Veterinária. Campus Realeza. Universidade Federal da Fronteira Sul.

<sup>3</sup>Programa de Pós-Graduação em Saúde, Bem-estar e Produção Animal Sustentável na Fronteira Sul. Campus Realeza. Universidade Federal da Fronteira Sul.

<sup>4</sup>Orientadora. Curso de Medicina Veterinária e Programa de Pós-Graduação em Saúde, Bem-estar e Produção Animal Sustentável na Fronteira Sul. Campus Realeza. Universidade Federal da Fronteira Sul.

que impulsionam a produção de animais geneticamente superiores, o que é alcançado por meio da utilização de fêmeas doadoras e de seu material genético. Na coleta do gameta feminino, são aspirados grandes quantidades de oócitos imaturos, os quais são maturados, fertilizados e cultivados, resultando em embriões viáveis com genética de alto valor, que serão transferidos em fêmeas receptoras (Varago *et al.*, 2008).

No final do desenvolvimento, o folículo maduro ou de Graaf é capaz de responder à descarga pré-ovulatória de gonadotrofinas, como o Hormônio Luteinizante (LH) e o Hormônio Folículo Estimulante (FSH), viabilizando a reestruturação completa do folículo, resultando na ovulação de um oócito (Scaramuzzi *et al.*, 2011; Berisha *et al.*, 2017).

Nesse contexto, a PIVE vem sendo empregada para aprimorar os índices de produção dos rebanhos, sendo uma técnica que tem sido melhorada com o objetivo de maximizar o potencial reprodutivo das fêmeas (Nogueira *et al.*, 2007). A PIVE consiste em três etapas principais: a maturação *in vitro* de oócitos (MIV), a fertilização *in vitro* (FIV) e o cultivo *in vitro* de embriões (CIV). Durante a maturação, ocorrem diversas alterações no citoplasma e no núcleo do oócito, estimuladas pelo ambiente de cultivo, para permitir a fecundação e alcançar o estágio de blastocisto (Dadarwal *et al.*, 2015). As células da granulosa e do cumulus oophorus desempenham um papel fundamental durante a maturação *in vitro* do oócito, sendo essenciais para a aquisição da competência do oócito para ser fecundado e se desenvolver (Staigmiller; Moor, 1984).

Essas descobertas destacam a importância de compreensão da composição proteica do oócito e suas interações com as células circundantes, além dos vários fatores envolvidos no processo de maturação oocitária, permitindo a maximização das técnicas de reprodução assistida e otimização do sucesso da reprodução bovina (Gottardi; Mingoti, 2009; Coticchio *et al.*, 2015).

Diante do exposto, objetiva-se com o estudo selecionar, classificar e avaliar a maturação *in vitro* de oócitos selecionados de ovários de fêmeas bovinas provenientes de abatedouro.

## 2. Metodologia

O estudo foi realizado no Laboratório de Reprodução Animal - LABRA da Universidade Federal da Fronteira Sul, *Campus* Realeza, Paraná. Foram realizadas duas coletas de ovários de fêmeas bovinas provenientes de abatedouro, em um frigorífico comercial.

No LABRA, os ovários foram lavados em solução estéril, e todos os folículos ovarianos

puncionados. Em seguida, o fluido folicular aspirado foi direcionado para tubo plástico estéril, filtrado e os oócitos foram recuperados, selecionados e classificados com auxílio de estereomicroscópio, como se segue:

- . Grau I: oócito com citoplasma homogêneo, COCs compactos, escuro, contendo diversas camadas de células do cumulus;
- . Grau II: oócito com citoplasma heterogêneo com regiões escuras na periferia, COCs compactos, de coloração clara, com três a cinco camadas células do cumulus;
- . Grau III: oócito com citoplasma irregular, COCs escuros, com poucas células do cumulus, e
- . Grau IV: oócito com citoplasma uniforme, sem presença de células do cumulus completamente desnudos e atrésicos.

Os COCs classificados em Grau I, II e III seguiram para a etapa de maturação *in vitro* (MIV) em meio base e em meio Bioklone<sup>R</sup>, enquanto os COCs grau IV foram descartados.

Os resultados foram tabulados, organizados e apresentados sob a forma descritiva.

### 3. Resultados e Discussão

Na coleta 1 foram utilizados 267 oócitos, dos quais 127 foram maturados em meio base e 140 em meio Bioklone<sup>R</sup>. Entre os oócitos maturados no meio base, observou-se que 25 (19,7%) foram classificados como GI, 38 oócitos (29,9%) foram classificados como GII e 64 oócitos (50,4%) foram classificados como GIII. No grupo maturado em meio Bioklone<sup>R</sup>, 28 oócitos (20%) foram classificados como GI, 42 (30%) como GII e 70 (50%) como GIII.

Na coleta 2 foram utilizados 105 oócitos, dos quais 54 foram maturados em meio base e 51 foram maturados em meio Bioklone<sup>R</sup>. Entre os oócitos maturados em meio base, 1 (1,9%) foram classificados como GI, 18 (33,3%) como GII e 35 (64,8%) como GIII. No grupo maturado em meio Bioklone<sup>R</sup>, 9 (17,6%) oócitos foram classificados como GI, 12 (23,5%) como GII e 30 (58,8%) como GIII.

Os dados indicam que o meio de maturação influencia a qualidade do oócito. No entanto, entre os meios utilizados, a proporção entre oócitos Grau I, II e III foi bastante semelhante, embora com uma amostragem reduzida.

Estudos complementares, com uma amostra com maior número de oócitos, deverão ser desenvolvidas, a fim de confirmar os resultados observados.

#### 4. Conclusão

Nas condições desse estudo, a seleção e classificação morfológica dos oócitos de fêmeas bovinas apresentou desempenho semelhante entre os meios utilizados. No entanto, uma amostragem maior de oócitos deverá ser utilizada a fim de se confirmar esse resultado.

Ao se considerar que a morfologia é um dos critérios iniciais para avaliação da qualidade oocitária, a inclusão de análises complementares, como a avaliação da maturação nuclear e o desenvolvimento embrionário, será fundamental para futuras etapas de pesquisa, ampliando o conhecimento sobre a eficácia dos meios utilizados. Destarte, este trabalho contribui para a base de conhecimento necessária para o aprimoramento dos processos de seleção e maturação *in vitro* de oócitos bovinos.

#### Referências Bibliográficas

- BERTAN, C. M. *et al.* In vitro embryo production in *Bos indicus* cattle: Looking back and forward. **Animal Reproduction**, v. 16, n. 4, p. 819-831, 2019.
- COTICCHIO, Giovanni *et al.* Oocyte maturation: gamete-somatic cells interactions, meiotic resumption, cytoskeletal dynamics and cytoplasmic reorganization. **Human reproduction update**, v. 21, n. 4, p. 427-454, 2015.
- DADARWAL, D. *et al.* Organelle reorganization in bovine oocytes during dominant follicle growth and regression. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v. 13, p. 1-11, 2015.
- FILIPIAK, Y.; VIQUEIRA, M.; BIELLI, Alejandro. Desarrollo y dinámica de los folículos ováricos desde la etapa fetal hasta la prepuberal en bovinos. **Veterinaria** (Montevideo), v. 52, n. 202, p. 2-2, 2016.
- GILCHRIST, Robert B.; LANE, Michelle; THOMPSON, Jeremy G. Oocyte-secreted factors: regulators of cumulus cell function and oocyte quality. **Human reproduction update**, v. 14, n. 2, p. 159-177, 2008.
- GILCHRIST, R. B.; RITTER, L. J.; ARMSTRONG, D. T. Oocyte-somatic cell interactions during follicle development in mammals. **Animal reproduction science**, v. 82, p. 431-446, 2004.
- GILCHRIST, R. B.; RITTER, L. J.; ARMSTRONG, D. T. Interações oócito-células somáticas durante o desenvolvimento folicular em mamíferos. **Anim Reprod Sci.** 2004 Jul;82-83:431-46.
- GOTTARDI, F. P.; MINGOTI, G. Z. Maturação de oócitos bovinos e influência na aquisição da competência para o desenvolvimento do embrião. **Rev Bras Reprod Anim.**, v. 33, n. 2, p. 82-94, 2009.
- GUEMRA, S.; MONZANI, P. S.; SANTOS, E. S.; ZANIN, R.; OHASHI, O. M.; MIRANDA, M. S.; ADONA, P. R. Maturação *in vitro* de oócitos bovinos em meios suplementados com quercetina e seu efeito sobre o desenvolvimento embrionário. **Arq Bras Med Vet Zootec.**, v. 65, n. 6, p. 1616-1624, 2013.
- MARIANO R. S. G. *et al.* Aspiração folicular em ruminantes – Revisão de Literatura. **Revista Investigação Medicina Veterinária**, v. 14, n.6, p. 1-8, 2015.
- NOGUEIRA, M. F. G. *et al.* Expression of LH receptor mRNA splice variants in bovine granulosa cells: changes with follicle size and regulation by FSH *in vitro*. **Molecular**

**Reproduction and Development: Incorporating Gamete Research**, v. 74, n. 6, p. 680-686, 2007.

OLIVEIRA, L. R. M. de; AQUINO, L. V. C. de; SANTOS, M. V. de O.; BERTINI, L. M.; PEREIRA, A. F. Efeitos da Suplementação do meio com diferentes antioxidantes durante a maturação in vitro de oócitos bovinos sobre o status oxidativo. **Ciência Animal**, v. 30, n. 4, p. 209–213, 2023.

PALMA, Gustavo Adolfo *et al.* Biology and biotechnology of follicle development. **The Scientific World Journal**, v. 2012, 2012.

SANTOS, S. do S. D.; DANTAS, J. K.; MIRANDA, M. dos S.; BIONDI, F. C.; OHASHI, O. M. Cinética da maturação nuclear in vitro de oócitos bubalinos. **Braz J Vet Res Anim Sci.**, v. 39, n. 5, 2002.

SCARAMUZZI, R. J. *et al.* Regulation of folliculogenesis and the determination of ovulation rate in ruminants. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 23, n. 3, p. 444-467, 2011.

STAIGMILLER, R. B.; MOOR, R. M. Effect of follicle cells on the maturation and developmental competence of ovine oocytes matured outside the follicle. **Gamete research**, v. 9, n. 2, p. 221-229, 1984.

VARAGO, F. C.; MENDONÇA, L. F.; LAGARES, M. de A. Bovine in vitro embryo production: state of art and perspective of a constant evolution technique. 2008.

VIANA, J. H. M. *et al.* Short intervals between ultrasonographically guided follicle aspiration improve oocyte quality but do not prevent establishment of dominant follicles in the Gir breed (*Bos indicus*) of cattle. **Animal reproduction science**, v. 84, n. 1-2, p. 1-12, 2004.

**Palavras-chave:** PIVE; Reprodução Animal; Ovários; Morfologia; Bovinos.

**Nº de Registro no sistema Prisma:** 2024-0306

#### Financiamento

