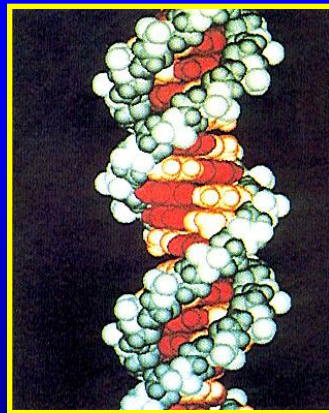


MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS  
FACULDADE DE AGRONOMIA ELISEU MACIEL  
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA  
MELHORAMENTO ANIMAL

**TECNICAS DE AMPLIFICAÇÃO REPRODUTIVA  
E DE BIOTECNOLOGIA APLICADAS AO  
MELHORAMENTO ANIMAL**



# 1. INTRODUÇÃO

## ▪ **AMPLIFICAÇÃO REPRODUTIVA:**

- **A reprodução animal está limitada pela capacidade natural de cada uma das espécies domésticas;**
- **Em condições de monta natural, um macho pode servir um n.º determinado de fêmeas, dependendo da sua capacidade de serviço;**
- **Mesmo tratando-se de machos de alta libido e boa produção de sêmen, há um limite superior de fêmeas cobertas durante a estação reprodutiva;**
- **Relação touro/vaca = 1/40; carneiro/ovelha = 1/50;**
- **Há também um limite de progênie que a fêmea pode produzir em um determinado período de tempo, como bovinos e ovinos: produzem uma ou duas crias por parto.**

## ▪ **INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL:**

▪ É uma técnica de amplificação reprodutiva dos machos, permitindo um aumento considerável do número de fêmeas que podem ser acasaladas com o mesmo macho.

### ▪ **Etapas I.A.:**

▪ **Seleção dos machos:** animais de alto valor genético para caracteres de importância econômica (VGE; DEP; Produtor de espermatozóides contendo DNA geneticamente valioso, de alto valor comercial e com potencial para contribuir ao Melhoramento genético das populações;

- **Coleta de Sêmen**: vagina artificial, eletroejaculador e métodos manuais (massagem);
- **Avaliação do sêmen**: Controle de qualidade: motilidade, concentração, morfologia espermática e volume;
- **Diluição do sêmen**: espermatozóides dependem de glicose ou frutose para substrato energético. Utilizam-se estabilizantes e substâncias como CO<sub>2</sub>, glicerol e nitrogênio. O n.º de doses por ejaculado varia conforme a espécie: em bovinos vários centos, em suínos, ovinos e eqüinos entre 5 e 10 doses;
- **Utilização do Sêmen**: pode ser com sêmen fresco, refrigerado ou congelado.

## **Usos da I.A:**

- **M.A., através da obtenção de um maior n.º de progênie de machos de alto valor genético;**
- **Diminui a relação macho/fêmea, reduz a proporção selecionada e aumenta a intensidade de seleção, o que contribui para aumentar o ganho genético;**
- **Possibilita a organização de testes de progênie em grande escala;**
- **Permite realização de cruzamentos industriais entre raças, sem necessidade de adquirir animais;**
- **Absorção de raças,**

- **Conservação de raças em extinção;**
- **Controle de doenças;**
- **Elimina custos de produção e manutenção de machos no estabelecimento;**
- **Facilita coleta de dados de paternidade.**





## ▪ TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES:

- É uma técnica de amplificação reprodutiva das fêmeas, que permite aumentar o número de progênie produzidas por uma determinada fêmea (doadora).
- O alvo é implantar em fêmeas receptoras, embriões produzidos por fêmeas doadoras;
- O processo de T.E. consiste na estimulação hormonal dos ovários de uma vaca (doadora) para induzir o desenvolvimento e a maturação de vários folículos simultaneamente (**SUPEROVULAÇÃO**);
- Uma semana após os embriões são coletados por lavagem uterina e transferidos para vacas receptoras, que levarão a gestação à termo;



- Nos bovinos, cada processo de **SUPEROVULAÇÃO** e T.E. pode resultar em até 30 embriões, com uma média de 6 ou 7 embriões normais;
- **Fatores que afetam a eficiência da T.E.:**
  - Diferentes respostas individuais das vacas doadoras aos tratamentos hormonais para SUPEROVULAÇÃO;
  - Nível técnico da equipe que conduz a T.E.;
  - Escolha das técnicas de coleta e transferência dos embriões;
  - Grau de sincronização entre os ciclos estrais das fêmeas doadoras e receptoras;
  - Fertilidade natural das doadoras;
  - Qualidade do sêmen utilizado e dos embriões produzidos;
  - Nutrição e manejo dos animais.



- **Etapas da T.E.:**

- **Seleção das doadoras para um programa de T.E.:** os progenitores devem possuir genótipos comprovadamente superiores em relação aos caracteres de produção que tem importância econômica; Na escolha das **DOADORAS** consideram-se aspectos **SANITÁRIOS, CLÍNICOS REPRODUTIVOS** e de **IDADE**, bem como das **RECEPTORAS**, que devem ser vacas **SADIAS** e com **CICLO REGULAR**;
- **SUPEROVULAÇÃO:** Os resultados dependem do n.º de embriões de qualidade que possam ser obtidos de uma doadora;
- **I.A.: (TODAS ETAPAS)** Realizada aproximadamente 1 semana após o início da superovulação nas doadoras;

- **COLETA DE EMBRIÕES:** entre 6 e 8 dias após a I.A das doadoras é realizada a recuperação dos embriões através de coleta transcervical. A sonda de coleta passa pelo colo uterino e é fixada em um dos cornos por um balão de ar. O líquido é introduzido por gravidade e sua recuperação também. Utiliza-se um filtro especial que retém os embriões, os quais são recuperados em uma placa de Petri. Coleta = 70%;
- **ISOLAMENTO E CLASSIFICAÇÃO DOS EMBRIÕES:** Observa-se tamanho, forma, cor, citoplasma membrana pelúcida e vesículas sendo classificados em 6 categorias de qualidade (de excelente a não fecundado). **3 PRIMEIRAS APTAS À T.E.**

- **ESTOCAGEM DE EMBRIÕES:** Pode ser estocagem por curto tempo com temperaturas controladas e de longo tempo por congelamento (controlado e ultra-rápido);
- **SINCRONIZAÇÃO DO CICLO ESTRAL:** Tanto para I.A como para T.E o controle do ciclo das fêmeas é essencial. O objetivo é conseguir que as fêmeas estejam em cio em um determinado momento;
- **TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES:** INOVULAÇÃO = posicionar o embrião no útero da receptora;
- **RESULTADOS:** 2 a 3 meses depois é realizado o diagnóstico de gestação nas receptoras

▪ **Usos da T.E.:**

- Expansão rápida de núcleos de vacas selecionadas;
- Minimização ou controle da transmissão de doenças;
- Comércio de embriões;
- Teste de homozigose para genes dominantes;
- Conservação de raças;
- Pesquisas com embriões *in vitro* sobre interação G\*E;
- Produção de gêmeos para aumentar a eficiência da produção de carne.

**Obs.: Experimentos visando aumentar a taxa de ovulação e a ocorrência de parto gemelar em bovinos.**

Sexagem de embriões -

Sexagem de sêmen –

Vantagens: Produtor pode escolher o sexo que interessar- (bovinos de leite – fêmeas e bovinos de corte – machos)

FIV – Fertilização “*in vitro*”

- **CLONAGEM**

É a produção de indivíduos geneticamente idênticos, por reprodução assexuada, a partir do genoma de uma célula somática. Cada clone é uma cópia geneticamente exata do indivíduo original;

- **Consulte - [www.geneticaanimal.com.br/novo/clonagem.html](http://www.geneticaanimal.com.br/novo/clonagem.html)**
- **O uso potencial de clones no M.A. é a identificação de animais geneticamente superiores, e a sua multiplicação em larga escala.**
- **DESVANTAGEM: PERDA TOTAL DA VARIABILIDADE GENÉTICA NA POPULAÇÃO DEIXANDO-A VULNERÁVEL EM ASPECTOS COMO RESISTÊNCIA À DOENÇAS OU FATORES CLIMÁTICOS.**



## ▪ TRANSGENIA:

- Durante séculos os produtores têm realizado **seleção artificial** em várias raças e linhagens de animais domésticos objetivando aumentar a freqüência de **alelos favoráveis**;
- Quando o objetivo é a obtenção de **mudanças mais drásticas** no potencial genético, os produtores tem lançado mão de estratégias de **substituição de raças ou cruzamentos** transferindo genes de uma população para outra, dentro da mesma espécie;
- Na década passada foram desenvolvidas técnicas para transferir **genes específicos**, com efeitos desejáveis, não somente de uma raça para outra, mas de uma **ESPÉCIE para OUTRA**;
- O desenvolvimento de técnicas de introdução de genes em células somáticas e germinativas de animais domésticos foi um dos principais avanços tecnológicos ocorrido nas 2 últimas décadas;

- **ANIMAIS GENETICAMENTE MANIPULADOS** tem fornecido novos modelos de estudos da regulação gênica, da ação de oncogenes e das interações celulares envolvidas no sistema imunológico;
- A **TRANSGÊNESE ANIMAL** possibilita a geração de modelos animais precisos para estudo de doenças genéticas humanas;
- Outra aplicação é a produção de animais transgênicos que não produzam a rejeição, servindo como doadores de órgãos para **transplantes humanos**;
- Até o momento a produção de animais transgênicos para **produção de alimentos** ainda é pouco explorada, podendo se expandir a medida que se identifica, isola, sequencia e clona os genes e interesse;

- **ANIMAIS TRANSGÊNICOS**: aqueles que contêm moléculas de DNA exógeno, introduzidas por intervenção humana intencional, objetivando a expressão de novas características;
- O gene transferido denomina-se **TRANSGENE**;
- A integração não garante a expressão do transgene;
- **ANIMAIS TRANSGÊNICOS** seriam aqueles que expressam o transgene e que, quando acasalados com animais normais, produzem progênie que herdarão esse gene de forma mendeliana.

- **Várias técnicas** têm sido utilizadas para a introdução de genes em células germinativas e em células somáticas de várias espécies animais. As mais utilizadas para a produção de animais domésticos transgênicos são:
  - **Microinjeção de DNA em pronúcleo;**
  - **Infecção por retrovírus;**
  - **Células embrionárias indiferenciadas (“embryonic stem cells”);**
  - **Transferência de núcleos;**
  - **Espermatozóides como vetores;**
  - **Biolística;**
  - **Eletroporação;**
  - **Lipofecção;**

- Dependendo da técnica utilizada, o animal produzido pode constituir-se somente de células que carregam o transgene => **ANIMAIS TRANSGÊNICOS**;
- Ou, conjunto de células com e sem o transgene => **ANIMAIS QUIMÉRICOS OU MOSAICOS**.

**Animais quiméricos** são constituídos de **células** derivadas de **origens distintas**, enquanto os **mosaicos** são constituídos de células derivadas de um **único indivíduo**.

As técnicas que envolvem a introdução de células transformadas em um embrião receptor (p. ex.: transfecção de células embrionárias indiferenciadas e posterior introdução dessas células em embriões em estágio de blastocisto) darão **origem a animais quiméricos**;

As técnicas que transfectam diretamente as células do animal a ser transformado produzirão **animais mosaicos**;

**NAS 2 SITUAÇÕES, OS ANIMAIS TRANSGÊNICOS SÓ SERÃO OBTIDOS APÓS O CRUZAMENTO DE INDIVÍDUOS HETEROZIGOTOS F1 COM ANIMAIS NORMAIS**