Aula Prática No 5 (25/04) – Manipulação de Embrião de Galinha *in vivo*

O objetivo desta aula é introduzir técnicas de manipulação de embriões de galinha *in vivo*. Vocês vão aprender abrir um ovo fecundado e identificar/analisar o embrião dentro do ovo, por meio de contraste.

Materiais:

- Seringa de 1ml
- Seringa de 5ml
- Pipetas plásticas
- Solução de Ringers (Salina - autoclavada)
- Nanquim (concentração: 50%)
- Tesoura cirúrgica (de ponta fina, preferencialmente)
- Pinça de ponta fina
- Durex
- Etanol 70%
- Papel filtro (com furo no meio)
- Placa de Petri
- Lupa
- Suporte para o ovo
- Placa de Petri

- Não inicie o procedimento antes da demonstração!
- Lembre-se de manter todos os instrumentos que foram autoclavados dentro da placa de petri!

Após a Demonstração, siga os passos a seguir:

1. Pegue um suporte para o ovo e um ovo que já foi encubado.
2. Limpe o ovo com etanol 70%, sem virá-lo. Lembre-se de que o embrião de galinha se desenvolve no topo da gema/vitelo (ovo telolécito).
3. Pegue uma seringa de 1ml. Puxe cerca de 10ml de nanquim. Dobre a ponta da agulha com um alicate ou pinça de ponta grossa, fazendo com que a agulha tenha formato de “L” (Figura 1).
4. Com a seringa de 5ml, faça um pequeno furo na “parte de cima” da casca do ovo e

direcione a ponta da seringa para a ponta fina do ovo. Puxe cerca de 40ml de clara. Retire a seringa, mas **não descarte a clara** (Figura 1).

5. Com um lápis, desenhe um círculo na “parte de cima” do ovo. Cubra esse círculo com um pedaço de durex para evitar que fragmentos da casca caiam sobre o embrião.
6. Com uma pinça de ponta fina ou uma tesoura de ponta fina, faça um buraco em um ponto da risca feita a lápis. Cuidado para não afundar a ponta do instrumento na gema ou no embrião. Com a tesoura, corte a “tampa” demarcada com lápis (Figura 1).

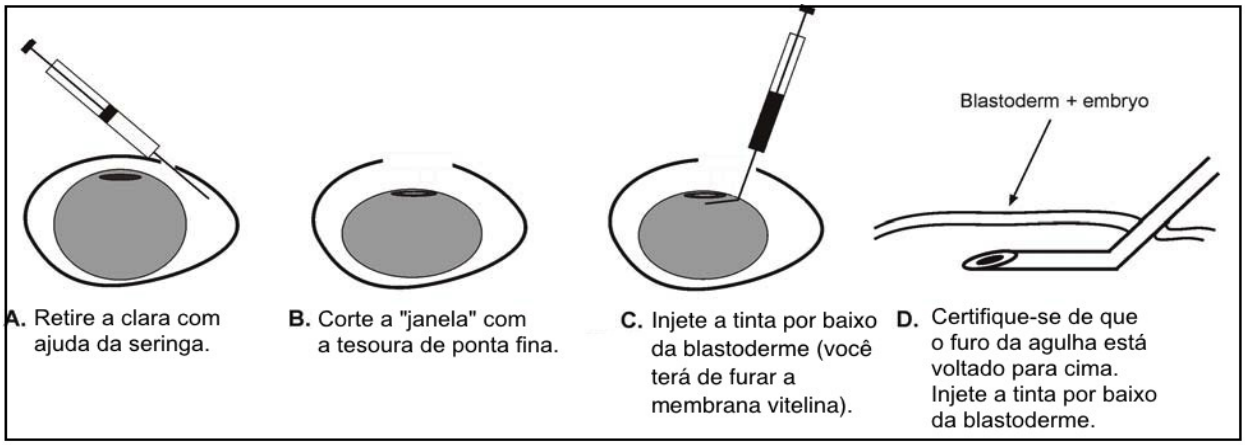

Figura 1: Descrição do procedimento inicial para abrir o ovo (“janela”) e injetar a tinta para contraste (o que facilitará a visualização do embrião).

7. Encontre o embrião no ovo. Ele deve estar no meio da gema, cercado por uma membrana branca mais espessa do que a membrana ao redor da gema (Figura 2).

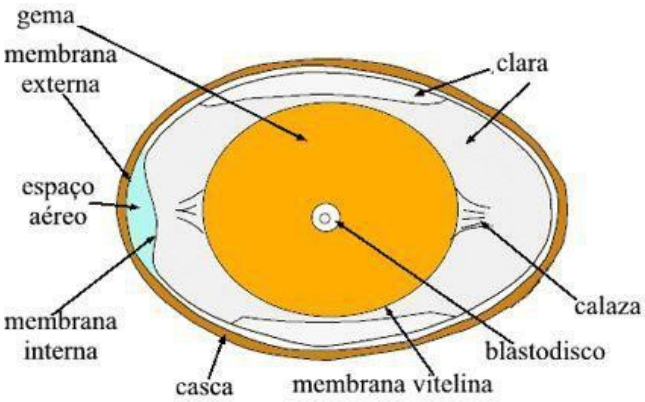

Figura 2: Estrutura de um ovo de galinha, mostrando o blastodisco (embrião) como vocês devem vê-lo no ovo: de cima.

8. Se o embrião estiver muito “baixo”, coloque um pouco de clara de volta dentro do

ovo. Pegue a seringa de 1ml com nanquim e enfie a agulha por debaixo do embrião. Injete o nanquim devagar, aos poucos, e observe o contraste por baixo do embrião. Cuidado para não deixar a agulha muito próxima do embrião, perfurando-o, nem muito longe, para que a tinta se disperse na gema.

9. Observe o embrião na lupa e o desenhe, marcando todas as estruturas que você conseguir reconhecer. Não se esqueça de estagiar o embrião dentro do modelo HH (Hamburger & Hamilton, 1951).

OBS: de tempos em tempos, pingue 1 ou 2 gotas de salina (solução de Ringers) sobre o embrião. Isso impedirá que ele resseque, dificultando sua visualização, ou morra.

Referências

Hamburger, V., & Hamilton, H. L. (1951). A series of normal stages in the development of the chick embryo. *Journal of morphology*, *88*(1), 49-92.