

R127 - OPU-FIV E TE

DIFERENTES VOLUMES E TEMPOS DE CENTRIFUGAÇÃO DO GRADIENTE DE PERCOLL NÃO AFETAM A QUALIDADE ESPERMÁTICA E O DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO DE EMBRIÕES BOVINOS PRODUZIDOS *IN VITRO*

LIZIANE L. VIANNA¹; JORGEA PRADIEÉ²; ELISA C. SILVA SANTOS³; ALEXANDER O. GONÇALVES⁴; LEDI ANGHINONI⁵; MARIA GABRIELA T. RHEINGANTZ⁶; LUIZ FRANCISCO M. PFEIFER⁷; MARGOT A.N. DODE⁸; MARCIO N. CORRÊA⁹; LIGIA M.C. PEGORARO¹⁰

^{1,2,3,4,5,9}UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS, PELOTAS, RS, BRASIL; ^{5,10}EMBRAPA CLIMA TEMPERADO, PELOTAS, RS, BRASIL; ⁷EMBRAPA RONDÔNIA, PORTO VELHO, PORTO VELHO, MS, BRASIL; ⁸EMBRAPA RECURSOS GENÉTICOS E BIOTECNOLOGIA, BRASÍLIA, DF, BRASIL

Palavras-chave: bovino; proporção sexual; seleção espermática

O objetivo deste estudo foi comparar dois diferentes volumes do Gradiente de Percoll para seleção espermática no desenvolvimento embrionário, na qualidade espermática e na proporção sexual de embriões bovinos produzidos *in vitro*. Complexos cumulus-oócitos (CCOs) foram aspirados de ovários oriundos de vacas de abatedouro, selecionados e destinados a maturação por 22 a 24h. Para a seleção espermática, o Percoll (Sigma, Aldrich, St. Louis, USA) foi preparado na forma convencional (Grupo P; 90 e 45%, com volume total de 4mL) e na forma de minigradiente, Grupo Minipercoll (Grupo MP; 90 e 45%, com volume total de 800 µL). No momento da FIV, o sêmen foi descongelado e adicionado sobre os gradientes. O Grupo P foi centrifugado por 20min a 700xg e o MP por 5 min a 700xg, ambos seguidos de uma segunda centrifugação por 5min a 700xg. Os CCOs foram divididos aleatoriamente entre os tratamentos, P (n=830) e MP (n=897), inseminados e mantidos por 18h no meio de FIV. Após foram transferidos para o meio de cultivo (SOFaa) e incubados por 7 dias, a 39°C e 5% de CO₂. As avaliações da clivagem foram efetuadas em D2 (D0 = Dia da FIV) e do rendimento embrionário global (embriões produzidos/ovócitos inseminados) em D7. Para o trabalho, foram realizadas 11 rotinas de PIV. Os embriões destinados a sexagem por PCR foram separados em D8, P (n=115) e MP (n=102). A integridade da membrana espermática foi avaliada utilizando o diacetato de 6-carboxifluoresceína (FDA) com o iodeto de propídeo (IP) e a integridade de acrossoma, pelo isoticianato de fluoresceína (FITC) com peanut agglutinin (PNA) (Molecular Probe®, Eugene, Oregon, USA), antes (Grupo Controle) e após a passagem pelos gradientes (3 repetições). Para comparação do rendimento global de embriões e da proporção sexual, com a esperada de 50%, foi utilizado o teste qui-quadrado. As características do sêmen foram analisadas por one-way ANOVA utilizando o procedimento General Linear Models (GLM). O teste de Tukey foi utilizado para detectar diferenças entre as médias. O Grupo P apresentou taxa de clivagem superior ao do MP (70.4% versus 65.8%; P<0,05), porém não houve diferença entre os grupos no rendimento embrionário global (19.2% P versus 16.3% MP). Não houve diferença do grupo controle para os grupos P e MP quanto a integridade de membrana e acrossoma. Na proporção sexual, os grupos P e MP não apresentaram diferença da proporção esperada de 50%. Os resultados demonstram não haver influência do volume e do tempo de centrifugação na utilização do Gradiente de Percoll, quanto aos parâmetros avaliados.

R128 - OPU-FIV E TE

EFEITO CUMULATIVO DA SOMATOTROPINA RECOMBINANTE BOVINA (RBST) NA PRODUÇÃO *IN VITRO* DE EMBRIÕES DE FÊMEAS GUZOLANDO LACTANTES

FELIPE J. MORAES JR¹; LUIZ FERNANDO SCHÜTZ²; CRISTIANO FELTRIN³; LEONARDO T. MARTINS⁴; SAUL GAUDÊNCIO NETO⁵; MAURÍCIO B. SALVIANO⁶; KAIO C.S. TAVARES⁷; JULIANA L. ALMEIDA⁸; VICTOR HUGO V. RODRIGUES⁹; JAMIR MACHADO JR¹⁰; CESÁR C.L. FERNANDES¹¹; BARBARA M.B. SANTOS¹²; CARLOS ENRIQUE MENDEZ CALDERÓN¹³; LUIS HENRIQUE AGUIAR¹⁴; EUDES V. CASTRO¹⁵; FRANCISCO JOSE M. BARBOSA¹⁶; LUCIANA R. BERTOLINI¹⁷; JOSE ADALMIR T. SOUSA¹⁸; MARCELO BERTOLINI¹⁹

¹LAB. DE REPRODUÇÃO ANIMAL - UFPI/LAB. DE BIOL. MOLECULAR E DO DESENVOLVIMENTO/UNIFOR, FORTALEZA-CE, TERESINA, PI, BRASIL; ^{2,3,4,5,6,7,8,9,10,14,17,19}LABORATÓRIO DE BIOLOGIA MOLECULAR E DO DESENVOLVIMENTO, UNIVERSIDADE DE FORTALEZA (UNIFOR), FORTALEZA, CE, BRASIL; ^{11,12,15}UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CEARÁ - UECE, FORTALEZA, CE, BRASIL; ¹³UNIVERSIDADE COOPERATIVA DA COLOMBIA - UCC, BUCARAMANGA, COLÔMBIA; ¹⁶GRUPO EDSON QUEIROZ, FORTALEZA, CE, BRASIL; ¹⁸LAB. DE REPRODUÇÃO ANIMAL, UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ - UFPI, TERESINA, PI, BRASIL

Palavras-chave: bovino; CCOs; rbST

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito cumulativo de diferentes doses de somatotropina recombinante bovina (rbST; Boostin®, Schering-Plough) na quantidade e qualidade de complexos cumulus-oócito (CCOs) obtidos *in vivo* de vacas lactantes da raça Guzolando e seu efeito na produção *in vitro* de embriões (PIV). Para tanto, foram selecionadas 14 fêmeas multiparas 1/2 sangue Guzolando, aos 67,3 ± 16,5 dias de lactação, cíclicas, com condição corporal de 3,3 ± 0,2 e idade de 6,6 ± 0,4 anos. As fêmeas foram alocadas aleatoriamente em três grupos experimentais (Controle, 250 mg e 500 mg rbST) e submetidas a seis seções de aspiração folicular *in vivo* (ovum pick up, OPU) em intervalos de 14 dias. Seis dias antes de cada seção de OPU foi administrado na prega caudal 1,5 mL de solução fisiológica (Controle, n=4), 250 mg de rbST (n=5) ou 500 mg de rbST (n=5). Os CCOs recuperados foram classificados morfológicamente em Grau I a IV (Leibfried & First, 1979, *J Anim Sci* 48:76-86) e submetidos à PIV de embriões, com as taxas de desenvolvimento *in vitro* até mórula compacta e blastocistos sendo avaliadas no Dia 6,5 de cultivo. Os dados relativos ao número médio de CCOs recuperados, CCOs viáveis (Graus I, II e III) e embriões produzidos por seção de OPU-PIV/fêmea foram comparados pelo teste "t" de Student, enquanto a proporção de CCOs com base na qualidade morfológica e a taxa de desenvolvimento embrionário no Dia 6,5 foram comparados pelo teste do χ^2 , para p<0,05. Quando comparado ao grupo Controle, a administração de rbST nos grupos 250 mg e 500 mg aumentou o número médio de CCOs totais (8,6 ± 1,6 vs.. 13,3 ± 1,5 e 11,3 ± 1,6) e de CCOs viáveis (5,8 ± 1,1 vs.. 7,6 ± 0,8 e 6,5 ± 0,8), para uma menor proporção de CCOs viáveis (66,7% vs.. 56,8% e 57,8%), respectivamente. Em adição, os grupos sob efeito de 250 mg e 500 mg rbST tiveram maior número médio de CCOs de Grau III (5,3 ± 0,7 e 4,8 ± 0,6 vs.. 4,0 ± 0,7) e Grau IV (6,0 ± 1,0 e 4,8 ± 0,9 vs.. 2,9 ± 0,6) em comparação ao controle, respectivamente. Não obstante, apesar das diferenças favoráveis quanto ao número médio e desfavoráveis na qualidade dos CCOs nos grupos 250 mg e 500 mg de rbST em comparação ao grupo Controle, as taxas de desenvolvimento embrionário (80/227, 35,2%; 77/370, 36,0%; e 57/138, 41,3%) e as médias de embriões viáveis por seção/doadora (2,7 ± 0,4; 2,6 ± 0,4; e 2,4 ± 0,4) foram semelhantes entre os grupos, respectivamente. Em conclusão, nossos resultados preliminares indicaram que a aplicação de 250 mg e 500 mg de rbST seis dias antes das OPUs em vacas Guzolando foi acompanhada de um maior número de CCOs com ligeira diminuição na qualidade oocitária que não se traduziram em diferenças na eficiência de produção de embriões *in vitro* em nenhum grupo.