

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE EM EMBRIÕES PIV COM A SUBSTITUIÇÃO DO SORO FETAL BOVINO E DA ALBUMINA SÉRICA BOVINA PELA OVALBUMINA

Tetzner, T.A.D.¹; Saraiva, N.Z.¹; Perecin, F.²; Ferreira, C.R.²; Méo, S.C.³; Oliveira, C.S.¹;
Melo, D.S.¹; Monteiro, F.M.¹; Vantini, R.¹; Garcia, J.M.¹

¹DMVPRA-FCAV-UNESP, Jaboticabal-SP, Brasil, ²ZAB-FZEA-USP, Pirassununga-SP, Brasil, ³CPPSE-EMBRAPA, São Carlos-SP, Brasil. tatiane_tetzner@yahoo.com.br

Uma das formas mais eficientes para se avaliar a qualidade embrionária dos blastocistos produzidos in vitro (PIV) é pela técnica de coloração diferencial da massa celular interna (MCI) e do trofoblasto (TF). As células da MCI dão origem ao feto e as do TF, às membranas extra-embriônicas. Segundo Neuber *et al.* (Theriogenology, v. 57, p. 2193-2202, 2002), embriões bovinos de qualidade superior devem apresentar o número total de células o mais próximo ao número de ciclos. O presente estudo avaliou o efeito qualitativo da substituição do soro fetal bovino (SFB) e da albumina sérica bovina (BSA) pela ovalbumina (OVA). Os oócitos foram maturados in vitro em meio TCM 199, suplementado com: SFB (10% SFB: Crypion*), ou BSA (Inlab*; 4mg/mL), ou OVA (Inlab*; 4mg/mL), e 1,0µg/mL FSH (Pluset*, Calier), 50µg/mL hCG (Profasi*, Serono), 1,0µg/mL estradiol (Sigma E-2758), 0,2mM piruvato de sódio e 83,4µg/mL amicacina.. O procedimento de fecundação in vitro foi realizado em meio TALP-FIV, com 0,2mM piruvato, 83,4µg/mL amicacina e 6mg/mL de BSA ou OVA. Procedeu-se o cultivo in vitro em meio SOF, com SFB, BSA ou OVA e atmosfera com baixa concentração de O₂, em câmara modular a 38,5°C. A determinação da MCI e do TF foi baseada na técnica de coloração diferencial por fluorocromo, descrita por Iwasaki *et al.* (Journal of Reproduction and Fertility, v. 90, p. 279-85, 1990). Os blastocistos foram tratados com pronase e solução ácida de Tyrodes. Posteriormente, lavados em meio TCM-199 Hipes e incubados em ácido pícrico (10 mM; Reagen*) e PVP (3mg/mL; Sigma*). Em seguida expostos a soro de coelho anti-bovino e a complemento de coabaia acrescido 10 µg/mL iodeto de propídio (Sigma* P-4170) e 10µg/mL Hoechst 33342. Os blastocistos foram lavados em PBS e fixados entre lâminas e laminulas, e avaliados em microscópio de epifluorescência quanto ao número de células total, MCI (núcleos corados pelo Hoechst 33342) e TF (núcleos corados pelo iodeto de propídio e Hoechst 33342). Cada tratamento foi abreviado com a primeira letra referente ao suplemento utilizado na maturação, a segunda na fecundação, e a terceira no cultivo. Para avaliação qualitativa, foram utilizados 390 blastocistos distribuídos em sete grupos: CONT, SBS, SOS, BBB, BOB, OOO ou OBO, em três repetições. A análise estatística foi realizada utilizando-se o software SAS 9.1, os resultados foram submetidos à ANOVA e as médias, comparadas pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5%. A média de células da MCI nos blastocistos do grupo OOO (16,79) foi inferior (p<0,05) aos demais grupos. Entretanto, a média de células do TF no grupo OOO (38,25) foi semelhante (p>0,05) aos grupos BBB (45,74) e BOB (45,60), e inferior (p<0,05) aos grupos CONT (57,59), SBS (54,41), SOS (56,74) e OBO (47,35). A média total de células dos blastocistos do grupo OOO (56,04) foi inferior (p<0,05) aos grupos CONT (84,86), SBS (78,96), SOS (81,32), BBB (68,11), BOB (69,55) e OBO (69,82). O número total de células nos tratamentos, com diversas fontes de suplementação protéica, mostrou-se variável entre 56,04 a 84,86 células. Considerando o intervalo de avaliação, esta média foi discretamente inferior ao esperado pela idade cronológica dos blastocistos. Concluímos que é possível produzir in vitro embriões bovinos na ausência de SFB e/ou BSA, com a fonte protéica OVA, embora a qualidade dos blastocistos seja inferior. Apoio financeiro: FAPESP 05/60389-2 e CNPq.