

RESUMO 124

DETECÇÃO DA *Leptospira interrogans* sorovar Grippotyphosa EM OÓCITOS BOVINOS APÓS O PERÍODO DE MATURACÃO E POSTERIOR TRATAMENTO DE CONTROLE SANITÁRIO ESTABELECIDO PELA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE TECNOLOGIA DE EMBRIÕES (IETS)

Goes, A.C.; Piccolomini, M.M.; Pavão, D.L.; Batista, M.L.; Alves, M.F.; Castro, V.; Palazzi, E.G.; Feola, A.; D'Angelo, M.

Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Sanidade Animal, Instituto Biológico de São Paulo, SP - Brasil
E-mail: acgoes@hotmail.com

O tratamento de embriões com tripsina ou antibiótico em lavagens alternadas com meio de cultura, estabelecido pela IETS, tem a finalidade de inativar ou remover agentes infecciosos que possam interferir no produto final. Diversas são as dúvidas sobre a interação das células do cumulus/óócito e/ou embrião com o agente infeccioso, podendo tornar essas estruturas um vetor para a transmissão de doenças. Sendo assim, respostas para os questionamentos sobre a possível penetração e aderência de microrganismos no complexo cumulus-óócitos (CCO) e na zona pelúcida, em seus diferentes estágios, são de grandes preocupações. O presente trabalho tem como objetivo detectar o patógeno em óócitos expostos experimentalmente, durante o período de maturação *in vitro*, à *Leptospira interrogans* sorovar Grippotyphosa após o tratamento com tripsina/antibiótico padronizado pela IETS. Os óócitos foram obtidos através de ovários provenientes de abatedouro, selecionados e divididos em grupo controle (n=480) e exposto ao patógeno (n=540), no volume de 30µL e concentração de $4,7 \times 10^5$ bactérias/µL e levados à estufa de CO₂ 5%, umidade relativa de 90% a 37°C por 24 horas. Após este período, os óócitos foram tratados, segundo as normas estabelecidas pela IETS, envolvidos em agarose 2% e mantidos em glutaraldeído 2,5% à 4°C para serem preparados e cortados em ultramicrótomo, recolhidos em telas de níquel, para análise ultra-estrutural dos óócitos. As telas foram examinadas em microscópio eletrônico de transmissão Philips EM208 (Holanda). Foram observadas estruturas semelhantes às da leptospira (25,5%), na zona pelúcida, penetrando no ooplasma do óócito previamente tratado, sem alterações morfológicas nas células do cumulus e zona pelúcida, podendo-se sugerir que a eficácia dos tratamentos da IETS, torna-se comprometida, para o referido patógeno. Sendo a leptospirose uma doença que acomete animais de corte e, a prática da produção de embriões *in vitro* uma biotécnica em crescimento acelerado, a análise dos resultados obtidos no presente estudo, demonstra que normativas de controle de qualidade na PIV de embriões bovinos devem ser reavaliadas e atualizadas.

RESUMO 125

MATURACÃO *IN VITRO* DE OÓCITOS DE COELHAS IMATURAS

Gonçalves, T.M.; Sangalli, J.R.; Meirelles, F.V.

Laboratório de Morfofisiologia Molecular e Desenvolvimento, Departamento de Ciências Básicas, Universidade de São Paulo (FZEA/USP), Pirassununga, SP - Brasil
E-mail: tassia.goncalves@usp.br

A maior parte dos estudos de embriologia em coelhos é feita através de maturação *in vivo* dos óócitos. Porém, as sincronizações de estro e da ovulação limitam a utilização da carcaça do animal para consumo. Os coelhos têm sido um dos mais usados modelos em pesquisas científicas, seus óócitos oferecem fácil manipulação pelo seu tamanho, elasticidade, um citoplasma mais transparente e são capazes de desdiferenciar núcleos de células somáticas de várias espécies incluindo ursos pandas, galinhas, macacos, gatos e humanos, suportando o desenvolvimento de transferências nucleares interespecíes até a fase de blastocisto e mesmo gestação inicial (WEN *et al.*, 2005, *Journal of Experimental Zoology*, 303:689-697). Sem dúvidas a maturação é uma das etapas mais importantes da PIV, que influenciará a quantidade e a qualidade dos embriões a serem produzidos (FREITAS *et al.*, 2003, *Acta Scientiae Veterinariae*, 31:380-381). Este trabalho teve por objetivo testar protocolos de maturação *in vitro* de óócitos de coelhas pré-púberes que permita o desenvolvimento de estudos de embriologia, à semelhança do que ocorre em bovinos. Óócitos provenientes de ovários coletados em abatedouro de coelhas imaturas de 3 a 4 meses, destinadas à alimentação humana, de raças mestiças, foram adquiridos através da técnica de slicing e maturados *in vitro* em TCM 199, testado com diferentes concentrações de hormônios: 0,5 µg/mL de FSH, 50 µg/mL de LH e 1 µg/mL de Estradiol(B); 1 µg/ml para FSH, LH e Estradiol (Y); 10 µg/mL de FSH, 10 µg/mL de LH e 1 µg/mL de Estradiol(T); e o meio controle (CO), com ausência de hormônios suplementado somente com 10% de SFB e 0,2% de piruvato. Foram usados quatro diferentes tempos de maturação, 15, 18, 22 e 30 horas, em estufa a 38° C e 5% de CO₂. Após a maturação os óócitos foram fixados em paraformaldeído 3% e corados através de Hoechst 33342 para observação dos estádios de Vesícula Germinativa, Metáfase I, Metáfase II e Ativação espontânea em microscopia eletrônica. As médias foram analisadas pelos testes ANOVA e comparadas pelo teste Tukey-Kramer HSD, para $P < 0,05$. Não houve diferença significativa nas taxas de Metáfase II entre os meios suplementados com hormônios: Y = 23% (121/523); T = 23% (133/575) e B = 22% (129/577), porém houve efeito da suplementação hormonal observado pela diferença significativa entre o controle e os demais tratamentos, CO = 20% (107/531). Houve efeito dos tempos de maturação usados, sendo que a melhor taxa de Metáfase II foi observada já às 15 horas (25,7%; 185/720). Apesar das taxas de maturação terem sido consideradas baixas em relação às taxas observadas em outras espécies, possivelmente por se tratar de fêmeas pré-púberes, pode-se observar o efeito positivo da suplementação hormonal nos tratamentos.

RESUMO 126

REPOSIÇÃO DE REBANHO GIROLANDO COM EMBRIÕES F1 PRODUZIDOS *IN VITRO* COM OÓCITOS DE VACAS GIR E HOLANDESAS UTILIZANDO SÊMEN SEXADOGoulart, I.L.¹; Ferreira, A.M.²; Camargo, L.S.A.²; Sinedino, L.D.P.¹; Dourado, A.P.¹; Nogueira, L.A.G.¹¹Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ; ²EMBRAPA Gado de Leite, Juiz de Fora, MG - Brasil
E-mail: jsislustosa@yahoo.com.br

Muitas pesquisas vêm sendo desenvolvidas visando resultados mais eficientes na produção *in vitro* (PIV) de embriões. Porém, ainda existem muitos questionamentos e escassez de dados acerca de taxas de morte embrionária, maior peso ao nascimento e incidência de distócias, principalmente com embriões girolando F1 devido a maior concentração de estudos nas raças puras européias e zebuínas. Objetivou-se neste experimento avaliar a viabilidade do sêmen sexado na PIV de embriões bovinos F1 (Holandês x Gir) visando a reposição dos plantéis, determinar a taxa de gestação obtida com os embriões F1, verificar a facilidade de parto das receptoras, o sexo do bezerro ao nascimento e a sobrevivência deste até 60 dias. O experimento foi conduzido em rebanhos comerciais da região sul do Estado do Rio de Janeiro no período de 2007 a 2008. Foram selecionadas e punccionadas 81 doadoras da raça Gir e 108 da raça Holandesa, com histórico de ciclos estrais regulares. Os embriões foram produzidos em laboratório comercial da região e transferidos no sétimo dia para vacas previamente selecionadas do próprio rebanho. Os diagnósticos de gestação e as sexagens fetais foram realizados 60 dias após as inovações através da palpação retal e ultrassonografia. As análises estatísticas foram realizadas pelo método do Qui-quadrado. A taxa de gestação com embriões F1 produzidos com sêmen sexado foi de 41,9% (133/317) e a taxa de mortalidade até 60 dias de 9,7% (13/133), possibilitando a taxa de reposição anual de 34%. A dificuldade de parto não foi verificada nas receptoras, indicando uma possível ausência da síndrome do bezerro grande (SBG) no produto F1. O peso variou de 35 a 40 kg, sem anomalias congênitas nos bezerros nascidos, e a maioria destes 90,2% (120/133) era fêmea. Conclui-se que é viável a reposição do rebanho girolando com embriões F1 utilizando o sêmen sexado na PIV.