

Sexagem de embriões bovinos produzidos *in vitro* pela velocidade de desenvolvimento e alteração no metabolismo de glicose

Caroline de Morais Ferracioli^{1*}

*Paula Macieira e Guimarães*²

*Amanda Rodrigues Maia*²

*Giovanna Gabrielle Cruvinel*³

*Simone Cristina Méo Niciura*⁴

¹Aluna de graduação em Ciências Biológicas, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP. *Bolsista PIBIC/CNPq; carolineferracioli@yahoo.com.br;

²Aluna de graduação em Biotecnologia, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP;

³Aluna de graduação em Medicina Veterinária, Centro Universitário Central Paulista, São Carlos, SP;

⁴Pesquisadora da Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP.

O Brasil é o país com as maiores taxas de produção *in vitro* (PIV) de embriões bovinos e, com isso, há grande demanda para o desenvolvimento de método rápido, sem custos exacerbados, fácil e não-invasivo para a determinação do sexo dos embriões. O dimorfismo sexual existente entre os embriões nos estádios iniciais do desenvolvimento constitui um método precoce de determinação do sexo. Nos embriões machos, em geral, o desenvolvimento é mais rápido e o metabolismo de glicose é maior. Dessa maneira, o presente trabalho teve por objetivo analisar os efeitos da velocidade de desenvolvimento embrionário e das alterações nas concentrações de glicose no meio de cultivo sobre a proporção de embriões machos e fêmeas. Para tanto, folículos aspirados de ovários bovinos coletados em abatedouro foram destinados à maturação *in vitro* em TCM 199 com SFB, hormônios, antibiótico e piruvato, durante 24 h a 38,5°C e 5% de CO₂ em ar. Para a FIV, por 20-22 horas, espermatozoides foram separados em gradiente de Percoll e utilizados na concentração de 1 x 10⁶/mL em meio TALP-FIV. Posteriormente, os embriões foram submetidos ao cultivo em SOF com 2,5% SFB e 3 mg/mL BSA por até 8 dias. A velocidade de desenvolvimento (adiantado ou normal) foi avaliada nos embriões de 8-, 16- e 32-células, mórula, blastocisto e blastocisto expandido (tamanho amostral, n, de 21 a 38 embriões). Além disso, após adição de glicose (0; 1,5; 5,6; ou 10 mM) ao SOF dos dias 5 a 8 de cultivo, a velocidade de desenvolvimento até blastocisto foi analisada (n= 2-10 embriões; resultados preliminares). A confirmação do sexo dos embriões foi feita por PCR multiplex, para amplificação simultânea de fragmento autossômico e do cromossomo Y. Para os diferentes tratamentos, nos dois estudos, a proporção de fêmeas variou de 12,5 a 100%. No experimento de velocidade de desenvolvimento, apesar do sistema de PIV ter levado à maior proporção de fêmeas (63,1%), não foram observadas diferenças na proporção dos sexos entre os embriões adiantados e de desenvolvimento normal para todos os estádios. Em relação à alteração na concentração de glicose, apesar do baixo tamanho amostral, no cultivo com 5,6 mM de glicose foi observada menor proporção de fêmeas (42,9%) nos blastocistos adiantados - Dia 6, em comparação aos blastocistos tardios - Dia 8 (100%). Além disso, a adição de 5,6 mM de glicose resultou em maior proporção de fêmeas (75%) em comparação ao cultivo sem adição de glicose (33,3%). Com base nestes resultados, podemos concluir que a velocidade de desenvolvimento não permitiu determinar o sexo de embriões bovinos produzidos *in vitro*, no entanto, resultados promissores para a sexagem foram observados após a alteração na concentração de glicose no meio de cultivo.

Apoio financeiro: CNPq (Processo no. 163409/2015-3); Embrapa MP1 (01.13.06.001.03.01.003).

Área: Biotecnologia e Recursos genéticos.

Palavras-chave: fecundação *in vitro*; metabolismo energético; proporção macho:fêmea.