

SBTE 103 OPU-FIV/TE
Número de submissão 1558

Efeito da duração da etapa de maturação com diferentes atmosferas de oxigênio e do tipo de sêmen nas taxas de clivagem, produção de blastocisto *in vitro* e prenhez na raça nelore

Natali Zanenga Chacha¹; Raquel Zanetti Puelker²; Katarine Rezende Coelho¹; Carlos Alberto Zanenga¹; Maria Clara Caldas-Bussiere³; Valter Luis Maciel³; Célia Raquel Quirino³

1.Embriza, Campo Grande, MS, Brasil; 2.Progest Biotecnologia em Reprodução e Saúde Animal, Botucatu, SP, Brasil; 3.UENF, Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil.

Este estudo teve como objetivo avaliar as condições de incubação estabelecidas durante a maturação *in vitro* (MIV) de oócitos (duração e tensão de oxigênio), o tipo de sêmen (convencional, n=12.177 e sexado, n= 3.630) e as possíveis correlações com as taxas de clivagem, produção de blastocistos e prenhez. COCs selecionados foram transportados em criotubos de 2mL (1 oócito/13,3µL de meio), contendo 400µL de meio de maturação TCM-199 (suplementado com 0,2 mM de piruvato, 10% de SFB e gonadotrofinas) e 300µL de óleo de silicone, a uma temperatura controlada de 38,5°C e atmosfera de 5% de CO2, 5% de O2 e 90% de N2. Decorrido o período de transporte, os criotubos foram transferidos para incubadoras com 100% de umidade a 38,5°C, com atmosfera de 5% de CO2 em ar (≅ 20% O2), com um tempo total variando de 20-29 horas de MIV (média = 24 h). O tempo de fertilização foi fixado de acordo com o tipo de sêmen utilizado, sendo de 18 a 20 h para o sêmen convencional e 8 a 10 h para o sexado. Os prováveis zigotos foram desnudados e cultivados em meio SOFaa suplementado com 2,5% de SFB até 7 dias. As taxas de clivagem e de blastocistos foram avaliadas as 72 e 168 horas pós-inseminação (hpi), respectivamente, sendo os procedimentos da PIVE realizados no laboratório Embriza, localizado em Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil. As taxas de clivagem, blastocistos e prenhez foram analisadas pela análise de variância ANOVA; as médias foram comparadas pelo teste SNK (P<0,05) e as variáveis foram analisadas pela correlação simples de Pearson. As maiores taxas de clivagem e blastocistos (P<0,05) foram observadas quando se utilizou sêmen convencional (78,1% ± 22,79 e 36,0% ± 21,28) comparado ao sêmen sexado (58,3% ± 27,80 e 29,3% ± 20,39). A taxa de prenhez foi maior (P<0,05) quando se utilizou o sêmen sexado (65,5% ± 25,99) comparado ao sêmen convencional (56,7% ± 24,94). Quando avaliamos a correlação entre as variáveis, observamos que com o aumento na duração da MIV em transporte (atmosfera de 5% O2) houve diminuição na taxa de clivagem (r = - 0,083, P=0,0183). Contudo, o aumento da duração da MIV no laboratório (atmosfera de 5% CO2 em ar) aumentou a taxa de clivagem (r= 0,094, P=0,0074), mas não apresentou correlação com a taxa de blastocisto e prenhez. O tempo total de MIV não apresentou nenhuma correlação (P>0,05) com as variáveis estudadas. Portanto, conclui-se que: 1) A variação na duração da MIV e a atmosfera gasosa no transporte de oócitos não exerceu influência nas taxas de blastocisto e prenhez, sendo indicada a sua utilização quando o tempo de transporte; 2) a taxa de prenhez foi maior quando se utilizou sêmen sexado com um menor tempo de fertilização.

Palavras-chave: PIVE; efeito; Nelore

SBTE 104 OPU-FIV/TE
Número de submissão 1562

Desenvolvimento pós-implantacional de embriões holandês-gir biopsiados

Beatriz Abdalla Ferraz de Barros¹; Célio Freitas¹; Carolina Capobianco Romano Quintão²; Agostinho Jorge dos Reis Camargo³; Paola Maria da Silva Rosa¹; Raquel Varella Serapião³; Clara Ana Santos Monteiro¹; Luiz Sérgio de Almeida Camargo²; Clara Slade Oliveira¹

1.EMBRAPA Gado de Leite LRA-CESM, Valença, RJ, Brasil; 2.EMBRAPA Gado de Leite, Juiz de Fora, MG, Brasil; 3.Pesagro Rio, Niterói, RJ, Brasil.

A biópsia embrionária associada à genotipagem possibilita a obtenção de informações genômicas antes mesmo do nascimento dos animais. O objetivo deste estudo foi avaliar o desenvolvimento pós-implantacional de embriões mestiços Holandês-Gir biopsiados, para comprovar a segurança desta biotécnica. Para tanto, oócitos de doadoras Gir e mestiças ¼Holandês-¾Gir foram obtidos por aspiração folicular guiada por ultrassonografia, maturados e fertilizados com sêmen sexado (fêmea) de touro Holandês. Foi utilizado sistema de incubação a 38,5° C, 5%CO2 em ar atmosférico e alta umidade, e meios de MIV, FIV e CIV da Bioklone® (Jaboticabal, Brasil). Aproximadamente 155h após a FIV, os blastocistos foram avaliados e posicionados em gotas individuais, e com o auxílio de lâmina de bipartição embrionária (The Micromanipulator Microscope Company®, USA), foi seccionada porção de aproximadamente 20% do embrião, no lado oposto à massa celular interna. Após 3-5 h em meio de cultivo HSOE (Bioklone®, Jaboticabal, Brasil) a 37°C (placa aquecedora), os embriões reexpandidos foram transferidos para receptoras com estro sincronizado (n= 247 embriões; Controle:118, Biópsia:129), dos quais 64 gestações (C:29; B:35) já foram concluídas e estão descritas no presente resumo. Os percentuais de prenhez (30dias), perdas gestacionais (30 a 90 dias, após 90 dias e natimortos) e machos nascidos foram comparados entre os grupos utilizando o teste exato de Fisher (p=0,05). As médias do período de gestação e peso da cria foram comparadas pelo teste T (p=0,05), no programa GraphPad Instat. Aos 30 dias após a transferência, foi observada redução (p=0,03) da taxa de gestação no grupo biópsia (C: 55,1% vs B: 41,1%). Entretanto, no grupo controle, foi observada perda embrionária superior (p=0,004) no período de 30 a 90 dias de gestação (B:0%; C: 13,8%). Desta forma, o percentual de

gestações 90 dias após a TE não diferiu ($p=0,37$) entre os grupos (C: 47,5%; B: 41,1%). Assim, sugere-se que a técnica de biópsia promova uma seleção dos embriões com maior potencial de desenvolvimento, que não ocorre no grupo controle, no qual os embriões com baixo potencial implantam mas apresentam maiores taxas de morte até os 90 dias. As taxas de abortamento no terço médio e final da gestação (C: 3,4%; B: 8,6%, $p=0,62$) e as perdas ao nascimento (C: 6,9; B: 5,7, $p=1,00$) não diferiram entre os grupos. O período de gestação, expresso em média e desvio padrão de dias (C: $280,6 \pm 3,83$ / B: $280,7 \pm 4,25$ - $p=0,92$), o peso da cria (C: $33,0 \pm 4,5$ kg; B: $34,5 \pm 5,0$ kg - $p=0,25$), e o percentual de machos nascidos (C: 8,3%; B: 20% - $p=0,41$) não diferiram entre os grupos. Conclui-se que a técnica de biópsia embrionária é segura e não afeta as taxas de produção de bezerros mestiços Holandês-Gir.

Agradecimentos: CNPq (118798/2015-4), FAPERJ (E-26/010.002920/2014), FAPEMIG e EMBRAPA Gado de leite.

Palavras-chave: Biópsia embrionária; PIVE; biotecnologia

SBTE 105 OPU-FIV/TE

Número de submissão 1563

Desempenho de raças bovinas submetidas à OPU e PIV na região do chaco central no Paraguai

Gabriel Ferreira Soria¹; Rafael Ferreira Soria¹; Miguel Ferreira Soria¹; Francisco Pedra Lopes¹; Dario Sotomayor Romero²; Evald Friesen³

1.Fecunda Biotecnologia, Pedro Juan Caballero, Paraguai; 2.Reprogen, Asuncion, Paraguai; 3.Cooperativa Multiactiva Neuland Ltda., Colonia Neuland, Paraguai.

O desempenho de fêmeas das raças híbridas Brahman, Santa Gertrudis e da raça Gelbvieh submetidas à OPU e PIV foi avaliado, bem como a taxa de prenhez de seus embriões em ambiente semi-árido do Chaco Central, no Paraguai. As doadoras e receptoras são criadas em uma propriedade localizada nas coordenadas S 22°46'38" W 60°26'28", 50 Km a Oeste da Colônia Neuland, no departamento de Boqueron, em Gatton Panic (*Panicum maximum*) pastagem megatérmica adaptada à região, com registros de precipitação anual entre 800 a 1.000 mm e tem seu clima caracterizado como Semi-Árido Megatérmico de acordo com Thornthwaite. Os animais formam parte de um rebanho selecionado com objetivo de produzir reprodutores e matrizes para uso principalmente na região do Chaco paraguaio. As doadoras Brahman, Santa Gertrudis e Gelbvieh foram submetidas a sessões de OPU e PIV nos anos de 2014 a 2015, com repetições de sessões que variaram entre uma a sete por indivíduo; o período de trabalho foi de março a novembro de cada ano. A média total de oócitos recuperados por doadora aspirada, média total de embriões PIV transferidos por doadora aspirada e a taxa de prenhez para cada raça, no ano de 2014, foi: Brahman ($n=16$): 15,04 (EP \pm 3,76), 3,82 (EP \pm 0,96) e 35,48% (77 prenhez / 217 TE); Santa Gertrudis ($n=15$): 14,15 (EP \pm 3,65), 3,57 (EP \pm 0,92) e 46,53% (67 prenhez / 144 TE) e Gelbvieh ($n=2$): 61,5 (EP \pm 43,49), 32 (EP \pm 22,63) e 56,25% (36 prenhez / 64 TE). Em 2015, a média total de oócitos recuperados, de embriões PIV transferidos e a taxa de prenhez para a raça Brahman ($n=11$) foi de: 22,9 (EP \pm 6,90), 5,87 (EP \pm 1,77) e 52,23% (105 prenhez / 201 TE); e para a raça Santa Gertrudis ($n=12$): 22,76 (EP \pm 6,57), 4,8 (EP \pm 1,38) e 55,26% (105 prenhez / 190 TE). Cabe ressaltar que apenas em 2014, em uma única sessão, duas fêmeas da raça Gelbvieh foram submetidas à OPU e tiveram diferença no total de oócitos recuperados: oito oócitos vs. 115 oócitos; e na PIV, um embrião transferido vs. 63 embriões transferidos, com prenhez de ambas doadoras. Com relação ao desempenho na OPU e PIV não houve diferença estatística quando se compararam as raças Brahman e Santa Gertrudis em um mesmo ano pelo teste t de Student ($p < 0,1$); entretanto, observou-se maior recuperação de oócitos ($p < 0,1$) em 2015 comparado a 2014 para as raças Brahman e Santa Gertrudis. Embora não se tenha observado diferença estatística na produção *in vitro* de embriões transferíveis, tanto esse parâmetro quanto a taxa de prenhez em 2015 foi numericamente maior em relação a 2014, demonstrando expectativa de ganho econômico dos produtores da região do Chaco paraguaio pelo uso das biotecnologias reprodutivas. A taxa de prenhez (%) foi mais elevada entre os embriões da raça Santa Gertrudis comparada à raça Brahman, em ambos os períodos. Os usos das biotecnologias reprodutivas assistidas (OPU, PIV e TE) apresentaram resultados satisfatórios entre as raças selecionadas nessa região, podendo ser utilizadas com sucesso em programas de melhoramento animal.

Palavras-chave: Fecundação *in vitro*; doadora; biotecnologia

SBTE 106 OPU-FIV/TE

Número de submissão 1569

Produção *in vitro* de embriões bovinos: substituição parcial do soro fetal bovino por albumina sérica bovina no cultivo *in vitro* e adição de ácido fólico na maturação oocitária

Carolina Gennari Verruma¹; Anderson Mioranza²; Cristiana Libardi Miranda Furtado³; Reginaldo Aparecido Vila³; Ester Silveira Ramos³; Raysildo Barbosa Lôbo³

1.Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, USP, Ribeirão Preto, SP, Brasil; 2.Biovita, Cascavel, PR, Brasil; 3.Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, SP, Brasil.

A PIVE bovina enfrenta dificuldades que prejudicam a produção e sobrevivência embrionária, como as diferenças morfológicas dos oócitos selecionados (grau I, II e III) e composição dos meios de MIV, FIV e CIV. Os componentes presentes no cultivo embrionário, bem como aqueles armazenados pelo oócito durante a maturação estão frequentemente associados à alterações genéticas e epigenéticas, influenciando na qualidade e consequente sucesso da PIVE. O SFB parece