

SBTE 132 OPU, PIV E TE

Maturação citoplasmática e alterações ultraestruturais em COCs de ovinos pré-maturados *in vitro* com roscovitina e ciclohexemida**L.F. Crocomo; W.C. Marques Filho; M.D. Guastali; C.L. Ackermann; R.R.D. Maziero; M.J. Sudano; D.M. Paschoal; F.L. Alvarenga; S.D. Bicudo**

FMVZ-UNESP, Botucatu, SP, Brasil.

Palavras-chave: ultraestrutura; oócitos; inibidores da meiose.

Inibidores da meiose têm sido estudados em diversas espécies animais com intuito de incrementar a eficiência da produção de embriões *in vitro*. No entanto, a maioria destes estudos se baseia apenas na avaliação da configuração cromossômica dos oócitos para prever o potencial de desenvolvimento oocitário e embrionário *in vitro*. Deste modo, o objetivo desta pesquisa foi avaliar a progressão da maturação citoplasmática e as alterações ultraestruturais em complexos cumulus-oócitos de ovinos (COCs) pré-maturados *in vitro* com roscovitina ou ciclohexemida. Para isso, COCs grau 1 e 2 recuperados de ovários de abatedouro foram cultivados em meio de maturação composto de TCM199, Soro Fetal Bovino, Cisteamina, Piruvato, Penicilina, LH e FSH (grupo controle) acrescido de 100µM de roscovitina ou 1µg/mL ciclohexemida (grupos tratamentos) por 24 horas em estufa a 38,5°C e 5% de CO₂. As concentrações dos inibidores da meiose foram baseadas em estudos prévios e informações da literatura. Após o cultivo, os COCs foram fixados em glutaraldeído 2.5% e preparados de acordo com o protocolo estabelecido pelo Centro de Microscopia Eletrônica do IBB-UNESP-Botucatu-SP. Em cada grupo experimental, uma amostra de 10 COCs foi randomicamente selecionada para análise em microscópio eletrônico de transmissão. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 3 grupos experimentais, sendo 5 repetições com 100 oócitos para cada grupo, totalizando 300 oócitos. Os COCs foram avaliados conforme os parâmetros de maturidade descritos por Hyttel et al. (1989, J. Reprod. Fertil., 38, 35-47). Como esperado, os COCs do grupo controle apresentaram sinais de maturidade caracterizados pela expansão total das células do cumulus, ausência de complexos juncionais e mitocôndrias pleomórficas espalhadas por todo ooplasma, algumas destas em associação com grânulos de lipídios e retículo endoplasmático liso, formando unidades metabólicas. Grande quantidade de grânulos corticais estava alinhada com a membrana plasmática. Em contrapartida, nos COCs tratados com 100 µM roscovitina houve expansão parcial do cumulus, redução substancial dos complexos juncionais, as mitocôndrias estavam ingurgitadas, menos eletrodensas e algumas com pontos enegrecidos em seu interior. Além disso, havia poucos grânulos corticais e sinais de degeneração nas células do cumulus. Já no tratamento com 1µg/mL ciclohexemida, foram observadas as mesmas características de maturidade do grupo controle sem sinais de degeneração. Nossos resultados demonstram que a roscovitina na concentração e tempo de inibição preconizados no presente estudo resultaram em alterações estruturais relevantes diferentemente do observado no tratamento com ciclohexemida a 1µg/mL. No entanto, novos estudos são imprescindíveis para verificar a viabilidade de utilização destes fármacos na produção *in vitro* de embriões de ovinos (FAPESP 2011/14041-5).

SBTE 133 OPU, PIV E TE

Sincronização de estro e acompanhamento ultrassonográfico em cabras Toggenburg destinadas a tratamentos superovulatórios**L.V. Esteves¹; F.Z. Brandão¹; F.N. Zambrini²; L.G.B. Siqueira³; J.H.M. Viana³; J.F. Fonseca⁴**¹Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ, Brasil; ²Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, Brasil; ³EMBRAPA Gado de Leite, Coronel Pacheco, MG, Brasil; ⁴EMBRAPA Caprinos e Ovinos, Sobral, CE, Brasil.**Palavras-chave:** sincronização do estro; dinâmica folicular; superovulação em caprinos.

A eficácia da superovulação é dependente do estágio de crescimento folicular presente no ovário no início da administração do FSH. Tratamentos iniciados com maior proximidade da emergência da onda de crescimento folicular demonstraram melhores resultados (Gonzalez-Bulnes et al., 1999, Small Rum Res 34, 65-69; Fonseca et al., 2006, Acta Sci Vet 32, 65-70; Menchaca et al., 2006, Acta Sci Vet 34, 51-58). O objetivo deste estudo foi determinar o número e diâmetros foliculares e dia da emergência folicular em cabras da raça Toggenburg, e utilizar estes parâmetros como base para início de tratamentos superovulatórios. Doze cabras cíclicas foram divididas aleatoriamente de acordo com a condição de escore corporal e status lactacional em dois tratamentos, T1 e T2. As cabras de T1 tiveram seus estros sincronizados com duas doses de 37,5µg prostaglandina latero-vulvar, intervaladas de sete dias (d-cloprostenol; Prolise®, Tecnopec LTDA, São Paulo-SP, Brasil) e as de T2 por meio da inserção de dispositivo intra-vaginal contendo progesterona por 10 dias (CIDR®, Pfizer Saúde Animal, São Paulo, Brasil). Avaliações ultrassonográficas, iniciadas no D0, foram realizadas duas vezes ao dia por 10 dias para mensuração do número e diâmetro dos folículos e dia da emergência das ondas foliculares. Os folículos foram agrupados de acordo com o seu diâmetro em Classe 1 (2,0-3,9mm), 2 (4,0-4,9mm), 3 (5,0-5,9mm) e 4 (≥ 6mm). Decorridos 48 após a segunda aplicação de prostaglandina (T1) e 36 horas após a inserção do CIDR (T2), 66,6% (4/6 e 4/6) dos animais de ambos os tratamentos apresentavam folículos de classe 1 (15,4±6,7) e 2 (4,3±5,3) predominantemente com relação aos folículos da classe 3 (1,8±1,0) e 4 (1,0±0,0). O perfil das classes 1 e 2 sugere que a emergência folicular esteja acontecendo nestes momentos para animais de T1 e T2. Adicionalmente, o perfil das classes 3 e 4 sugere que efeitos deletérios de folículos dominantes podem ser mínimos no mesmo período. Estes parâmetros podem ser levados em conta para iniciar a superovulação em cabras cíclicas da raça Toggenburg.

Suporte financeiro: FAPEMIG (CVZ 001367-9).