Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, 18, 2009, Belo Horizonte, MG. *Anais* ... Belo Horizonte: CBRA, 2009. (CD-ROM). ISSN1984-871.

Maturação *in vitro* de oócitos bovinos em banho-maria

In vitro maturation of bovine oocytes in water-bath

G.B. Mota[1], I. Oliveira e Silva[1], A.A.M. Rosa e Silva[1], J.H.M. Viana[2], L.S.A Camargo[2]

[1]Universidade de Brasília, FM-Ciências Médicas; [2]Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora-MG
E-mail: motagb@gmail.com

Introdução

Na biotécnica de produção *in vitro* de embriões bovinos, dar início aos procedimentos de maturação *in vitro* (MIV) dos CCOs (complexos *cumulus* oócitos) logo após aspiração sem a necessidade de incubadoras ou cilindros de CO_2 é de grande importância, devido às dificuldades de transporte de equipamentos. O objetivo do presente estudo foi avaliar o desenvolvimento *in vitro* de oócitos maturados em TCM199 por 21 horas em banho-maria visando facilitar o procedimento de transporte.

Material e Métodos

Os CCOs aspirados de folículos (3-8mm) de ovários bovinos coletados em abatedouro local, foram selecionados morfologicamente e distribuídos em dois tratamentos: T1(n=166)-MIV em TCM199+10% de soro de vaca em estro (SVE)+FSH em estufa a 38,5 ºC, com 5% de CO_2 por 24h; T2(n=142)-MIV em TCM199+10% de SVE+FSH no interior de criotubos hermeticamente fechados mantidos em banho-maria (38,5ºC) por 21h + 3h em estufa com 5% de CO_2. O meio de maturação de T2 foi previamente equilibrado em estufa com 5% de CO_2 e mantido resfriado por 12h em criotubos hermeticamente fechados. Antes do uso, os criotubos foram aquecidos no banho-maria e abertos somente para a introdução dos CCOs. Os procedimentos de fecundação (D0) e cultivo *in vitro* foram adaptados de Camargo et al. (2005). As taxas de clivagem (D2) e blastocisto (D8) foram analisadas pelo teste de Qui-quadrado ($p<0,05$).

Resultados e Discussão

As taxas de clivagem (T1=63,3% e T2=62,7%) e blastocisto (T1=22.3% e T2=20,4%) foram semelhantes ($p>0,05$) entre os tratamentos. Leivas et al (2004), verificaram que o transporte simulado de COCs em banho-maria por 18h em TCM199 tamponado com HEPES + 6h em estufa, diminuiu a taxa de blastocisto. O equilíbrio prévio do pH do meio com CO_2, eliminando a necessidade do tampão HEPES, realizado no presente trabalho é o provável motivo para os resultados divergentes, uma vez que o HEPES pode ser tóxico às células (Bowman et al., 1985). Dessa forma, o equilíbrio prévio do meio de maturação em CO_2 e seu resfriamento torna possível conduzir a maturação de COCs a 38,5ºC sem incubadora por período de 21h sem comprometer o desenvolvimento *in vitro*, facilitando o transporte dos oócitos.

Referências bibliográficas

Camargo LSA, Viana JHM, Sá WF. Developmental competence of oocytes from prepubertal *Bos indicus* crossbred cattle. Anim Reprod Sci, v.85, p.53-59, 2005.

Leivas FG, Brum DS, Mezzalira A. Transporte de oócitos bovinos em meio de maturação sem controle de atmosfera gasosa. Ciência Rural, v.34, p.219-224, 2004.

Bowman CM, Berger EM, Butler EN. HEPES may stimulate cultured endothelial cells to make growth-retarding oxygen metabolites. In Vitro Cell Dev Biol, v.21, p.140-142, 1985.

Palavras-chave: bovino, oócito, maturação.
Keywords: bovine, oocyte, maturation.

SP 4493
P.146