

Utilização de mini gradientes na seleção espermática para a produção *in vitro* de embriões bovinos

Liziane Lemos Vianna^{1,3,4*}; Jorgea Pradieé^{3,4}; Ledi Bitencurt Anghinoni³; Elisa Carolina Santos^{3,4}; Alexander Oliveira Gonçalves⁴; Marcio Nunes Corrêa^{1,2}; Lígia Margareth Cantarelli Pegoraro³

¹ Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária, UFPel,; ² Professor(a), UFPel;

³ Laboratório de Reprodução Animal, Embrapa Clima Temperado; ⁴ Estudante de Pós-Graduação, UFPel. lizianelv@yahoo.com.br

A produção *in vitro* de embriões bovinos é uma biotécnica difundida mundialmente. Porém, alguns fatores, como o baixo rendimento de embriões ainda é um ponto limitante a utilização dessa técnica. O objetivo deste estudo foi comparar o desenvolvimento de embriões bovinos produzidos *in vitro* a partir da utilização de três gradientes de densidade para a seleção espermática: Percoll, Optiprep e Isolate. Os complexos cumulus-oócitos (CCOs) foram aspirados de ovários oriundos de vacas de abatedouro, selecionados e destinados a maturação (MIV) por 22 h. Para a seleção espermática, os gradientes foram preparados em diferentes concentrações, Percoll (P) (90 e 45%, volume total de 4 mL), Minipercoll (MP) (90 e 45%, volume total de 800 µL), Minioprep (MO) (30, 28 e 26%, volume total de 1,2 mL) e Miniisolate (MI) (90 e 45%, volume total de 800 µL), a partir da diluição destes em meio Sp-TALP. No momento da fecundação (FIV), o sêmen foi descongelado e adicionado sobre os gradientes. O Percoll foi centrifugado por 20 min a 700xg, OP por 15 min a 900xg e MP e o MI por 5 min a 700xg. Os CCOs foram divididos aleatoriamente entre os tratamentos, P (n=830), MP (n=897), MO (n=780) e MI (n=648), inseminados e mantidos por 18 h no meio de FIV. Após foram transferidos para o meio de cultivo (SOFaa) e incubados (CIV) por 8 dias. A MIV, a FIV e o CIV foram realizados em estufa a 39°C e 5% de CO₂. Considerando o D-0 como dia da FIV, as avaliações da clivagem foram efetuadas em D-2 e do desenvolvimento embrionário em D-7 e D-8. Para análise estatística foi utilizado o teste do Qui-quadrado, considerando 5% de nível de significância, comparando a taxa de clivagem (clivados/inseminados) e desenvolvimento embrionário (desenvolvidos/inseminados). O tratamento denominado Percoll foi utilizado como controle, devido a sua eficácia já comprovada. Quanto à taxa de clivagem, o MP e o MO diferiram do P (70% P *versus* 66% MP e 58% MO, P < 0,05). Já para o desenvolvimento embrionário em D7 somente o MI diferiu do P (19% P *versus* 24% MI) e em D8 não foi observada diferença dos tratamentos para o controle. Os resultados demonstraram que o volume do gradiente, o tempo de centrifugação e a composição do gradiente não prejudicaram a taxa de desenvolvimento embrionário em D7 e D8. Assim, o MP, MO e MI são alternativas a serem usadas na rotina de produção *in vitro* de embriões bovinos.

Palavras-chave: bovino, gradiente de seleção espermática, desenvolvimento embrionário.

“Apoio: Capes e NUPEEC (Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária)”