

## R161 - EMBRIOLOGIA, BIOLOGIA DO DESENVOLVIMENTO E FISIOLOGIA DA REPRODUÇÃO

**B-MERCAPTOETANOL NA MATURAÇÃO E CULTIVO IN VITRO DE EMBRIÕES OVINOS****JORGEA PRADIEÉ<sup>1</sup>; LIZIANE LEMOS VIANNA<sup>2</sup>; ALEXANDER OLIVEIRA GONÇALVES<sup>3</sup>; ELISA CAROLINE DA SILVA SANTOS<sup>4</sup>; RAFAEL GIANELA MONDADORI<sup>5</sup>; THOMAZ LUCIA JR<sup>6</sup>; ARNALDO DINIZ VIEIRA<sup>7</sup>; LIGIA MARGARETH CANTARELLI PEGORARO<sup>8</sup>**<sup>1,2,3,4,5,6,7</sup>UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS, PELOTAS, RS, BRASIL; <sup>8</sup>EMBRAPA, PELOTAS, RS, BRASIL**Palavras-chave:** ovinos; embriões; antioxidante

Dentre os vários fatores limitantes para o sucesso PIV em ovinos, estão as espécies reativas de oxigênio (ROS). Estas substâncias são provenientes do metabolismo celular, e afetam principalmente espécies com alto conteúdo lipídico ovocitário, como os ovinos. Fisiologicamente sua ação é bloqueada por antioxidantes como a glutatona (GSH). Entretanto, a concentração deste agente é limitada nas principais etapas do processo de PIV. Neste sentido a utilização de substâncias antioxidantes, que impedem ou diminuem a oxidação, esta sendo cada vez mais usada na tentativa de diminuir os danos causados às células. O objetivo do presente trabalho é avaliar a suplementação de 20 µM de βME ao meio de MIV e CIV, precursor da GSH. Para obtenção dos complexos cumulus-ócitos (COC), foram realizadas 6 repetições de coletas de ovários de ovelhas púberes. Os ovários foram mantidos a 30°C em solução salina e antibiótico durante o transporte do frigorífico ao laboratório, onde se procedeu a recuperação e seleção dos CCOs. Os CCO selecionados para MIV foram utilizados na constituição de dois tratamentos: βME (n=328) (meios de MIV e CIV) e controle (n=320) (meios de MIV e CIV sem βME). A MIV foi realizada em meio TCM 199 adicionado de estradiol, FSH/LH, piruvato, soro de ovelha no cio e antibióticos, durante 22-24h. O processo de seleção espermática foi efetuado pelo método de migração ascendente (swim up) em meio tris-glucose-ácido cítrico com sêmen fresco. Na FIV (18-22 h) foi utilizado 1 x 10<sup>6</sup> spmtz/ml em meio SOF adicionado de 2% de soro de ovelha em cio. Após a FIV os prováveis zigotos desnudados e cultivados por 8 dias em meio SOFaa com 2,5% SFB. Todas as etapas envolvidas na técnica (MIV, FIV e CIV) foram efetuadas em estufa a 39°C com 5% de CO<sub>2</sub> e umidade saturada. Como critérios de viabilidade foram considerados as taxas de desenvolvimento embrionário, avaliados em 2 períodos: em D2 (taxa de clivagem: clivados/inseminados) e D8 (blastocistos/clivados). Os dados foram analisados pelo teste qui-quadrado. Os dois grupos apresentaram a mesma taxa de clivagem (70%). Entretanto, as taxas de desenvolvimento embrionário foram diferentes (P<0,001) entre o tratamento controle (17%) e βME (5%). Conclui-se que na concentração utilizada, a adição de βME não afetou a taxa de clivagem, porém reduziu a taxa de desenvolvimento até o estágio de blastocisto. Novos estudos devem ser realizados com intuito de ajustar a concentração de βME a ser utilizado na MIV e CIV de embriões ovinos

## R162 - EMBRIOLOGIA, BIOLOGIA DO DESENVOLVIMENTO E FISIOLOGIA DA REPRODUÇÃO

**ADIÇÃO DO FATOR DE CRESCIMENTO NEURAL EM MEIOS DE MATURAÇÃO E DESENVOLVIMENTO PARA PRODUÇÃO IN VITRO DE EMBRIÕES OVINOS****M. VILARIÑO<sup>1</sup>; M. CRISPO<sup>2</sup>; P. C. DOS SANTOS-NETO<sup>3</sup>; R. WIJMA<sup>4</sup>; N. BARRERA<sup>5</sup>; A. DE LEÓN<sup>6</sup>; L. BARBEITO<sup>7</sup>; A. MENCHACA<sup>8</sup>**<sup>1,3,4,5,6,7,8</sup>FUNDACIÓN IRAUY, MONTEVIDEO, URUGUAI; <sup>2,6,7</sup>INSTITUTO PASTEUR DE MONTEVIDEO, MONTEVIDEO, URUGUAI**Palavras-chave:** fcN; produção *in vitro*; embriões ovelhas

Fator de crescimento neural (FCN) é um fator neurotrófico que promove a sobrevivência e proliferação em diferentes tipos de células não-neuronais. No presente estudo, avaliamos o efeito do FCN sobre a produção *in vitro* de embriões ovinos. Um total de 1342 complexos cumulus ovócitos (CCOs) com pelo menos duas camadas de células da granulosa e citoplasma homogêneo foram selecionados para maturação *in vitro* (MIV) após aspiração de ovários obtidos de um abatedouro local. Os CCOs foram incubados em grupos de 25-30 em gotas de 100 µl de TCM199 suplementados com 10% soro de ovelha em estro, 10 µg/ml FSH, 10 µg/ml LH, 100 µM de cisteamina e antibióticos sob óleo mineral por 24h, a 39°C e 5% CO<sub>2</sub>. Para fertilização *in vitro* (FIV), ovócitos maturados (25-30/100 µl gota) foram incubados por 22 h em meio de fertilização com sêmen congelado na concentração de 1x10<sup>6</sup> selecionados pelo método de swim up. O meio de fertilização consiste em synthetic oviductal fluid (SOF) suplementado com 2% de soro de ovelha em estro, 10 µg/ml de heparina e 10 µg/ml de hipotaurina. Para desenvolvimento *in vitro* (DIV) zigotos (25-30/100 µl gota) foram alocados em SOF acrescido de aminoácidos e BSA sob óleo mineral a 39°C e 5% O<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub>, 90% N<sub>2</sub>. FCN foi avaliado usando concentrações de 0, 100 ou 1000 ng/ml durante a MIV (0 ng/ml, n=226; 100 ng/ml, n=264 e 1000 ng/ml, n=286), e DIV (0 ng/ml, n=191, 100 ng/ml, n=189 e 1000 ng/ml, n=186). As taxas de clivagem (embriões duas células/ovócito) e taxa de desenvolvimento (mórula e blastocistos/ovócito) foram avaliadas às 48 h e seis dias em cultivo após fertilização, respectivamente. Análise estatística foi realizada por regressão logística. Para MIV, não houve diferenças sobre as taxas de clivagem (46%, 104/226; 54.5%, 144/264; e 50%, 143/286) e taxa de desenvolvimento (12.4%, 28/226; 17.8%, 47/264; e 13.6%, 39/286), e para taxa de desenvolvidos/taxa de clivagem (26.9%, 28/104; 32.6%, 47/144; e 27.3%, 39/143) em 0, 100 e 1000 ng/ml de FCN, respectivamente. Quando FCN usado durante DIV, não houve diferenças sobre a taxa de desenvolvimento (41.4%, 79/191; 45.5%, 86/189; e 46.8%, 87/186) e taxa de desenvolvidos/taxa de clivados (53.7%, 79/147; 57%, 86/151; e 56.5%, 87/154) para 0, 100 e 1000 ng/ml de FCN, respectivamente. Estes resultados sugerem que o uso de FCN durante a maturação e desenvolvimento não afeta o número de embriões ovinos produzidos *in vitro*.