



## CONGELABILIDADE DE EMBRIÕES DE FIV (FERTILIZAÇÃO *IN VITRO*) ORIUNDOS DE VACAS NELORES SUPLEMENTADAS COM CANOLA EM GRÃO

Carlos Henrique Vedana<sup>1</sup>; Rafael Alberto Balestrin<sup>1</sup>; Fábio Luiz Bim Cavalieri<sup>2</sup>; Luiz Paulo Rigolon<sup>2</sup>; Milena Brandão Seko<sup>4</sup>.

**RESUMO:** O aproveitamento máximo de estruturas (embriões e oócitos) recuperáveis de uma vaca, com a possibilidade de preservá-las através da criopreservação, é a garantia de sucesso em programas de transferência de embriões e fertilização *in vitro*. Desta maneira a descoberta e aprofundamento de técnicas que otimizem ainda mais este aproveitamento se fazem necessários. Pensando nessas inovações, o experimento será realizado no Centro de Biotecnologia da Reprodução – BIOTEC. Serão utilizadas 12 vacas nelore, proveniente do mesmo grupo genético distribuídos em dois grupos: Tratamento 1 = controle (silagem+concentrado) e Tratamento 2 = Canola (silagem+concentrado+canola). Após 45 dias as vacas serão aspiradas (aspiração folicular), esta primeira aspiração será desprezada e em seguida serão realizadas mais quatro aspirações em cada animal, com intervalo de quinze dias, para obtenção de óocitos suficientes para fecundação *in vitro*. Os oócitos serão quantificados e classificados como: bom, regular e ruim conforme descrito por Leibfried & First (1979). A maturação será realizada em TCM199 com sais de Earles, glutamina e NaHCO<sub>3</sub>, suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB), 22 µg/mL piruvato, 50 µg/mL de gentamicina, 0,5 µg de FSH/mL, 50 µg de LH/mL e 1 µg de estradiol/mL, mantidos em estufa, a 38,5°C, 5% de CO<sub>2</sub> em ar com máxima umidade durante 22-24 horas. Durante esse período os CCOs (complexo cumulus-ovócitos) permaneceram em microgotas de 100µl de meio de maturação coberta por óleo mineral. A fecundação será realizado em 100 µL de meio TALP suplementado com 10 µg/mL de heparina, 22 µL/mL de piruvato, 50 µg/mL de gentamicina, albumina sérica bovina-BSA (sem ácidos graxos), solução de PHE (2 µM de penicilina, 1 µM de hipotaurina e 0,25 µM de epinefrina). O sêmen será de touro da raça Nelore, descongelado em banho-maria a 35 °C. Será utilizado 2x10<sup>6</sup> espermatozoides/mL e após 30 minutos de incubação dos espermatozoides, os CCOs serão transferidos para as microgotas (20 oócitos/gota), onde permaneceram por 10 a 18 horas, a 38,5 °C, em atmosfera com 5% de CO<sub>2</sub> em ar. Após a realização da fertilização, os zigotos serão cultivados *in vitro* no meio SOF suplementado com SFB, com monocamada de células da granulosa. O cultivo será realizado por 18 horas pós-inseminação, em incubadora, com atmosfera gasosa contendo 20% CO<sub>2</sub> em ar, com máxima umidade. Decorrido 48 horas, será avaliado a taxa de clivagem e realizado a renovação do meio de cultivo. Serão realizadas duas outras avaliações, no estágio de mórula (8 células), blastocisto inicial. Após os embriões serão vitrificados. Em seguida descongelados voltando para incubadora, com atmosfera gasosa contendo 20% CO<sub>2</sub> em ar, com máxima umidade, observando com 06, 12 e 24 horas se estes embriões chegaram a blastocisto, blastocisto expandido e blastocisto eclodido. O delineamento experimental será totalmente casualizado e os animais serão distribuídos em dois tratamentos de acordo com o modelo estatístico proposto, para a variável taxa de blastocisto, mórulas e eclosão será utilizado a distribuição de probabilidade binomial e a função de ligação logística, estimados por meio da metodologia de modelos lineares generalizados (Nelder e Wedderburn, 1972), utilizando-se o software GLIM 4.0.

**PALAVRAS-CHAVE:** Vitrificação.

<sup>1</sup> Bolsistas de IC/Fundação Araucária; <sup>2</sup>Professores do Curso de Medicina Veterinária do Cesumar;  
<sup>3</sup> Médico Veterinários, <sup>4</sup> Bióloga do Biotec-Cesumar .