



PRODUÇÃO IN VITRO DE EMBRIÕES EM CULTURA INDIVIDUAL E EM GRUPO

Carlos Henrique de Oliveira Constant¹; Antonio Guilherme Roncada Pupulim¹; Isabele Picada Emanuelli²

RESUMO: A produção in vitro de embriões (PIV) envolve as etapas de coleta de oócitos, maturação in vitro (MIV), fertilização in vitro (FIV), bem como o cultivo in vitro (CIV) de zigotos e estruturas embrionárias. Entretanto, ainda encontramos muitos problemas relacionados, principalmente, a parte do cultivo in vitro. Alguns destes problemas estão relacionados à suplementação protéica, ao meio de cultivo, além do número de embriões cultivados por gota de cultivo. Além disso, sabemos que quando se cultiva grandes grupos de embriões por gota, há uma maior produção de fatores de crescimento, que auxiliam no desenvolvimento dos embriões, por outro lado, há uma maior produção de substâncias tóxicas que prejudicam os mesmos. Com base nestas evidências, o trabalho terá como objetivo verificar a influência do número de zigotos na taxa de blastocisto de embriões bovinos cultivados in vitro. Os ovários serão coletados de vacas azebuadas provenientes dos frigoríficos Friboi, Maringá-PR e Frigoprata, Colorado-PR e transportados em soro fisiológico até o laboratório de Biotecnologia do Cesumar (BIOTEC), onde serão puncionados para a recuperação de seus oócitos. Para este experimento serão selecionados apenas os oócitos de boa qualidade morfológica (ooplasma homogêneo e com mais de três camadas de células do cumulus compactas). Em seguida os oócitos serão separados em seis grupos: os grupos G1A e G1B de cultivo individual de embriões, onde G1A será desenvolvido em micro-poços e G1B em gota de 70µL, os seguintes grupos serão, G5 com 5 embriões, G10 com 10 embriões, G15 com 15 embriões e G20 com 20 embriões, cultivados em gotas de 70µL. Os oócitos dos seis grupos serão lavados com meio TCM 199 e maturados em gotas contendo 10% de soro fetal bovino, gentamicina, piruvato, LH e FSH, sendo cobertos com óleo mineral, colocados em placas de petri e levadas a uma estufa a 30°C e 5% de CO₂, durante 22 a 24 horas. Após a maturação, os oócitos serão lavados e colocados em gotas de 70µL de meio FIV juntamente com os espermatozoides na concentração de 2x10⁶/mL, permanecendo por 18 horas nas mesmas condições da maturação. Após a fecundação serão retiradas parcialmente as células do cumulus dos zigotos que serão lavados por três vezes em meio de cultivo embrionário suplementado com 10% de SFB, 25µL de gentamicina e 22µg/mL de piruvato. Em seguida serão colocados nas gotas de 70µL contendo meio CIV e cultivados em uma atmosfera controlada a 5% de CO₂, 5% de O₂ balanceado em N₂ a 38,5°C. Durante o cultivo dos embriões serão realizadas as seguintes observações: no dia 3 a taxa de clivagem, no dia 7 a taxa de blastocistos e no dia 9 a taxa de eclosão dos blastocistos. Esperamos obter como resultado desse trabalho a densidade ideal de embriões por gota que não altere a cinética do desenvolvimento embrionário, bem como a taxa de produção de blastocisto e eclosão dos mesmos.

PALAVRAS-CHAVE: Bovino, desenvolvimento embrionário, sistema de cultivo *in vitro*

¹ Acadêmicos do Curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário de Maringá – Cesumar. Programa de Bolsas de Iniciação Científica do Cesumar (PROBIC). carloshoconstant@yahoo.com.br, tonhu87@hotmail.com

² Orientadora e docente do Centro Universitário de Maringá – CESUMAR. isabele@cesumar.br