



Evento	Salão UFRGS 2018: SIC - XXX SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2018
Local	Campus do Vale - UFRGS
Título	Vitrificação de mórulas (D5) bovinas produzidas in vitro
Autor	LOUISE FONTOURA KOHLER
Orientador	MARCELO BERTOLINI

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL - UFRGS
FACULDADE DE VETERINÁRIA
LABORATÓRIO DE EMBRIOLOGIA E BIOTÉCNICAS DA REPRODUÇÃO

Autor: Louise Fontoura Köhler
Orientador: Prof. Dr. Marcelo Bertolini

Vitrificação de mórulas (D5) bovinas produzidas *in vitro*

Em meados da década de 1980, a vitrificação de embriões foi descrita por Rall e Fahy (<https://www.nature.com/articles/313573a0.pdf>) como um modo de criopreservação de embriões alternativo à congelação. Essa técnica se mostrou, em algumas aplicações, mais rápida, econômica e supostamente menos prejudicial às células, devido à alta viscosidade das soluções, que promovem a obtenção de um estado vítreo e impedem a formação de cristais de gelo intra e extracelulares. Métodos de armazenamento dessas estruturas que permitam a utilização de um reduzido volume de crioprotetor (para que haja um resfriamento mais rápido) vêm sendo estudadas, como, por exemplo, *open pulled straw* (OPS), grade de microscopia eletrônica e *nylon loop*. O objetivo deste experimento foi comparar duas formas de acondicionamento dos embriões (em capilares e tubos de microcentrífuga) e avaliar sua viabilidade após o processo de vitrificação. Complexos *cumulus*-oócito (COC) bovinos foram obtidos, por aspiração folicular, de ovários de abatedouro, selecionados e colocados em maturação *in vitro* por 20 h. Após, foi realizada a fecundação *in vitro* e o cultivo *in vitro* em meio SOF modificado. No Dia 5 (D5) do desenvolvimento *in vitro*, as mórulas jovens (com aproximadamente 16 células) foram selecionadas e divididas de maneira aleatória entre os grupos experimentais (I, II e controle), e submetidas à vitrificação. Os embriões dos dois grupos experimentais foram expostos à solução de desidratação (PBSm + 0,4% BSA + 3,2 M etileno glicol) por 1 min e, em seguida, à solução de vitrificação (PBSm + 0,4% BSA + 0,1% PVA + 0,5 M sacarose + 9,6 M etileno glicol) por 5 s. Os embriões do Grupo I foram envasados, por capilaridade, em tubos de micro-hematócrito que foram imediatamente imersos em nitrogênio líquido. Em cada capilar foram armazenados até 3 embriões. No Grupo II, gotas de até 5 µL contendo 3 embriões foram transferidas para tubos de microcentrífuga que se encontravam em contato com o nitrogênio líquido. Para reaquecer as mórulas, o conteúdo dos micro-hematócritos foi transferido para uma solução de PBSm + 0,4% BSA + 0,25 M sacarose à 37°C, e, após 3 min, os embriões foram transferidos para gotas de meio SOF e colocados em cultivo *in vitro*. O aquecimento das mórulas acondicionadas em tubos de microcentrífuga foi realizado com a adição ao tubo de 1,0 mL de PBSm + 0,4% BSA + 0,25 M sacarose à 37°C. Até o presente momento, foram realizadas três replicações e vitrificadas 54 mórulas, ainda por serem aquecidas para avaliação. A viabilidade desses embriões será avaliada pela taxa de blastocistos eclodidos após o cultivo *in vitro* durante 72 h. A análise estatística dos dados será realizada com o auxílio do teste χ^2 ($p \leq 0,05$).

