



Evento	Salão UFRGS 2013: SIC - XXV SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2013
Local	Porto Alegre - RS
Título	Proporção de oócitos competentes em folículos pré antrais bovinos, determinada através da enzima glicose-6-fostato desidrogenase
Autor	GUSTAVO DA ROSA FÜNKLER
Orientador	JOSE LUIZ RIGO RODRIGUES

Durante o processo de produção *in vitro* (PIV) de embriões bovinos, uma das causas da baixa eficiência é a incapacidade de selecionar oócitos competentes à maturação *in vitro*. Atualmente, o critério de seleção é baseado na morfologia do gameta, no entanto bioquimicamente este gameta pode não ter concluído o seu crescimento, logo, não responderá à maturação *in vitro* (MIV). Uma das técnicas para avaliar a competência (finalização do crescimento) do oócito em maturar é através da atividade da enzima Glicose-6-Fosfato Desidrogenase (G6PDH), pois em oócitos não competentes à MIV (ainda em crescimento) a atividade enzimática é intensa, enquanto que em oócitos competentes (completo crescimento) há a inatividade da enzima. Um procedimento de determinar a atividade da enzima G6PDH é através do teste do BCB (*Brilliant Cresyl Blue*) onde o corante penetra a célula e caso seja degradado pela enzima G6PDH não altera a cor do citoplasma (BCB-) ou no caso de inatividade enzimática o citoplasma se colora de azul (BCB+). O objetivo do experimento foi avaliar a proporção de oócitos BCB+ e BCB- no *pool* de folículos antrais (2-8 mm de diâmetro) em ovários bovinos coletados no abatedouro Lider (Viamão-RS). Nas seis replicações os ovários foram transportados ao laboratório em tempo inferior à 2h, mantidos em garrafa térmica contendo PBSm à 35°C. No laboratório, os ovários foram submetidos à punção folicular (2-8 mm de diâmetro) utilizando uma seringa descartável de 10 mL com agulha hipodérmica (14G). O conteúdo folicular foi colocado em tubos Falcon (15 mL) em banho-maria (37°C) para separar as estruturas. O precipitado (*pellet*) foi diluído em PBSm acrescido de 0,4% de BSA, colocado em placa de petri descartável (90 mm) para a busca dos complexos *cumuli*-oócitos (CCOs) com auxílio de estereomicroscópico (30X). Os CCOs identificados foram transferidos para o meio TCM_{air} (TCM199 com sais de Earle, acrescido de 0,1% de BSA). Após a finalização das buscas, os CCOs classificados como viáveis (com citoplasma homogêneo e presença de mais de três camadas de células do *cumuli* compactadas) foram cultivados na presença do BCB (PBSm acrescido de 0,1% de BSA e 26 µM de BCB) durante 90 min em estufa a 38,5°C com umidade saturada em ar atmosférico. Após o período de cultivo os CCOs foram classificados de acordo com a coloração do citoplasma. Dos 1022 CCOs viáveis 611 apresentaram coloração citoplasmática azul (BCB+) e 411 apresentaram citoplasma incolor (BCB-), se obtendo uma média da razão BCB+/BCB- igual a $1,8 \pm 1,3$. Das seis repetições, quatro apresentaram maior proporção de BCB+ com razão de $2,3 \pm 1,3$ e em duas repetições houve maior proporção de BCB-, tendo a razão desviada para $1,3 \pm 0,1$. Os resultados do BCB nos permitem concluir que 56% dos oócitos obtidos por punção folicular *in vitro* de ovários bovinos apresentam competência para serem submetidos com sucesso à MIV.