

226

AVALIAÇÃO DE DIFERENTES PARÂMETROS DE FUSÃO NA RECONSTRUÇÃO DE EMBRIÕES CLONES SUÍNOS UTILIZANDO CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS COMO DOADORAS DE NÚCLEO.*Cristiano Feltrin, Alecsandra Sobreira de Lima, Elisa Monaco, Shanna Wilson, Matthew Wheeler, Jose Luiz Rigo Rodrigues (orient.) (UFRGS).*

Durante os últimos anos a embriologia experimental em suínos alcançou um considerável avanço, embora os resultados obtidos nesta espécie ainda necessitem de um significativo incremento. Um dos pontos críticos na produção *in vitro* de embriões clones suínos é a etapa de fusão. O objetivo do presente estudo foi comparar diferentes parâmetros de fusão e, após, avaliá-los quanto à reconstrução de estruturas embrionárias por rotina, utilizando a técnica de handmade cloning (HMC) e células-tronco mesenquimais. Oócitos obtidos de ovários de abatedouro (n=1008) foram maturados *in vitro* durante 44h. Após, foi realizada a digestão da zona pelúcida com pronase e os oócitos foram bisseccionados. Para a seleção dos hemi-oócitos, estes foram expostos a luz UV, onde as metades que apresentavam a placa metafásica eram então descartadas. Durante a reconstrução, os hemi-oócitos foram expostos em uma solução contendo fitohemoaglutinina e na etapa de fusão, realizada em 0.3M manitol, a estruturas foram divididas em três grupos: G1 - dois pulsos de 0.6Kv/cm; G2 - dois pulsos de 0.9Kv/cm e G3 - dois pulsos de 1.2Kv/cm. No G1, a taxa de fusão foi de 43% (25/ 58) sendo que 72 % dos embriões reconstruídos clivaram (18/25). No G2, a taxa de fusão foi de 87% (56/ 64) e a de clivagem foi 80% (45/64). No G3, a taxa de fusão foi de 79% (53/67) e a taxa de clivagem foi de 69% (37/53). Não houve diferença significativa quanto a taxa de fusão entre o G2 e o G3, entretanto a taxa de fusão nestes dois grupos foi significativamente superior ao G1, mas não houve diferença significativa entre os grupos quanto a taxa de clivagem ($p < 0, 05$). Portanto, tanto o parâmetro de 0.9Kv/cm e o de 1.2Kv/cm, foram mais eficientes para a reconstrução de estruturas embrionárias, quando comparados ao parâmetro de 0.6Kv/cm.