

289

OTIMIZAÇÃO DA TÉCNICA DE “HANDMADE CLONING” NA PRODUÇÃO IN VITRO DE EMBRIÕES CLONES BOVINOS. *Cristiano Feltrin, Fabiana Forell, Lucila Carboneiro dos Santos, Natalia Schmidt Arruda, Leandro Franke Gonçalves, Eduardo Allix, Jose Luiz Rigo Rodrigues (orient.)*

(UFRGS).

A baixa eficiência na produção *in vitro* de clones bovinos tem dificultado a difusão desta biotécnica no âmbito da reprodução. A técnica de "handmade cloning" (HMC) exige a utilização de um menor número de equipamentos e menor tempo de treinamento, além de permitir a reconstituição de um número maior de estruturas embrionárias por rotina. O objetivo deste experimento foi otimizar a técnica de HMC, descrita por Vajta (2003), através da simplificação da técnica e de modificações no sistema de cultivo *in vitro*. Oócitos coletados de ovários de abatedouro foram maturados *in vitro* durante 17h. Após a digestão enzimática (Pronase-E) da zona pelúcida, os oócitos foram divididos manualmente com o auxílio de uma lâmina de microsecção. A partir da visualização das estruturas que não apresentavam DNA, foi realizada a reconstituição do volume citoplasmático inicial do oócito, utilizando-se duas metades mais a célula somática bovina, através da exposição a fitohemoaglutinina. Finalmente, os complexos oócitos receptores - núcleos doadores (CRND) foram fusionados com o auxílio de uma câmara de eletrofusão. A indução da ativação foi realizada pela exposição à ionomicina e 6-DMAP. No cultivo *in vitro*, realizado em meio SOFaa, os CRNDs foram divididos em dois grupos (três replicações) - G1: poço reduzido e G2: poço convencional. No G1, a taxa de clivagem foi de 80, 4 % (37/46) e a taxa de blastocisto foi de 26, 08% (12/46). No G2, a taxa de clivagem foi de 69, 2% (36/52) e a taxa de blastocisto foi de 11, 53% (6/52). A redução no tamanho do poço de cultivo permitiu um incremento nas taxas de clivagem e de blastocisto, por proporcionar uma maior agregação entre os blastômeros durante o desenvolvimento embrionário. (PIBIC).