

AVALIAÇÃO DA MELATONINA NA MATURAÇÃO DE OÓCITOS PARA PRODUÇÃO *IN VITRO* DE EMBRIÕES CAPRINOS

Yndyra Nayan Teixeira Carvalho (bolsista do PIBIC/CNPq), Marlon de Araujo Castelo Branco (colaborador, UFPI), Isouda Márcia do Nascimento (Co-orientadora, UFPI), Antonio de Sousa Júnior (colaborador, UFPI), José Adalmir Torres de Souza (Orientador Depto de Clínica e Cirurgia Veterinária – UFPI)

INTRODUÇÃO

A caprinocultura é uma atividade econômica em contínua expansão no Brasil e de grande importância em todo o mundo, principalmente em países subdesenvolvidos ou em desenvolvimento. Este fato não se dá por incentivos governamentais, mas pela incrível capacidade de adaptação destas espécies a diferentes condições de ambiente e a situações edafoclimáticas das mais rigorosas em todo o mundo (Gusmão et al. 2005).

Nesse contexto, a intensificação do manejo reprodutivo e o melhoramento genético constituem etapas fundamentais para a expansão da atividade de forma competitiva, sendo os programas de reprodução assistida e o uso de biotecnologias ferramentas otimizadoras do processo (Bicudo et al., 2003).

A produção *in vitro* de embriões (PIVE) de mamíferos domésticos de interesse econômico, por meio das técnicas de maturação (MIV), fecundação (FIV) e cultivo *in vitro* (CIV), é uma importante biotécnica da reprodução associada ao aumento da produtividade. Em caprinos tem uma importância fundamental principalmente devido a produção de material para pesquisa básica a um baixo custo.

Os hormônios têm sido estudados nessa espécie. A melatonina tem sido avaliada associada ao fotoperíodo natural e suas relações com o período claro e escuro (Alila-Johansson et al., 2001), entretanto não se sabe ainda como a mesma pode interferir na maturação de oócitos desta espécie. Por isto o objetivo do presente experimento foi avaliar o suplemento de melatonina em diferentes concentrações no meio de maturação de oócitos a fim de verificar a interferência deste hormônio na maturação *in vitro* de oócitos caprinos.

METODOLOGIA

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Biotecnologia de Reprodução Animal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Piauí (UFPI), durante o período de agosto de 2010 a julho de 2011.

Os ovários de caprinos foram adquiridos em matadouro da região de Teresina-PI e transportados ao Laboratório em temperatura de 39°C. Ao chegar ao laboratório foi realizada a punção folicular para obtenção do aspirado oocitário. A punção folicular foi feita em folículos com diâmetro de 2 a 8 milímetros, usando agulha de 21G, acoplados a uma seringa de 10ml. O líquido folicular aspirado foi colocado em Banho - Maria a temperatura de 39°C por 15 minutos. Para procura e seleção dos complexos - cumulus - oócitos (COCs), o fluido oocitário foi colocado dentro de uma placa de Petri de 15 x 20 mm de diâmetro, contendo meio de maturação (TCM - 199).

Manuseado em capela de fluxo laminar e sob estereoscópio (aumento de 10 a 60X), os COCs foram avaliados morfológicamente e submetidos a sucessivas lavagens no meio TCM - 199. Em

seguida foram selecionados oócitos com cumulus desnudo e com cumulus compacto, variação esta que dependeu da qualidade dos ovários adquiridos.

Os oócitos selecionados foram distribuídos em três placas distintas correspondente a três tratamentos (Tratamento 1 (Grupo controle) oócitos cultivados em meio TCM 199 (400uM). Tratamento 2 (Grupo Melatonina 10 uM) oócitos cultivados em meio TCM 199 (400ul) acrescidos de 10 uM de melatonina. Tratamento 3 (Grupo Melatonina 100uM) oócitos cultivados em meio TCM 199 (400ul) acrescidos de 100 uM de melatonina), onde foram maturados em microgotas de 400ul de TCM – 199, (25 oócitos/gota) sob óleo mineral (400uM).

Os três tratamentos foram maturados em incubadora com saturação de umidade atmosférica de 5% de CO₂ em ar, a 39°C por um período de 24 horas.

Após a maturação os oócitos foram avaliados novamente quanto ao grau de expansão dos COCs, com a finalidade de se obter uma avaliação quantitativa do desenvolvimento do complexo - cumulus – oócitos.

Os dados de taxa de maturação foram avaliados mediante o método de Qui-Quadrado.

RESULTATO E DISCUSSÃO

Tabela 1. Avaliação quantitativa de oócitos caprinos submetidos à maturação *in vitro* com e sem melatonina no meio de cultivo.

TRATAMENTO	Oócitos(nº)	MATURAÇÃO		TOTAL
		Maturado (%)	Não Maturado (%)	
Grupo controle	25	4.00%	29.33%	33.33%
Grupo Melatonina 10uM	25	1.33%	32.00%	33.33%
Grupo Melatonina 100Um	25	0.00%	33.33%	33.33%
TOTAL	75	5.33%	94.67%	100%

De acordo com os resultados obtidos verificou-se que com o tratamento controle conseguiu-se maturar 4% dos oócitos destinados a este grupo, o melhor valor obtido no experimento, contudo é um valor muito aquém do esperado, podendo ser justificado pela qualidade dos oócitos utilizados que no geral eram de qualidade 3 e em grande parte desnudos. A qualidade desnuda pode ser justificada como uma característica da espécie caprina. As células do complexo cumulus-oócitos exercem um importante papel na regulação da maturação do oócito, na fertilização *in vitro* e no desenvolvimento embrionário (ZHANG ET AL., 1995; NAGAI, 2001).

Segundo Pocar et al., (2005) a qualidade das células do cumulus é considerada um fator crucial que influencia no resultado da maturação dos oócitos e na sua competência de desenvolvimento subsequente. Os resultados obtidos com o tratamento cuja melatonina foi utilizada em concentrações de 10uM mostrou-se mais eficiente, proporcionando a maturação oocitária de 1,33% a mais, em relação ao tratamento com melatonina em concentração de 100uM. Entretanto a suplementação nos dois tratamentos não interferiu na taxa de maturação *in vitro*.

Semelhante ao estudo desenvolvido por Takada, (2008) no tratamento controle as células do cumulus se expandiram mais do que as dos tratamentos com suplementação de melatonina a 10uM e a 100uM.

CONCLUSÕES

A suplementação de melatonina no meio de maturação oocitária, não interferiu na maturação in vitro de oócitos caprinos.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- ALILA-JOHANSSON, A.; ERIKSSON, L.; SOVERI, T.; LAAKSO, M-L. Seasonal variation in endogenous serum melatonin profiles in goats: a difference between spring and fall. **Journal of Biological Rhythms** , New York, v.16, n.3, p.254-63, 2001.
- BICUDO, S.D.; SOUZA, D.B.; TAKADA, L. **Possibilidades e limitações da inseminação com sêmen ovino refrigerado e biotécnicas associadas como estratégias de intensificação do manejo reprodutivo**. In: *Congresso Brasileiro de Reprodução Animal*, 15, 2003. Porto Seguro – BA. Anais... Belo Horizonte - MG: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 2003.
- GUSMÃO A.L. & ANDRADE MOURA J.C. 2005. **Transferência de embriões em caprinos e ovinos**. *Acta Scientiae Veterinariae*. 33 (Supl 1): 29-33.
- POCAR P., et al Apoptosis in bovine cumulus–oocyte complexes after exposure to polychlorinated biphenyl mixtures during *in vitro* maturation **Reproduction**; v. 130, p. 857-868, 2005.
- NAGAI, T. The improvement of in vitro maturation system for bovine and porcine oocytes. **Theriogenology** , v. 55, p. 1291-1301, 2001.
- TAKADA, L. Efeito da melatonina sobre a maturação dos ovócitos em sistema tradicional de produção *in vitro* de embriões bovinos / Luciana Takada - Pirassununga, 2008. Tese (Doutorado) -- Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos – Universidade de São Paulo.

Palavras-Chave: Melatonina. Oócitos. Caprinos.