

EFEITO DO β -MERCAPTOETANOL NO CULTIVO *IN VITRO* DE EMBRIÕES BOVINOS PIV VITRIFICADOS

Ribeiro, E.S.¹; Mezzalira, J.C.¹; Gonçalves, M.C.¹; Cesaro, M.P.¹; Dias, A.L.G.¹; Lopes, R.F.F.²; Vieira, A.D.¹; Bertolini, M.B.¹; Mezzalira, A.¹

¹Laboratório de Reprodução Animal Prof. Assis Roberto de Bem, Centro de Ciências Agroveterinárias, Universidade do Estado de Santa Catarina UDESC/CAV, Lages, SC, Brasil, 88520-000. ²Universidade Federal do Rio Grande do Sul UFRGS / Porto Alegre – RS. mezzalira@cav.udesc.br

Este estudo teve como objetivo avaliar a viabilidade de embriões bovinos PIV (blastocistos e blastocistos expandidos), vitrificados com o emprego de micropipetas de vidro e submetidos ao cultivo pós-reaquecimento com diferentes concentrações do anti-oxidante β -mercaptoetanol. A vitrificação foi realizada com solução crioprotetora composta de etilenoglicol (EG) e propanediol (PRO). Os embriões foram expostos por 1 minuto a uma solução de equilíbrio de 10% EG + 10% PRO, seguido da exposição por 20 segundos à solução de vitrificação composta por 20% EG + 20% PRO. Após, os embriões foram envasados em grupos de três, em micropipetas de vidro, as quais foram imersas em nitrogênio líquido. No reaquecimento, as micropipetas contendo os embriões foram expostas por quatro segundos ao ar e em seguida mergulhadas na solução de reaquecimento, com 5 minutos de exposição em cada gradiente (0,6 e 0,3 M) de sacarose. Logo após, os embriões (n=191) foram divididos homogeneamente em três grupos e submetidos ao cultivo em SOFaaci com 5% soro de égua em estro (SEE), adicionado de uma de três concentrações de β -mercaptoetanol (100, 50 ou 0 μ M). Nos Grupos 01 (G1, n=63) e 02 (G2, n=63), os embriões foram submetidos ao cultivo com 100 e 50 μ M de β -mercaptoetanol, respectivamente, enquanto que no Grupo 03 (G3, n=65), os embriões foram cultivados sem a adição de β -mercaptoetanol (0 μ M). O cultivo *in vitro* foi realizado por 72 horas, em incubadora a 39°C, com atmosfera de 5% de CO₂ e umidade saturada. A taxa de eclosão foi considerada como parâmetro de viabilidade, com os dados sendo analisados pelo teste do χ^2 e regressão linear simples, para P<0,05. A melhor taxa de eclosão foi observada no G1 (67,0%) que não diferiu estatisticamente do G2 (52,0%). Também não foram observadas diferenças estatísticas entre o G2 e G3 (48,0%). Os resultados demonstram um efeito benéfico, dose-dependente, da adição de β -mercaptoetanol na taxa de eclosão de embriões previamente vitrificados (r=0,96; P<0,05), sendo a concentração de 100 μ M a que proporciona os melhores resultados.

EFFECT OF β -MERCAPTOETHANOL FOR THE *IN VITRO* CULTURE OF VITRIFIED BOVINE IVP EMBRYOS

The aim of this study was to evaluate the *in vitro* viability of bovine IVP embryos (blastocysts and expanded blastocysts) after vitrification in glass micropipettes and subsequent *in vitro* culture in different β -mercaptoethanol concentrations. Vitrification was performed after 1-min exposure to an equilibration solution (10% ethylene glycol - EG + 10% propylene glycol - PRO), followed by 20-sec exposure to 20% EG + 20% PRO. Then, three embryos were loaded in each glass micropipette and plunged into liquid nitrogen. Re-warming was performed by a four sec exposure to air, followed by the exposure to 0.6 and 0.3 M sucrose solutions for 5 min each bath. Embryos (n=191) were randomly allocated to one of three groups and *in vitro* cultured in SOFaaci + 5% estrum mare serum (EMS) supplemented with different β -mercaptoethanol concentrations (100, 50 or 0 μ M). In Groups 01 (G1, n=63) and 02 (G2, n=63), embryos were cultured in 100 and 50 μ M β -mercaptoethanol, respectively, whereas in Group 03 (G3, n=65), embryos were cultured in the absence of β -mercaptoethanol (0 μ M). Embryos were *in vitro* cultured for 72 hours in an incubator with 5% CO₂ in air and high humidity, at 39°C. Hatching rates were determined after 72 h of culture and data were analyzed using the χ^2 test and simple linear regression, for P<0.05. Group 1 (100 μ M) showed the higher hatching rate (67.0%), which was statistically similar to G2 (52.0%). There were also no statistical differences between G2 and G3 (48.0%). These results showed a beneficial dose-dependent effect of β -mercaptoethanol concentrations on hatching rates of vitrified/warmed embryos (r=0.96; P<0.05), with the best results being attained with 100 μ M of β -mercaptoethanol.