

R241 - BIOTECNOLOGIAS SUPORTE: CRIOPRESERVAÇÃO E CRIOBIOLOGIA, DIAGNÓSTICO POR IMAGENS, BIOLOGIA MOLECULAR E “ÔMICAS”

**EFEITO DE SUBSTÂNCIAS ANTIOXIDANTES NO SÊMEN CRIOPRESERVADO DE BÚFALOS (*BUBALUS BUBALIS*)****ARNALDO ALGARANHAR GONÇALVES<sup>1</sup>; SÂMIA RUBIELLE SILVA DE CASTRO<sup>2</sup>; ALEXANDRE ROSSETTO GARCIA<sup>3</sup>; ALESSANDRA XIMENES SANTOS<sup>4</sup>; GEANNE ROCHA SILVA<sup>5</sup>; DANIEL VALE BARROS<sup>6</sup>**<sup>1,4,5</sup>PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL UFPA/EMBRAPA/UFRA, BELEM, PA, BRASIL; <sup>2</sup>FACULDADES INTEGRADAS DO TAPAJÓS (FIT), SANTARÉM, PA, BRASIL; <sup>3</sup>LABORATÓRIO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, EMBRAPA AMAZÔNIA ORIENTAL, BELÉM, PA, BRASIL; <sup>6</sup>UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA (UFRA), BELEM, PA, BRASIL**Palavras-chave:** espermatozoide; pentoxifilina; vitamina c

A criopreservação espermática pode causar danos à membrana plasmática, levando à maior produção de radicais livres (ROS). Os antioxidantes têm como um de seus papéis a prevenção de danos às membranas plasmáticas causados por ROS. Por isso, o objetivo do trabalho foi avaliar o efeito de dois antioxidantes, isoladamente ou em associação, sobre parâmetros do sêmen criopreservado de búfalos. O trabalho foi executado na EMBRAPA Amazônia Oriental, em Belém-PA. Cinco touros previamente selecionados andrológicamente e com perfil seminal semelhante tiveram sêmen colhido quinzenalmente por vagina artificial, sendo usados seis ejaculados de cada touro (n=30). Cada ejaculado foi congelado segundo quatro tratamentos distintos. O Grupo Controle (CONT) compreendeu a congelamento com diluidor TES-TRIS, conforme Vale (2002, Buffalo Symposium of Americas 1, 156-171). Os outros grupos seguiram o protocolo do controle, mas foram enriquecidos com 2,5 mM de vitamina C (Grupo VIT), como preconizado por Singh *et al.* (1996, International Journal of Animal Science 11, 131-132) ou com 3,5 mM de pentoxifilina (Grupo PENTOX), conforme Marques *et al.* (2002, Theriogenology 58, 257-260) ou com a associação de 2,5 mM de vitamina C + 3,5 mM de pentoxifilina (Grupo VIT/PENTOX). Foram avaliadas a motilidade progressiva e a integridade de membrana plasmática dos espermatozoides após a descongelamento e após execução do teste de termoresistência (TTR), conforme Rota *et al.* (1997, Theriogenology 47, 1093-1101). Após avaliação da normalidade da distribuição das variáveis, as médias foram comparadas por ANOVA. No caso do teste ser significativo para contraste de médias foi aplicado o Teste de Tukey e o teste t pareado (P<0,05). Antes da congelamento, os valores de motilidade progressiva e integridade da membrana plasmática foram de 77,7 ± 6,1% e 85,4 ± 8,3%, respectivamente. Após a descongelamento, a motilidade progressiva foi de 39,5 ± 23,8% (CONT), 41,9 ± 22,3% (VIT), 44,6 ± 19,9% (PENTOX) e 46,9 ± 19% (VIT/PENTOX), com P>0,05. Após o TTR, a motilidade foi de 15,1 ± 15,3%a (CONT), 25,6 ± 16,3%b (VIT), 23,3 ± 14,6%ab (PENTOX) e 28,6 ± 16,2%b (VIT/PENTOX), com P<0,05. A integridade de membrana plasmática observada após a descongelamento foi de 62,2 ± 15,9% (CONT), 63,5 ± 13,3% (VIT), 57,9 ± 15,7% (PENTOX) e 57,6 ± 15,9% (VIT/PENTOX), com P>0,05. Após o TTR foi de 58,0 ± 13,5% (CONT), 58,3 ± 13,3% (VIT), 54,0 ± 14,9% (PENTOX) e 51,8 ± 15,5% (VIT/PENTOX), com P>0,05. Assim, a vitamina C, isolada ou em associação, causou incremento significativo nos parâmetros de motilidade progressiva após o TTR, fato relevante uma vez que o referido teste simula o estresse sofrido pelos espermatozoides após a deposição do sêmen no trato reprodutivo feminino.

R242 - BIOTECNOLOGIAS SUPORTE: CRIOPRESERVAÇÃO E CRIOBIOLOGIA, DIAGNÓSTICO POR IMAGENS, BIOLOGIA MOLECULAR E “ÔMICAS”

**EFEITO DO TOURO NA SOBREVIVÊNCIA DE EMBRIÕES PRODUZIDOS IN VITRO AO CONGELAMENTO LENTO****MAURICIO BARROS FERNANDES<sup>1</sup>; ANDERSON MIORANZA<sup>2</sup>; VIVIAN TAÍS FERNANDES CIPRIANO<sup>3</sup>; REGINALDO APARECIDO VILA<sup>4</sup>; MARLI APARECIDA GALERANI<sup>5</sup>; CLAUDIA CRISTINA PAZ<sup>6</sup>; RAYSILDO BARBOSA LÔBO<sup>7</sup>**<sup>1</sup>PRO-FIV, SÃO JOSÉ DO RIO PRETO, SP, BRASIL; <sup>2,3,4,5,6,7</sup>FMRP-USP, RIBEIRÃO PRETO, SP, BRASIL**Palavras-chave:** embrião; congelamento; fertilização *in vitro*

Nos programas de transferência embrionária, a criopreservação tem fundamental importância no armazenamento, transporte, controle sanitário e comércio de embriões. Um dos impasses na aplicação desta tecnologia em embriões produzidos *in vitro* (PIV), é a sua alta sensibilidade ao congelamento. Assim, o objetivo deste trabalho foi verificar a influência do efeito do touro na sobrevivência de embriões que sofreram o processo de congelamento. Para isso, 2856 complexos cumulus-oócito (COCs) recuperados de matadouros foram maturados em meio TCM199 por 24 horas a 38,5°C e 5% de CO<sub>2</sub>. Os COCs foram submetidos à fertilização *in vitro* (FIV), utilizando sêmen congelado de 15 touros da raça Nelore. Para cada touro foi observado o desenvolvimento embrionário 168 horas após a FIV, considerando viáveis embriões nos estágios de blastocisto e blastocisto expandido. Os blastocistos selecionados foram cultivados em meios contendo crioprotetores, envasados em palhetas e submetidos à refrigeração e congelamento. Posteriormente foi retirado o crioprotetor e os embriões foram lavados e distribuídos em meio de cultivo. Para avaliar o efeito do congelamento foram formados dois grupos de blastocistos: o grupo controle (C), composto por blastocistos mantidos sob cultivo durante 72 horas, e congelamento (FG), formado por blastocistos congelados e posteriormente descongelados para serem cultivados durante 72 horas. Os dados foram analisados pelo programa estatístico SAS utilizando-se o teste Qui-Quadrado e, quando necessário, o teste exato de Fisher, considerando a significância de 5%. Os embriões que passaram pelo processo de congelamento tiveram um decréscimo significativo na taxa de sobrevivência quando comparado com o grupo controle. Dos touros submetidos ao congelamento, 13 apresentaram diferença estatística significativa (p<0,05) na eclosão dos blastocistos. Entre os touros que apresentaram diferença estatística, alguns foram mais contrastantes, chegando a apresentar 83% de embriões eclodidos no grupo C e 0% no grupo FG. Interessantemente, dois dos touros analisados não apresentaram diferença estatística entre os dois grupos (CG e FG), apresentando quantidades similares de embriões. Nossos resultados revelaram uma possível influência do touro na sobrevivência de embriões submetidos ao processo de congelamento e será importante para aplicações comerciais. Novas investigações são necessárias para confirmar esta relação e elucidar os componentes responsáveis por promover esta mudança na sobrevivência em embriões congelados.