

COMPORTAMENTO OSMÓTICO DE EMBRIÕES BOVINOS CULTIVADOS EM MEIO SOFaa OU CR2aa

Boité, M.C.¹; Nogueira, L.A.G.¹; Pereira, M.M.²; Batista, R.I.T.P.²; Wohlres-Viana, S.³; Polisseni, J.³; Serapião, R.V.⁴; Sá, W.F.⁴; Iguma, L.T.⁴; Viana, J.H.M.⁴; Camargo, L.S.A.⁴

¹Universidade Federal Fluminense - UFF, Niterói-RJ; ²Centro de Ensino Superior de Juiz de Fora-CESJF, Juiz de Fora-MG; ³Universidade Federal de Juiz de Fora-UFJF, Juiz de Fora - MG; ⁴Embrapa Gado de Leite-Juiz de Fora, MG. maricboite@hotmail.com

A criopreservação de embriões produzidos *in vitro* (PIV) representa um desafio. Existem evidências de que o período de cultivo embrionário e o tipo de meio são fatores críticos para a qualidade embrionária em termos de criotolerância. Na criopreservação, o movimento de água e crioprotetores através da membrana plasmática representa um ponto importante na sobrevivência celular. Objetivou-se no presente estudo avaliar a capacidade de desidratação e reidratação de embriões em diferentes estádios cultivados *in vitro* em meio SOFaa ou CR2aa quando submetidos a um desafio osmótico. COCs obtidos a partir de ovários de matadouro foram fecundados *in vitro*. Os possíveis zigotos foram distribuídos aleatoriamente nos meios CR2aa ou SOFaa e cultivados em estufa a 38,5°C, 95% de umidade e 5% de CO₂ em ar atmosférico. Nos dias sete (D7) e oito (D8) após a fecundação foram selecionados blastocistos (Bl, n=38) e blastocistos expandidos (Bx, n=27), graus I e II, dos meios CR2aa (n=38) e SOFaa (n=27). Os embriões foram fotografados individualmente em quatro momentos: em meio isotônico (T0); em solução hipertônica (900 mOsm), após cinco minutos (T5); em meio isotônico, após dez minutos (T10) e em meio CR2 após duas horas de cultivo (T2h). A área individual dos embriões em cada momento foi mensurada a partir das imagens utilizando o software Image J e expressa em porcentagem relativa à área em T0, considerada 100%. Os dados foram avaliados por ANOVA do SAS e os valores apresentados como média ± erro padrão da média. Em T5, embriões Bl apresentaram menor (p<0,05) redução de área relativa ao T0 (35,2±2,7%) quando comparados com os Bx (43,5±1,3%), sugerindo menor desidratação. Após retornar ao meio isotônico (T10), a recuperação da área foi maior (p<0,05) nos Bl (24,6±3,1%) do que nos Bx (9,7±5,5%), bem como no momento T2h (Bl=42,6±3,9% vs Bx=28,4±7,2%), sugerindo maior capacidade de reidratação dos Bl. Em T2h, embriões Bl apresentaram área média superior às áreas em T0 (107,0±2,8%), enquanto embriões Bx não alcançaram a medida da área inicial (84,9±4,4%), indicando melhor recuperação dos Bl após retorno ao cultivo embrionário. Em T5, blastocistos produzidos em CR2aa apresentaram menor (p<0,05) redução de sua área relativa ao T0 (31,3±2,9%) quando comparados aos produzidos em SOFaa (40,6±1,9%), sem diferença significativa (p>0,05) entre os Bx de ambos os meios. Contudo, não houve diferença (p>0,05) no comportamento dos embriões Bl e Bx produzidos em meio CR2aa ou SOFaa em T10 (78,0±4,2% vs 72,7±4,4%) e em T2h (95,8±4,2% vs 94,0±4,5%), demonstrando que as diferenças observadas entre os cultivos SOFaa e CR2aa após 5 minutos em meio hipertônico são eliminadas após 10 minutos em meio isotônico e 2 horas em cultivo. Os resultados mostram que embriões bovinos PIV em estágio de Bl possuem maior capacidade de reidratação do que os em estágio de Bx, o que pode influenciar a resposta desses embriões frente à criopreservação. Novos estudos estão sendo conduzidos para associar a capacidade de reidratação de embriões PIV com a expressão de genes que codificam proteínas associadas a canais de água. Apoio financeiro CNPQ e FAPEMIG.

OSMOTIC BEHAVIOR OF BOVINE EMBRYOS CULTURED IN SOFaa OR CR2aa MEDIUM

The cryopreservation of *in vitro* produced embryos represents a challenge. There are evidences that the post fertilization period and the embryo culture system are critical for blastocyst quality, considering cryotolerance and the ability to establish pregnancy. In the cryopreservation process, the movement of water and cryoprotectants through the plasmatic membrane represents a crucial role in cellular survival. The aim of this study was to evaluate the dehydration and rehydration capacity of different stages of embryos *in vitro* cultured in SOFaa or CR2aa media when submitted to an osmotic challenge. COCs obtained from slaughterhouse were *in vitro* matured and fertilized. The presumptive zygotes were randomly transferred into SOFaa or CR2aa media and cultured at 38.5°C, 95% of humidity and 5% of CO₂ in air. On the days seven (D7) and eight (D8) after *in vitro* fertilization, blastocysts (Bl) and expanded blastocysts (Bx), of quality grades I and II were selected from CR2aa (n=38) and SOFaa (n=27) culture media. The embryos were photographed individually in four moments: in isotonic medium (T0); in hypertonic medium, after five minutes (T5); in isotonic medium, after ten minutes (T10) and in CR2aa medium after two hours (T2h). The individual area of each embryo in every moment was measured using the Image J software and expressed as a relative percentage to the area in T0, considered 100%. The data were analyzed by ANOVA of Statistical Analysis System (SAS) and the values presented as mean ± standard error. In T5, Bl showed smaller (p<0.05) reduction of relative area to T0 (35.2±2.7%) compared to Bx (43.5±1.3%), suggesting less dehydration. After returning to the isotonic medium (T10), the recovery of the area was higher (p<0.05) in Bl (24.6±3.1%) than in Bx (9.7±5.5%), as well as in T2h (Bl=42.6±3.9% vs. Bx=28.4±7.2%), suggesting that Bl stage embryos have better rehydration capacity. Relative area of Bl embryos in T2h was greater than in T0 (107.0±2.8%), while Bx embryos did'n reach their initial area (84.9±4.4%), indicating better recovery of Bl embryos after returning to the culture medium. CR2aa cultured blastocysts showed a smaller reduction of its area in T5 compared with those cultured in SOFaa (31.3±2.9% vs. 40.6±1.9%), without significant difference (p>0.05) between the Bx embryos of both media. However, there was no significant difference in the behavior of Bl and Bx cultured in CR2aa or SOFaa in T10 (78.0±4.2% vs. 72.7±4.4%) and in T2h (95.8±4.2% vs. 94.0±4.5%), suggesting that the differences observed between *in vitro* culture in SOFaa and CR2aa after 5 minutes in hypertonic medium were not present after 10 minutes in isotonic medium and 2 hours in culture. The results show that bovine IVP embryos in Bl stage have greater rehydration capacity than in Bx stage, which may influence the response of these embryos during cryopreservation. New studies are being driven to associate of reidratação of embryos PIV with the expression of genes that you/they codify proteins associated to channels of water. New studies are being driven to associate the capacity of rehydration of IVP embryos with the expression of genes that codify proteins present in water channels.