

INFLUÊNCIA DO ANTIBIÓTICO NA CINÉTICA DE DESENVOLVIMENTO DE EMBRIÕES BOVINOS PRODUZIDOS *IN VITRO*: RESULTADOS PRELIMINARES

Vila, R. A.¹; Elias, F. P.¹; Renzi, A.¹; Rufato, M. A. F.²; Vieira, M. T. V.¹; Lôbo, R. B.¹.

¹Departamento de Genética FMRP USP, 14049-900, Ribeirão Preto – SP, Brasil, ²Departamento de Biologia FFCLRP USP, 14049-900, Ribeirão Preto – SP, Brasil, rvila@rge.fmrp.usp.br

Os antibióticos são amplamente utilizados na medicina veterinária, principalmente nos sistemas de cultivo para a produção animal. O mecanismo de ação dos antibióticos é exercido essencialmente por: interferência na síntese da parede celular, inibição da síntese de proteínas; injúria à membrana citoplasmática; inibição da síntese de ácidos nucleicos e da síntese de metabólitos essenciais. Dentre os vários antibióticos conhecidos e utilizados na produção *in vitro* de embriões, a gentamicina e o sulfato de amicacina são os mais utilizados nos meios de transporte de oócitos, meios de maturação, fertilização e cultivo *in vitro*. O presente trabalho teve por objetivo realizar uma avaliação prévia da influência do uso de gentamicina ou amicacina na cinética de desenvolvimento de embriões bovinos produzidos *in vitro*. Os oócitos foram coletados de ovários provenientes de matadouro e maturados em meio TCM 199+10% SFB+0,5µg FSH/ml+0,5µg LH/ml+1µg estradiol/ml, por 24 h a 38,5 °C, 5% CO₂ em atmosfera, com uso de gentamicina ou amicacina conforme o grupo teste, sendo que 172 oócitos formaram o grupo gentamicina e 180 oócitos formaram o grupo amicacina. Sêmen de um mesmo touro foi utilizado para a fertilização *in vitro* (FIV). Os espermatozóides viáveis foram obtidos por centrifugação em gradiente de Percoll (45 e 90%) e utilizados para a fecundação *in vitro* com concentração de 2 milhões de células/ml em meio TALP+10 µg de heparina/ml. Após 12 horas, os supostos zigotos eram transferidos para a placa de cultivo com meio CR₂+10% SFB e células do *cumulus*. Após 168h da FIV foi feita a classificação dos embriões viáveis em Bi (blastocisto inicial), Bl (blastocisto), Bx (blastocisto expandido) e Be (blastocisto eclodido). Para cada grupo teste foram coletados dados de três repetições. A análise estatística por meio do teste Qui-Quadrado ($\alpha=0,05$) mostrou que há diferença entre as quantidades de Bi, Bl, Bx e Be desenvolvidos nos grupos, sendo que a gentamicina apresentou maiores quantidades de Bi (n= 6, amicacina; n=10, gentamicina) e Bl (n= 11, amicacina; n=21, gentamicina), enquanto que a amicacina apresentou maiores quantidades de Bx (n= 48, amicacina; n=36, gentamicina) e Be (n=7, amicacina; n=2, gentamicina). Com relação à produção total de embriões não houve diferença estatística significativa entre os dois grupos. Desta maneira, foi verificado que embriões cultivados na presença de amicacina atingem, ao sétimo dia de cultivo, estágios mais avançados de desenvolvimento em relação a aqueles cultivados na presença de gentamicina.

Agradecimentos: CNPq, FAEPA, ANCP.

Área: Produção *in vitro* e Tecnologia de Gametas

INFLUENCE OF THE ANTIBIOTIC IN THE KINETICS OF DEVELOPMENT OF BOVINE EMBRYOS PRODUCED *IN VITRO*: PRELIMINARIES RESULTS

Vila, R. A.¹; Elias, F. P.¹; Renzi, A.¹; Rufato, M. A. F.²; Vieira, M. T. V.¹; Lôbo, R. B.¹.

¹Departamento de Genética FMRP USP, 14049-900, Ribeirão Preto – SP, Brasil, ²

Departamento de Biologia FFCLRP USP, 14049-900, Ribeirão Preto – SP, Brasil,

rvila@rge.fmrp.usp.br

The antibiotics are most used in the veterinary medicine, mainly in the culture systems to animal production. The action mechanism of the antibiotics is determined by: interference in the synthesis of the wall cell, membrane cell injury and inhibition of the nucleic acid and essential metabolites synthesis. Among the various known antibiotics used in *in vitro* production of the bovine embryos, the amycacin and gentamicin are the most used in medium to the oocytes transportation, to fertilization and *in vitro* culture. The aim of this work was to evaluate the influence of the amycacin and gentamicin in the kinetics of the development of the bovine embryos produced *in vitro*. The oocytes were collected from slaughterhouse ovaries and matured in TCM 199+10% SFB+0,5µg FSH/mL+0,5µg LH/mL+1µg estradiol/mL medium, during 24h at 38,5 °C, 5% CO₂ atmosphere, and amycacin or gentamicin were used following each group, where 180 oocytes formed the amycacin group and 172 oocytes formed the gentamicin group. Semen from the same bull was used to *in vitro* fertilization. Viable spermatozoids were obtained by centrifugation in a Percoll gradient and were used for *in vitro* fertilization at the concentration of 2 million cell/mL in TALP medium +10µg of heparin/mL. After 12 hours, the presumptive zygotes were transferred to a CR₂+10% SFB culture medium and co-cultured with cumulus cells. The culture proceeded for 168 hours after the *in vitro* fertilization; the viable embryos were counted in the following groups: early blastocyst (Bi), blastocyst (Bl), expanded blastocyst (Bx) and hatched blastocyst (Be), according to the morphological characteristics. The results of the statistical analysis proceeded by Chi-Square test ($\alpha = 0,05$) shown that there is a difference among the numbers of the Bi, Bl, Bx and Be development in the groups, where the gentamicin had higher numbers of the Bi (n=6, amycacin; n=10, gentamicin) and Bl (n= 11, amycacin; n=21, gentamicin) while the amycacin had higher numbers of the Bx (n= 48, amycacin; n=36, gentamicin) and Be (n=7, amycacin; n=2, gentamicin). In relation of the total production, there weren't statistical differences between the two groups. Therefore, it was observed that embryos cultured in the presence of the amycacin reach more advanced stages of development in relation of embryos cultured in the presence of gentamicin at the seventh day culture.

Acknowledgements: CNPq, FAEPA, ANCP