

Efeito da L-arginina na cinética de capacitação *in vitro* de espermatozoides criopreservados bovinos induzida pela heparina

Carolina Freitas, Maria Clara Caldas-Bussiere; Valter Luis Maciel Júnior; Gester Breda Aguiar, Carla Sobrinho Paes de Carvalho

A produção *in vitro* de embriões (PIVE) vem sendo cada vez mais difundida e utilizada comercialmente em vários países. O Brasil responde por mais de 85% do total da PIVE realizada mundialmente. Muitos estudos têm sido realizados para melhor entender dos fenômenos fisiológicos envolvidos. Mas, há ainda necessidade de mais pesquisas, principalmente, relacionadas ao processo de capacitação espermática *in vitro*. A capacitação espermática e a reação acrossômica são eventos necessários para o sucesso da fertilização do oócito, tanto *in vitro* quanto *in vivo*, sendo em bovinos modulados pela ação do óxido nítrico (NO). A adição de 1 mM L-arginina (L-arg.), precursora da síntese de NO, ao meio de cultivo *in vitro* melhorou os parâmetros de motilidade, vigor, capacitação e reação acrossômica em espermatozoides de bovinos criopreservados após 4 horas de cultivo em meio capacitante. Assim o objetivo deste trabalho é avaliar a influência da L-arg. na cinética da capacitação espermática. Espermatozoides criopreservados de três touros (*Bos indicus*) da raça Nelore estão sendo avaliados após 30 min, 1, 2, 3 e 4 h de cultivo. A capacitação espermática *in vitro* é induzida em 200 μ L de meio capacitante, contendo 20 μ g/mL de heparina (controle) acrescida de L-arginina em estufa a 38,5^o C, com atmosfera umidificada com 95% de ar e 5% de CO₂. A motilidade progressiva e o vigor espermático estão sendo avaliados de forma subjetiva com auxílio de microscopia óptica (aumento de 100x). Com o intuito de quantificar o percentual de espermatozoides capacitados, está sendo utilizada a técnica de coloração com hidrocloreto de clortetraciclina (CTC). Para cada avaliação, 200 células foram contadas e classificadas em 3 grupos: F (fluorescente), espermatozoide intacto e não capacitado, fluorescendo toda superfície; C (capacitado) espermatozoide capacitado intacto, perda de fluorescência na região pós-acrossomal; e RA, espermatozoide com acrossoma reagido, perda de fluorescência na região pós-acrossomal e acrossomal, expressando fluorescência apenas na peça intermediária. Os resultados esperados são a identificação do tempo de cultivo em que ocorre a maior porcentagem de espermatozoides capacitados para ser utilizado no protocolo de capacitação espermática me ausência de complexos *cumulus*-oócito durante a fertilização *in vitro* de bovinos.

Palavras-chave: Capacitação espermática, L-arginina, bovino.
Instituição de fomento: UENF