

Desenvolvimento e validação de novo sistema de cultivo individual de embriões bovinos produzidos *in vitro*¹

Beatriz Abdalla Ferraz de Barros², Paola Maria da Silva Rosa³, Clara Ana Santos Monteiro⁴, Gabriela Ramos Leal⁴, Raquel Varella Serapião⁵, Clara Slade Oliveira⁶

¹O presente trabalho foi realizado com o apoio do CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - Brasil: (a) Parte da atividade de pesquisa "Caracterização de componentes genéticos relacionados ao desempenho reprodutivo superior em fêmeas bovinas leiteiras da raça Gir e em mestiças F1 entre as raças Gir e Holandesa", liderada por Clara Slade Oliveira; (b) Parte da iniciação científica da primeira autora; (c) Bolsista PIBIC CNPq-Embrapa.

²Graduanda em Medicina Veterinária – FAA/Valença. Bolsista do CNPq. e-mail: beatriz_abdalla@hotmail.com

³Graduanda em Medicina Veterinária – USS/ Vassouras.

⁴Doutoranda em Clínica e Reprodução Animal – UFF/ Niterói.

⁵Pesquisadora da Pesagro – Rio, LRA-CESM /Valença.

⁶Orientador.

Resumo: Tradicionalmente, embriões bovinos produzidos *in vitro* são cultivados em grupos, devido à interação positiva que exercem uns sobre os outros. O presente estudo teve como objetivo desenvolver uma câmara de cultivo embrionário que permitisse a avaliação individual dos embriões, mantendo a interação entre eles, que apresentasse baixo custo e possibilidade de customização. Para testar o aparato desenvolvido, 509 prováveis zigotos, em 5 repetições, foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos experimentais: Controle (C, cultivo em microgotas sob óleo mineral, n: 186); e Cultivo Individual (CI, cultivo na câmara desenvolvida, n: 323). Blastocistos foram fixados no D7 e submetidos à imunofluorescência para caspase 3 e coloração de núcleos com Hoechst, para análise da qualidade embrionária (número total de células-NTC e índice apoptótico-IA). Para tanto, os blastocistos foram classificados de acordo com número total de células (<80 e ≥80). As médias dos grupos C e CI foram comparadas utilizando o Teste T ou Mann Whitney. As taxas de clivagem e blastocisto foram comparadas pelo Teste Exato de Fisher. Foi utilizado o programa Instat (P=0,05). Não houve diferença na taxa de clivagem (C: 69,9% vs CI: 67,2%) e blastocisto (C: 29,2% vs CI: 29,6%) entre os grupos. O NTC e IA em embriões <80-céls (NTC – C: 43,4±15 vs CI: 59,8±11,8; IA – C: 5,5% ±7 vs CI: 6,2% ±5,4) e ≥80-céls (NTC – C: 129,2 ±36,2 vs CI: 113,3 ±28,2; IA – C: 2,6% ± 2 vs CI 3,7% ± 2) não diferiram entre os grupos. O acompanhamento individual no D2, D5 e D7 de 117 embriões cultivados na câmara revelou que embriões com 8 células no D2 tem 48,7% de chance de se tornarem blastocistos, e mórulas no D5 tem 72%. Conclui-se que embriões bovinos produzidos *in vitro* podem ser cultivados utilizando a câmara de cultivo desenvolvida sem qualquer prejuízo para sua qualidade, e este aparato pode auxiliar na seleção de embriões produzidos *in vitro*, bem como na predição, já no D2, do desempenho dos embriões.

Palavras-chave: câmara de cultivo embrionário individual, desenvolvimento embrionário, embrião bovino, produção *in vitro*