

VIABILIDADE DA TÉCNICA DE BIÓPSIA EM EMBRIÕES BOVINOS FECUNDADOS *IN VITRO* EM ESTÁDIOS INICIAIS DO DESENVOLVIMENTO

Polisseni, J.^{1,2}; Guerra, M.O.²; Serapião, R.V.^{1,3}; Pereira, M.M.¹; Folhadella, I.M.¹; Sá, W.F.¹; Camargo, L.S.A.¹; Viana, J.H.M.¹; Wohlrés-Viana, S.^{1,2}; Boite, M.C.¹; Peters, V.M.³

¹Embrapa Gado de Leite – Juiz de Fora - MG; ²Universidade Federal de Juiz de Fora – Juiz de Fora – MG; ³Universidade Estadual do Norte Fluminense – Campos dos Goytacazes – RJ. jupol@powermail.com.br

Uma das causas de mortalidade embrionária é o erro cromossômico que ocorre durante a gametogênese e fecundação e que é transmitido aos embriões. Em embriões produzidos *in vitro* a incidência dessas é maior do que as observados nos embriões produzidos *in vivo*, o que pode refletir em uma maior taxa de mortalidade embrionária. Dessa forma, somente a combinação dos critérios morfológicos e técnicas para análise molecular poderiam garantir a identificação dos embriões anormais. Em humanos, o Diagnóstico Genético Pré-implantação (PGD) tem sido importante para impedir a transferência de embriões aneuplóides, além de proporcionar a eficiência das técnicas de Reprodução Assistida, selecionando e transferindo para o útero materno embriões normais, completando com êxito a gravidez e o nascimento de um bebê saudável. Nessa técnica é realizada a remoção de blastômeros através de biópsia de embriões em estádios de oito células para posterior análise de erros cromossômicos, antes da transferência para o útero materno. Visando a utilização do PGD em bovinos, objetivou-se avaliar o efeito da biópsia em embriões fecundados *in vitro* em estágio de 8-16 células no desenvolvimento embrionário subsequente. Utilizou-se 706 complexos cumulus-ovócitos obtidos de ovários bovinos coletados em matadouro, os quais foram maturados e fecundados *in vitro*, em estufa incubadora a 38,8 °C, 95% de umidade e 5% de CO₂. Os zigotos foram semi-desnudados e cultivados em meio CR2aa sob as mesmas condições da fecundação. Três dias após fertilização os embriões de 8-16 células foram divididos aleatoriamente em dois grupos: controle (n=103) e biopsiados (n=92), retornando ao cultivo embrionário para se avaliar o desenvolvimento até estágio de blastocisto e capacidade de eclosão. A quantidade de células retirado na biópsia correspondeu à quarta parte da massa embrionária (RUBIO et al.; database redlara, p. 1-6, 2005). A taxa de blastocisto foi avaliada no oitavo dia após fecundação e a taxa de eclosão no décimo dia. A avaliação da morfologia e da qualidade dos embriões foi realizada segundo os parâmetros descritos no manual da Sociedade Internacional de Transferência de Embriões. Os dados foram analisados pelo teste do Qui-quadrado. A porcentagem de embriões com 8-16 células que se desenvolveram até estágio de blastocisto foi semelhante entre os grupos controle (66%) e biopsiados (53,3%), (P>0,05). De maneira similar, não houve diferença na taxa de eclosão entre os grupos controle e biopsiados (42,6% e 44,9%, respectivamente; P>0,05). Conclui-se que a técnica de biópsia em embriões de 8-16 células não afeta o desenvolvimento embrionário subsequente, mostrando que este procedimento pode ser utilizado para fornecer material genético para o diagnóstico pré-implantação. Apoio: CNPq; FAPEMIG.

VIABILITY OF THE BIOPSY TECHNIQUE IN BOVINE EMBRYOS PRODUCED *IN VITRO* AT EARLY STAGES OF DEVELOPMENT

One of the causes of embryo mortality is chromosomes errors that occurs during gametogenesis and fertilization and that are transferred to embryos. The incidence of these anomalies is more frequent in *in vitro* produced embryos than those produced *in vivo*, and can increase the embryo mortality rate. Therefore a combination of morphological standard and techniques of molecular analyses can ensure the identification of abnormal embryos. In humans, the Pre-implantation Genetic Diagnostic (PGD) is important to avoid the transfer of aneuploidy embryos, increasing the efficiency of Assisted Reproduction techniques, selecting and transferring to maternal uterus normal embryos, ensuring pregnancies and healthy babies. In this technique blastomeres are removed by biopsy in embryos at eight-cell stage to provide cells for analyses of chromosomes errors, before transferring to maternal uterus. The aim was to evaluate the effect of biopsy in bovine embryos with 8-16 cells fertilized *in vitro* on subsequent development, as a tool to obtain cells for PGD. It was utilized 706 complexes cumulus-oocytes obtained from bovine ovaries collected at slaughterhouse, which were matured and fertilized *in vitro*, in incubator at 38.8 °C, 95% of humidity and 5% of CO₂. The zygotes were semi-denuded and cultured in CR2aa medium in the same conditions of fertilization. Three days after fertilization the 8-16 cells embryos were distributed randomly in two groups: control (n=103) and biopsy (n=92), which returned to embryo culture to evaluate the development until blastocyst stage and capacity of hatching. The amount of removed cells was the fourth part of embryo mass. The blastocyst rate was evaluated on the eighth day after fertilization and the hatching rate on tenth day. Evaluation of embryo morphology and quality was performed according to parameters described by International Embryo Transfer Society manual. The data was analysed with Qui-square test. The percentage of 8-16 cells embryos that developed up to blastocyst stage was similar (P>0.05) between control (66.0%) and biopsy (53.3%) groups. In the same way, no difference was observed in the hatching rate between groups control and biopsies groups (42.6% e 44.9%, respectively; P>0.05). In conclusion, the technique of 8-16 cells embryo biopsy does not affect the subsequent embryo development, showing that it can be used to provide genetic material for Pre-implantation Genetic Diagnostic. Financial Support: CNPq; FAPEMIG.