

FERTILIZAÇÃO E PATERNOGÊNESE DE OÓCITOS BOVINOS ESTRESSADOS TERMICAMENTE

Costa, F.Q.^{1,6}; Serapião, R.V.²; Carvalho, B.C.³; Pereira, M.M.⁴; Campos Jr., P.H.A.⁵; Sá, W.F.²; Viana, J.H.M.²; Nogueira, L.A.G.¹; Camargo, L.S.A.²

¹Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ; ²Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG; ³Epamig, Juiz de Fora, MG; ⁴Universidade Federal de Juiz de Fora, MG; ⁵Centro de Ensino Superior (CES) de Juiz de Fora, MG; ⁶nandaqcvet@gmail.com

O estresse térmico compromete a viabilidade do oócito, afetando o desenvolvimento embrionário posterior e o estabelecimento da gestação. Apesar da qualidade intrínseca do oócito ser apontada como crucial para o desenvolvimento embrionário inicial, estudos também têm sugerido participação do espermatozóide neste desenvolvimento. Este estudo avaliou o efeito do estresse térmico em oócitos sobre a fertilização *in vitro*, partenogênese e desenvolvimento embrionário posterior. Complexos de células do *cumulus*-oócitos, obtidos de ovários de animais mestiços coletados em matadouro, foram divididos aleatoriamente em dois grupos: maturação por 24 horas a 38,5°C (grupo controle) e maturação por 12 h a 41°C seguida por 12 h a 38,5°C (grupo estresse), ambos em 5% CO₂. Após maturação, os grupos foram fecundados *in vitro* com uma mistura de sêmen de touros da raça Holandês ou ativados partenogeneticamente com ionomicina e 6-DMAP, constituindo quatro tratamentos: (T1) oócitos do grupo controle ativados partenogeneticamente (n=320); (T2) oócitos do grupo estresse ativados partenogeneticamente (n=340); (T3) oócitos do grupo controle fecundados *in vitro* (n=228); e (T4) oócitos do grupo estresse fecundados *in vitro* (n=229). Zigotos foram cultivados em meio CR2aa com 2,5% de soro fetal bovino em estufa incubadora com 5% CO₂, 5% O₂ e 90% N₂. Avaliou-se a taxa de clivagem com 72h pós-fecundação ou ativação e a taxa de blastocistos nos dias sete e oito pós-fecundação ou ativação. Os resultados foram analisados por qui-quadrado. A taxa de clivagem foi semelhante (P>0,05) nos embriões oriundos de T1, T2 e T3 (85,0%, 82,6% e 77,2%, respectivamente), que foram superiores (P<0,01) aos embriões de T4 (69,0%). As taxas de blastocistos no dia sete e oito pós-fecundação foram superiores (P<0,05) no T1 (30,0% e 32,8%), intermediárias nos T2 e T3 (22,1% e 20,0% para T2 e 17,9% e 23,3% para T3), e inferiores no T4 (9,6% e 12,6%). Esses resultados mostram que o estresse utilizado nos oócitos (41 °C nas 12h primeiras horas da maturação) reduziu as taxas de clivagem e de blastocistos no dia sete e oito pós fecundação, porém o mesmo não ocorreu após a ativação partenogenética, observada pela mesma taxa de clivagem com 72h pós-ativação (T1 e T2). Os resultados mostram também um maior desenvolvimento embrionário após a ativação química do que após a fecundação *in vitro*. Esses dados sugerem que a fertilização está alterada em oócitos estressados termicamente e que o desenvolvimento embrionário durante período de pre-implantação pode ser influenciada pela fecundação. Apoio financeiro parcial: FAPEMIG

FERTILIZATION AND PARTHENOGENESIS OF HEAT-STRESSED BOVINE OOCYTES

Heat stress compromises oocyte viability, affecting further embryo development and gestation establishment. Although oocyte quality is crucial for early embryo development, studies have also suggested the participation of sperm on that development. The present study evaluated the effect of heat stress in oocytes on *in vitro* fertilization, parthenogenesis and further embryo development. Cumulus-oocyte complexes, obtained from ovaries of crossbred cows collected in slaughterhouse, were randomly distributed in two groups, both under 5% CO₂: *in vitro* maturation at 38.5°C for 24 h (control group) or *in vitro* maturation at 41°C for 12 h followed by 38.5°C for 12h (stressed group). After maturation the oocytes were *in vitro* fertilized with a mix of sperm from different Holstein bulls or parthenogenetically activated with ionomycin and 6-DMAP, according to the following treatments: (T1) parthenogenetically activated oocytes from control group (n=320); (T2) parthenogenetically activated oocytes from stressed group (n=340); (T3) *in vitro* fertilized oocytes from control group (n=228); and (T4) *in vitro* fertilized oocytes from stressed group (n=229). Presumptive zygotes were cultured in CR2aa medium with 2.5% of fetal calf serum under 5% CO₂, 5%O₂ and 90%N₂. Cleavage rate was evaluated at 72h post-fertilization and blastocysts rate at seven and eight day post-fertilization. Data was analyzed by chi-square. Cleavage rate was similar (P>0.05) between embryos of T1, T2 e T3 (85.0%, 82.6% and 77.2%, respectively) but higher (P<0.01) than embryos of T4 (69.0%). Blastocysts rate at seven and eight day post-fertilization was higher (P<0.05) for T1 (30.0% and 32.8%), similar between T2 and T3 (22.1% and 20.0% for T2; 17.9% and 23.3% for T3) and lower for T4 (9.6% and 12.6%). The results show that the heat stress used for oocytes in this study (41.0°C in the first 12h of *in vitro* maturation) decreased cleavage and blastocyst rate at seven and eight days post-fertilization, but not after chemical activation, observed by the same cleavage rate with 72h post-activation (T1 and T2). The results also show a greater embryo development after chemical activation than after *in vitro* fertilization. In summary, the data suggests that the fertilization is impaired on heat-stressed oocytes and that the embryo development during pre-implantation stages may be influenced by fertilization. Partial financial support: FAPEMIG.