

Variação sazonal na produção de embriões bovinos produzidos *in vitro* entre 1996 e 2002

Marques, C.C.; Pereira, R.M.; Baptista, M.C.; Vasques, M.I.; Horta, A.E.M.

*Departamento de Reprodução, Estação Zootécnica Nacional-INIA,
2000-763 Vale de Santarém; <dfra.ezn@mail.telepac.pt>*

Apresenta-se a estatística da produção *in vitro* de embriões bovinos em sistema de co-cultura com células da granulosa no nosso laboratório, de 1996 a 2002 e a sua variação sazonal.

De um total de 4377 ovários processados em 150 sessões de cultura, obtiveram-se 34740 oócitos dos quais foram cultivados 30577. O número médio de oócitos recolhidos por ovário ($8,4 \pm 2,7$) e a taxa de maturação dos oócitos ($82,5\% \pm 0,08$) não variaram significativamente entre anos. Pelo contrário, as taxas de clivagem, de embriões com 8 dias (D8) e de embriões extrusados, mostraram uma variação significativa entre os anos do estudo, com valores médios mínimos e máximos de 56,1-80,6%, 12,3-29,6% e 42,2-67,5%, respectivamente. Em relação às épocas do ano, somente a taxa de oócitos recolhidos/ovário e a percentagem de embriões em D8 mostraram variações significativas entre estações. O número de oócitos por ovário na Primavera (9,2) foi superior ($P < 0,05$) ao observado no Outono (7,6) e a percentagem de embriões em D8 no Inverno (17,5%) foi inferior ($P < 0,02$) à observada na Primavera (23,2%), Verão (26,1%) e Outono (26,4%). As percentagens de oócitos maturados ($82,5\% \pm 0,08$), de embriões clivados ($69,6\% \pm 14,7$) e extrusados ($58,0\% \pm 31,3$) não variaram entre épocas. Em todas as fases de produção de embriões neste sistema de cultura *in vitro*, verificou-se que os embriões extrusados e os embriões em D8 são as fases que apresentam maiores coeficientes de variação às médias (53,9% e 51,6%, respectivamente), seguindo-se o número de oócitos por ovário (32,5%), a percentagem de embriões clivados (21,1%) e por último a taxa de maturação dos oócitos (9,9%) com a menor variação. O rendimento global de produção de embriões foi de 23,5%, quando considerada a população total de embriões clivados.

Os resultados mostram que o sistema *in vitro* de produção de embriões bovinos em co-cultura com células da granulosa mostraram variações sazonais em relação ao número de oócitos recolhidos por ovário, com diminuição no Outono em relação à Primavera, sugerindo que naquela época os ovários das fêmeas dadoras estão menos activos, para o que pode ter contribuído uma distribuição desequilibrada da idade das fêmeas abatidas. O Inverno mostrou ser a época do ano mais desfavorável para a cultura dos embriões entre a clivagem e o dia 8, indicando que podem ter existido condições térmicas acidentais desfavoráveis na manipulação dos ovários entre o matadouro e o laboratório. Os resultados do nosso sistema de produção de embriões, embora se encontrem dentro dos padrões obtidos por outros laboratórios mundiais de referência, apontam a necessidade de identificar e controlar os factores na origem de elevadas variações nas taxas de embriões D8 e extrusados e dos ainda baixos rendimentos de embriões transferíveis.

Seasonal variation on *in vitro* bovine embryo production between 1996 and 2002

Marques, C.C.; Pereira, R.M.; Baptista, M.C.; Vasques, M.I.; Horta, A.E.M.

*Departamento de Reprodução, Estação Zootécnica Nacional-INIA,
2000-763 Vale de Santarém; <dfra.ezn@mail.telepac.pt>*

Data from seasonal variation on *in vitro* bovine embryo production (IVP) in our laboratory from 1996 to 2002 is presented. Embryos were co-cultured with granulosa cell monolayers and this statistics concerns only non-experimental groups using the IVP standard method.

A total of 34740 oocytes collected from 4377 ovaries led to 30577 oocytes going to maturation in 150 *in vitro* culture sessions. The number of collected oocytes per ovary (8.4 ± 2.7) as well as the oocyte maturation rate ($82.5\% \pm 0.08$) were similar among years. On the other hand, cleavage, D8 and extruded embryo rates, showed significant differences among years, with minimums and maximums of 56.1-80.6%, 12.3-29.6% and 42.2-67.5%, respectively. Concerning seasons, significant differences were observed only on collected oocytes/ovary ($P < 0.05$) and D8 embryo rate ($P < 0.02$). Spring gave significant more oocytes/ovary (9.2) than autumn (7.6) and significant less D8 embryo rates were achieved in winter (17.5%) than in spring (23.2%), summer (26.1%) and autumn (26.4%). Oocyte maturation rate ($82.5\% \pm 0.08$), cleavage rate ($69.6\% \pm 14.7$) and extrusion rate ($58.0\% \pm 31.3$) did not differ among seasons. Analysing each of the production steps, extruded and D8 embryo rates were those with higher coefficient of variation from means (53.9% and 51.6%, respectively), followed by oocytes/ovary (32.5%), cleavage rate (21.1%) and finally the oocyte maturation rate with the lesser variation (9.9%). The global net embryo production (D8) was 23.5%, from cleaved oocyte population.

Results show that this *in vitro* bovine embryo production system in co-culture with granulosa cells monolayers show seasonal variations with collected oocytes/ovary being reduced in autumn vs. spring. This may be linked to a minor ovarian activity due to younger donor heifers reaching the abattoir during this season. Winter was identified as the worst season as it affected embryo culture between cleavage and D8 embryos, suggesting that accidental cool temperature conditions affecting ovaries during handling between abattoir and the laboratory may have influenced later performances. Results obtained in our system although not so different from other worldwide laboratories, point out to the need of identification and control of those factors, which are causing such a large variation between culture sessions in D8 and extruded embryo rates as well as the yet small rates of transferable embryos.