



UNICEPLAC

Centro Universitário do Planalto Central Aparecido dos Santos - UNICEPLAC

Curso de Medicina Veterinária

Trabalho de Conclusão de Curso

**ÍNDICES DE RECUPERAÇÃO DE OÓCITOS E PRODUÇÃO
DE EMBRIÕES POR FECUNDAÇÃO *IN VITRO* NAS RAÇAS
GIR LEITEIRO, HOLANDÊS E GIROLANDO.**

Gama-DF

2019

GABRIEL ALBERTO SANTOS DE PINHO

**ÍNDICES DE RECUPERAÇÃO DE OÓCITOS E PRODUÇÃO
DE EMBRIÕES POR FECUNDAÇÃO *IN VITRO* NAS RAÇAS
GIR LEITEIRO, HOLANDÊS E GIROLANDO.**

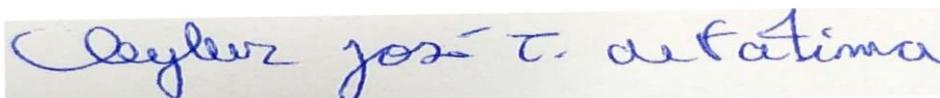
Trabalho de conclusão de curso apresentado
como requisito para conclusão do curso de
Bacharelado em MEDICINA VETERINÁRIA
pelo Centro Universitário do Planalto Central
Apparecido dos Santos – Uniceplac.
Orientador: Prof. Me. Cleyber José da Trindade
de Fátima

**ÍNDICES DE RECUPERAÇÃO DE OÓCITOS E PRODUÇÃO DE EMBRIÕES POR
FECUNDAÇÃO IN VITRO NAS RAÇAS GIR LEITEIRO, HOLANDÊS E
GIROLANDO.**

Artigo apresentado como requisito para conclusão
do curso de Bacharelado em MEDICINA
VETERINÁRIA pelo Centro Universitário do
Planalto Central Aparecido dos Santos —
Uniceplac.

Gama, 18 de novembro de 2019.

Banca Examinadora



Prof. Me. Cleyber José da Trindade de Fátima

Orientador



Me. Álvaro Moraes da Fonseca Neto

Examinador



Prof. Me. Caroline Lavocat Nunes Pollini

Examinador

ÍNDICES DE RECUPERAÇÃO DE OÓCITOS E PRODUÇÃO DE EMBRIÕES POR FECUNDAÇÃO *IN VITRO* NAS RAÇAS GIR LEITEIRO, HOLANDÊS E GIROLANDO.

Gabriel Alberto Santos de PINHO¹ Cleyber José da Trindade de FÁTIMA² Luísa Anastácia Santos de OLIVEIRA³ Isabel Cristina FERREIRA⁴

Resumo:

O uso de biotecnologias aplicada a reprodução animal como por exemplo a fertilização *in vitro* de embriões vem sendo utilizada cada vez mais, e dando enfoque a isso objetivou-se avaliar o efeito do grupo genético de duas raças leiteiras zebuína e taurina e o respectivo cruzamento entre elas. Avaliaram-se então a média de produção total e viável de oócitos, produção de embrião por doadora e quantidade de oócito para produção de cada embrião de 355 OPU no período de janeiro a dezembro do ano de 2018. Os dados foram concedidos pela empresa ABS PECPLAN referente a 3 fazendas leiteiras do estado de Minas Gerais. Para tanto foi realizado a coleta de oócitos através da punção folicular guiada por ultrassom (*ovum pick up*- OPU) associada a fertilização *in vitro*. Os dados foram avaliados por análise de variância para avaliar o efeito da raça, e as médias foram comparadas pelo teste de tukey a 5% de significância. A quantidade média de oócitos por vaca foi maior no girolando ½, que foi superior ao Holandês em 2,46 vezes. Já a raça Gir foi superior à Holandêsa em 1,96 vezes. O número de embriões foi seis vezes maior no Girolando ½ e quatro vezes maior no Gir quando comparado ao Holandês. Dessa maneira a raça Girolando obteve melhores índices para ambas as variáveis estudadas.

Palavras-chave: *bos indicus*. *bos taurus*. Reprodução, zebuíno, taurino, *ovum pick up*.

¹Graduando do Curso de Medicina Veterinária, do Centro Universitário do Planalto Central Aparecido dos Santos – Uniceplac. E-mail: gabrielalberto.mv@gmail.com.

² Professor do Curso de Medicina Veterinária, do Centro Universitário do Planalto Central Aparecido dos Santos – Uniceplac. E-mail: cleybertrindade@gmail.com.

³ Técnica de laboratório III – ABS PECPLAN. E-mail: luisa.oliveira@genusplc.com.

⁴ Pesquisadora da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa Cerrados. E-mail: isabel.ferreira@embrapa.br.

OOCYTE RECOVERY AND EMBRYO PRODUCTION INDEXES IN VITRO FECUNDATION IN DAIRY GIR, HOLSTEIN AND GIROLANDO BREEDS.

Abstract:

The use of biotechnology applied to animal reproduction such as fertilization in vitro embryos has been increasingly used, and focusing on this was aimed at evaluating the effect of the genetic group of two zebu and taurine dairy breeds and their crossbreeding. The mean total and viable oocyte production, donor embryo production, and oocyte quantity for each embryo production were then evaluated at 355 OPU from January to December of 2018. The data were provided by the company ABS PECPLAN for 3 dairy farms in the state of Minas Gerais. For this purpose, oocyte collection was performed through ultrasound-guided follicular puncture (ovum pick up-OPU) associated with in vitro fertilization. Data were evaluated by analysis of variance to assess the effect of race, and means were compared by the Tukey test at 5% significance. The average amount of oocytes per cow was higher in ½ girolando, which was higher than the holstein by 2.46 times. The Gir breed was superior to the holstein breed by 1.96 times. The number of embryos was six times higher in Girolando ½ and four times higher in Gir when compared to holstein. Thus the Girolando breed obtained better rates for both studied variables.

Keywords: *bos indicus*. *bos taurus*. Breeding, Zebu, Taurus, *Ovum pick up*.

INTRODUÇÃO

A fêmea bovina tem tido uma grande participação em progressos relacionados a biotécnicas reprodutivas, mantendo ao longo dos anos um papel muito importante no melhoramento genético do rebanho. O uso de biotécnicas da reprodução como inseminação artificial, fertilização *in vitro* e transferência de embriões têm sido utilizadas cada vez mais, e com resultados satisfatórios, fazendo com que uma única fêmea bovina deixe um maior número de descendentes no decorrer de sua vida reprodutiva (FIGUEIREDO *et al.*, 2007 ; SCANAVEZ; 2013; GONÇALVES *et al.*, 2007). Duarte (2016) ressalta ainda que essas biotecnologias utilizadas na reprodução animal se torna indispensável quando se pretende obter uma boa eficiência do rebanho, mantendo claro um bom manejo sanitário e nutricional além de melhoramento genético.

A coleta de oócitos através da punção folicular guiada por ultrassom (*ovum pick up*-OPU) associada à fertilização *in vitro* vem sendo utilizada cada dia mais, sendo que nos últimos 10 anos o uso dessas tecnologias veio se expandindo gradualmente. Tais tecnologias têm sido utilizadas como ferramentas de grande efeito no melhoramento genético, pois além de diminuir o intervalo entre gerações e conseqüentemente diminuir o tempo de melhoramento genético, permite que uma matriz de elevado padrão genético produza um maior número de crias em um menor espaço de tempo. Sendo então essa técnica de grande importância para se maximizar o potencial reprodutivo do rebanho brasileiro (VARAGO *et al.*,2008 ; VIANA *et al.*, 2008). Um benefício da aspiração folicular é a não utilização de hormônios para recuperação dos oócitos (BUENO e BELTRAN., 2008). De acordo com Palhano (2008), uma doadora que fisiologicamente iria obter um bezerro ao ano, com a técnica da fertilização *in vitro* (FIV), é possível que a mesma possa produzir cerca de 50 gestações.

O uso dessas técnicas além de diminuir o tempo de melhoramento genético, corrobora para uma rápida progressão de material genético superior, seja do macho na IA, ou da fêmea na FIV, ambas com finalidade tanto para leite quanto para corte (BARUSELLI, 2007).

O Brasil é responsável por pelo menos 50% da produção de embriões *in vitro* de todo o mundo, e animais de origem zebuínas são as mais utilizadas nesse processo, devido ao maior número de folículos presentes no ovário quando comparada as taurinas (NEVES, *et al.*, 2010). No Brasil é crescente o interesse em raças zebuínas como a raça Gir, devido a sua boa capacidade de adaptação e rusticidade mesmo em condições de estresse promovido por temperaturas elevadas (PONTES, *et al.*,2010), e a raça holandesa devia a sua boa seleção para altas produção de leite, (ABCG., 2019). O cruzamento advindo entre *bos taurus taurus* x *bos*

taurus indicus, tem resultados bastante satisfatórios, pois têm boa capacidade de se adaptarem a manejo tecnológico de baixo ou alto nível (Ruas *et al.*, 2010; Alves, 2008). Esse cruzamento tem sido bastante utilizado em áreas de clima tropical, devido a sua boa adaptabilidade, aumento na produção de leite e uma boa eficiência reprodutiva (MARINHO, *et al.*, 2015).

Alguns fatores tem influência direta na taxa de recuperação de oócitos, e um dos principais fatores é o manejo nutricional, que pode afetar diretamente a qualidade oocitária junto com a conversão embrionária. Isso ocorre pois animais que consomem um alto teor de matéria seca, podem apresentar uma sobrecarga do fígado aumentando o fluxo sanguíneo hepático e diminuindo diretamente a taxa de homônios esteroides como a progesterona e o estradiol, pois ambos são metabolizados no fígado, isso irá ocorrer principalmente em animais com alta produção de leite (TORRES *et al.*, 2015; MELLO *et al.*, 2017).

Baruselli *et al* (2007), explicam que para se implantar um programa de biotécnicas reprodutivas faz-se necessário o entendimento de particularidades da fisiologia reprodutiva de fêmeas taurinas e zebuínas. Uma diferença observada nessas duas raças é na questão da foliculogênese, pois Silva;Santos *et al.*, (2011) relataram que fêmeas de origem taurina possuem uma menor quantidade de onda folicular, uma menor população de folículos por onda e poucos folículos antrais quando comparado a fêmeas zebuínas, porém os folículos dominantes, corpo lúteo e o estro são maiores em fêmeas taurinas do que zebuínas.

Outra característica é o diâmetro do corpo lúteo (CL), fêmeas taurinas tem CL maior que zebuínas. O CL de fêmeas *Bos indicus* variam de 17 a 21 mm de diâmetro (RHODES *et al.*, 1995; FIGUEIREDO *et al.*, 1997) enquanto que de fêmeas *Bos taurus* variam de 20 a 30 mm de diâmetro (GINTHER *et al.*, 1989; KASTELIC *et al.*, 1990).

O objetivo deste trabalho é avaliar o efeito do grupo genético avaliando os índices de produção de oócitos totais e viáveis correlacionando com a quantidade de embrião produzida na fertilização *in vitro*, fazendo um comparativo entre as raças Holandesa, Gir leiteiro e Girolando ½ sangue.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho toma por base, dados concedidos pela empresa ABS PECPLAN relativos à FIV realizadas entre os meses de janeiro a dezembro do ano de 2018, de três fazendas leiteiras situadas no estado de Minas Gerais. Foram realizadas um total de 355 OPU, utilizando doadoras da raça Gir leiteiro, Holandesa e Girolando ½ sangue (50% Holandês e 50% Gir).

De acordo com a técnica de OPU descrita por Mainardes (2010), foi feita a tricotomia na região sacro coccígea, anestesia epidural baixa com anestésico local (Lidocaína 2% - BLOC® J.A SAÚDE ANIMAL), aproximadamente 5 ml, higienização da região do períneo do animal com água corrente e sabão, sendo devidamente enxaguada e desinfetadas com álcool etílico 70%.

O procedimento de aspiração folicular foi realizado introduzindo a guia de aspiração (WATANABE TECNOLOGIA APLICADA®, SÃO PAULO, BRASIL) acoplado a ultrassom modo B (DP-VET2200 PLUS, MINDRAY®, SHENZHEN, CHINA) na vagina do animal até o fórnix vaginal, com a mão adentrado ao reto do animal, localizava-se os ovários, posicionava-se o ovário em frente a guia de aspiração e com o auxílio do ultrassom posiciona-se o folículo a ser aspirado na saída da agulha de aspiração (CATETER INTRAVENOSO 18g SOLIDOR® adaptado). A agulha de aspiração é conectada a uma bomba a vácuo (BV-003D, WATANABE TECNOLOGIA APLICADA®, SÃO PAULO, BRASIL) com uma pressão a vácuo ajustada em 72 a 78 mmHg, desta maneira a agulha entra no interior do folículo e aspira todo o conteúdo. Ao terminar a aspiração de todos os folículos de ambos os ovários, o conteúdo fica armazenado em um tubo Falcon de 50 ml (KASVI®) com PBS, acrescido de 5,0 UI/ml de Heparina e 50 mg/ml de Gentamicina. Em seguida, esse conteúdo vai para o selecionador de oócitos, para filtrar e fazer rastreamento de oócitos e então classificá-los.

Os oócitos aspirados são classificados levando em consideração a qualidade de citoplasma e células de *cumulus oophilus*, e separados em viáveis, não viáveis. A classificação segue alguns parâmetros.

Grau 1: Citoplasma íntegro e bem preenchido, zona pelúcida íntegra e grande quantidade de células de cumulus.

Grau 2: Citoplasma íntegro e preenchido, zona pelúcida íntegra e mediana quantidade de células de cumulus.

Grau 3: Citoplasma íntegro, zona pelúcida íntegra e baixa quantidade de células de cumulus.

Desnudo: Citoplasma defeituoso, zona pelúcida íntegra e ausência de células de cumulus.

Citoplasma irregular: Citoplasma irregular, zona pelúcida íntegra e pode apresentar alta, mediana ou baixa quantidade de células de cumulus.

Após a classificação são armazenados em criotubos com meio de maturação com 5% de CO₂, 5% de O₂ e 90% de N₂ e com óleo mineral por cima para prevenir mudanças de pH, temperatura e contato do meio com o ar (STRINGFELLOW *et al.*, 1998), e colocados a uma

transportadora de oócitos a uma temperatura de 38°C. Em seguida são transportados ao laboratório, onde passam por processo de maturação, fertilização e cultivo.

Quanto a análise estatística foi realizado a transformação logarítmica das variáveis para atender normalidade dos dados.

Foi realizada análise de variância para verificar o efeito da raça das vacas doadoras nas variáveis: número médio de oócitos por vaca, número médio de oócitos viáveis por vaca, número médio de embriões por vaca e a relação oócitos/embriões por vaca. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey e a probabilidade considerada significativa foi menor que 5%, utilizando o programa STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM 2012.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em comparação com a quantidade média de oócitos por vaca como mostra na (tabela1) obteve-se um melhor resultado na raça Girolando ½, que foi superior ao Holandês em 2,46 vezes, a raça Gir foi superior ao Holandês em 1,96 vezes . De acordo com Bó et al (2003) esse aumento de número de folículos no zebuínio pode estar relacionado com o fator de crescimento semelhante a insulina (IGF), pois há algumas evidências em que ela se difere nos grupos genéticos, e devido a isso fêmeas Bos indicus produzem um maior número de folículos devido a elevada concentração de IGF-1, mesmo com presença de baixos níveis de hormônio folículo estimulante (FSH). Silva Santos et al (2011), relatam também que em uma OPU o número de oócitos recuperados em fêmeas zebuínas pode ser de 25% a 50% maior quando comparados a fêmeas européias, já em um estudo realizado por Pontes et al, (2011), demonstrou que a taxa de recuperação em cada sessão de OPU na raça holandesa foi de 4,1 oócitos.

Tabela 1. Recuperação média por OPU de oócitos totais nos diferentes grupos genéticos.

Raças das doadoras	Média oócitos total por OPU
Gir	32,8±1,21 ^b
Girolando1/2	41,06±1,20 ^a
Holandês	16,68±0,52 ^c

As letras minúsculas diferentes na coluna diferem pelo teste t a 5% de probabilidade. Valor de p<0.0001.
Fonte: Do Autor, 2019.

Neste estudo, nos animais da raça Girolando foi encontrada uma média de 41,06 oócitos por cada sessão de OPU (6522 oócitos, 159 sessões de OPU) estes resultados foram superiores

aos de Pontes et al, (2010), que recuperou 22,44 oócitos por sessão de OPU em animais de raça Girolando (492 sessões de OPU, 12492 oócitos). Isso pode ter ocorrido pelo atual trabalho possuir 50% de grau sanguíneo de zebuínos, enquanto no trabalho de Pontes et al (2010) os animais tinham maior grau de sangue taurino, ½ Gir x ½ holandês e ¼ holandês e ¾ Gir, outra questão pode estar relacionada com o manejo dos animais, pois animais provenientes de raças européia não estão adaptados com o clima do Brasil, e isso pode ter efeito direto na fisiologia reprodutiva, afetando juntamente a quantidade de oócitos.

Carvalho et. al (2007), demonstraram que fêmeas zebuínas recrutaram $33,4 \pm 3,2$ folículos, enquanto fêmeas taurinas recrutaram apenas $25,4 \pm 2,5$ folículos. Boni et. al em (1997), afirmaram que essa característica de número de folículos recrutados por onda de crescimento folicular, possui alta taxa de repetibilidade, durante toda a vida da fêmea, e que isso tem influência direto quando se usa da técnica de transferência de embrião e de OPU-FIV, mostrando que nessa particularidade a fêmea zebuína tem vantagem sobre a taurina. Viana et. al (2004), relatam que vacas que são aspiradas com menor frequência, tem uma melhor eficiência na taxa de recuperação de oócitos, devido ao fato do ovário ter um maior tempo para se recuperar.

A recuperação média de oócitos viáveis por doadora, segue representada abaixo na tabela 2. Os valores mantiveram a mesma lógica da recuperação média de oócitos entre as raças.

Tabela 2. Recuperação média de oócitos viáveis por doadora, nos diferentes grupos genéticos.

Raças das doadoras	Média de oócitos viáveis por doadora
Gir	$28,8 \pm 1,0^b$
Girolando 1/2	$35,8 \pm 1,0^a$
Holandês	$14,6 \pm 0,5^c$

As letras minúsculas diferentes na coluna diferem pelo teste t a 5% de probabilidade. Valor de $p < 0.0001$.
Fonte: Do Autor, 2019.

Pontes et al (2010), corroboram que fêmeas Girolando ½ quando comparadas a fêmeas Gir leiteiro, recrutam um maior número de oócitos devido a heterose provindo do cruzamento das duas raças, o que condiz com a (tabela 1 e 2). Silva et al (2015) explicam que há uma diferença na quantidade e qualidade ao número de complexos cumulus oophorus (CCOs) de zebuínos e taurinos. Em um estudo feito por Borges et al (1998) relatam que fêmeas *bos taurus taurus* quando submetidas a alta temperatura e umidades tem uma baixa recuperação de oócitos

e diminuem a capacidade de desenvolvimento, o que condiz com as condições climáticas do atual estudo (tabela 1 e 2). Os dados acerca da produção média de embriões e taxa de conversão de oócitos para produção de embrião seguem na tabela 3.

Tabela 3. Taxa média de conversão de oócitos viável por produção de embrião e taxa média de embrião por doadora nos diferentes grupos genéticos.

Raças das doadoras	Média de conversão de oócitos para produção de embrião	Média de embrião por doadora
Gir	6,08±0,76 ^b	7,44±0,48 ^b
Girolando 1/2	3,69±0,14 ^c	10,9±0,44 ^a
Holandês	13,60±1,32 ^a	1,76±0,12 ^c

As letras minúsculas diferentes na coluna diferem pelo teste t a 5% de probabilidade. Valor de $p < 0.0001$.

Fonte: Do Autor, 2019.

O número de embriões foi seis vezes maior no Girolando 1/2 e quatro vezes maior no Gir quando comparado ao Holandês (Tabela 3). Verifica-se também, índices médios de produção de embrião por doadora de 7,44±0,48^b para raça Gir e 10,9±0,44 para Girolando 1/2 sangue tendo um valor de diferença estatística ($p < 0,0001$), contra dizendo um estudo feito por Miquelanti et al (2018), que não obtiveram diferenças estatísticas quando comparando as raças Gir 5,1±4,1 e Girolando 1/2 6,6±7.0 na produção de embrião por doadora. Pode ter contribuído para tal resultado, o fato de que há uma maior quantidade de CCOs recuperados em animais zebuínos fazendo então com que haja uma maior produção de embrião no final da FIV, dados relatados por Satrapa et al (2013) e Silva et al (2015).

Dominguez (1995), relata que animais de origem taurina possuem uma maior quantidade de folículos grandes (≥ 10 mm) e relatou que quanto maior o folículo pior a qualidade do oócito. Isso tem influência direta na conversão de oócito/embrião, como encontrado na tabela 3, pois oócitos de qualidade inferior tem baixa capacidade de fecundação, o que explica a baixa conversão das fêmeas holandesas. Saacke et. al (1994), confirmam ainda que o fator touro se faz de grande importância na capacidade de fertilização, tendo influência direta na produção de embrião produzida. Silva et. al (2015) relataram que o uso do cruzamento entre doadora Holandesa e touro Gir se torna mais eficiente na fiv para produção de mestiços F1.

Outro fator que corrobora para tal resultado é o que afirmam Webb et al (2004), que a qualidade do oócito esta inteiramente relacionanda ao ambiente em que ele se encontra. Ainda nesse aspecto climático, Hansen (2002), ressalta também que, um aumento na temperatura

corporal ocasionada por estresse térmico tem efeito direto e com consequências direta na função celular comprometendo também a qualidade do oócito pois diminui a quantidade de oócitos viáveis e afeta a produção de embrião. Outro efeito da temperatura corporal foi encontrado em um estudo feito por Rosenberg et al (1977) explicam que vacas quando passam por estresse calórico, tendem a ter um aumento na temperatura corporal podendo matar o embrião.

A literatura descreve que animais de origem europeia não são tão resistentes ao clima brasileiro quanto animais de origem zebuína. Sendo esse um dos fatores que pode influenciar na qualidade do oócito, pois animais taurinos além de recrutarem uma quantidade menor de folículos, recrutam uma qualidade oocitária baixa, o que tem influência na produção de embrião (tabela 3) e na quantidade final. Um estudo conduzido por Mello et al, (2017), falam que fatores como, genótipo da doadora, nutrição, idade, sanidade, sazonalidade, categoria e estágio do ciclo estral, pode influenciar na conversão do embrião e na taxa de recuperação de oócitos, Torres et al., (2015), reforçam que a nutrição tem forte influência no desenvolvimento oocitário e conversão embrionária, pois afeta a fisiologia e o metabolismo, tanto com excesso ou falta de nutrição, e isso tem um impacto maior em vacas de alta produção leiteiras, como são o caso das holandesas.

CONCLUSÃO

Conclui-se que animais de origem zebuína produziram mais oócitos do que animais de origem taurina, e que o respectivo cruzamento entre as raças faz com que tenha-se um grau de heterose maior, obtendo então melhores resultados, tanto na quantidade de oócito quanto na conversão de embrião.

REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS CRIADORES DE GIROLANDO, Generalidades, 2019. Disponível em: <http://www.girolando.com.br/index.php?paginasSite/girolando,2.pt>. Acesso em : 22 de novembro de 2019.

ALVES, B.R.C. **Produção in vivo e transferência de embriões F1 em rebanhos leiteiros, utilizando-se cruzamento recíproco entre as raças Holandês e Gir em duas épocas do ano.** 2008. 110p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, 2008.

BARUSELLI, P.S GIMENES, L.U SALES, J.N.S. Fisiologia reprodutiva de fêmeas taurinas e zebuínas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.31, n.2, p.205- 211,

2007.

BÓ GA, BARUSELLI PS, MARTINEZ MF. Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. **Anim Reprod Science**, v.78, p.307-326, 2003.

BONI R, et al. Follicular dynamics, repeatability and predictability of follicular recruitment in cows undergoing repeated follicular puncture. **Theriogenology**, v.48, p.277-289, 1997.

BORGES, A.M. et al. Influência da temperatura na qualidade dos embriões de novilhas mestiças. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 35, 1998, Botucatu. **Anais...**, Botucatu: FMVZ/UNESP, . p.99-101. 1998

BUENO, A. P.; BELTRAN, M. P. **Produção in Vitro de embriões bovinos**. Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária. Simposio ano IV, n. 11. São Paulo, 2008. Disponível em <http://www.revista.inf.br/veterinaria11/revisao/edic-vi-n11-RL83.pdf> acessado em: 21. Nov. 2019.

CARVALHO JBP, et al. Effect of early luteolysis in progesterone-based timed AI protocols in *Bos indicus*, *Bos indicus* x *Bos taurus*, and *Bos taurus* heifers. **Theriogenology**, v.69, n.2, p.167-175, 2007.

DOMINGUEZ, M. M. Effect of body condition, reproductive status and breed on follicular population and oocyte quality in cows. **Theriogenology**, v. 43, p.1405-1418, 1995.

DUARTE, V. N.; CAVALCANTI, K. A. **Evolução e concentração inter-regional e intra-regional da produção de leite: O caso do estado de Santa Catarina no período de 2000 a 2012**. Evidências e biotecnologia, v.15, n.2, p. 153-164, 2016.

FERNANDES, C. A. C. **Efeito do tratamento com hormônio folículo estimulante (FSH) sobre a taxa de gestação de novilhas mestiças usadas como receptoras de embriões**. Viçosa, 1994. 63 f. Dissertação (Mestrado) – Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1994.

FIGUEIREDO, R.A, et al. Ovarian follicular dynamics in Nelore breed (*Bos indicus*) cattle. **Theriogenology**, v.47, p.1489-1505, 1997.

FIGUEIREDO, J.R.; et al. Importância da biotécnica de MOIFOPA para o estudo da foliculogênese e produção in vitro de embriões em larga escala. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. v.31, p.143-152, 2007.

GINTHER, O. J, KNOFF L, KASTELIC JP. Temporal associations among ovarian events in cattle during oestrous cycles with two or three follicular waves. **J Reprod Fertil**, v.87, p.223-230, 1989.

GONÇALVES, P. B. D.; et al. Produção in vitro de embriões bovinos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. v.31, p.212-217, 2007.

HANSEN PJ. Embryonic mortality in cattle from the embryo's perspective. **J Anim Sci**, v.80, suppl. 2, E33-E44. 2002.

KASTELIC JP, BERGFELT DR, GINTHER OJ. Relationship between ultrasonic assessment

of the corpus luteum and plasma progesterone concentration in heifers. **Theriogenology**, v.33, p.1269-1278, 1990.

MAINARDES, G.A., **Aspiração folicular, produção in vitro e manipulação de embriões bovinos**. Trabalho de conclusão de curso. Universidade Tuituti do Paraná Faculdade de Ciências Biológicas e da Saúde. 2010

MARINHO, L.S.R.; et al. Pregnancy Rates to Fixed Embryo Transfer of Vitrified IVP *Bos indicus*, *Bos Taurus* or *Bos indicus Bos Taurus* Embryo. **Reproduction in Domestic Animal**, v.43, p. 623-632, 2015.

MELLO, R. R. C.; et al. Produção in vitro(PIV) de embriões em bovinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 40, n. 2, p. 58-64, 2017.

MIQUELANTI, V. H.; et al. A interferência da produção de leite nas taxas de recuperação oocitária e conversão de embriões de doadoras da raça Gir e meio sangue. **Archives of Veterinary Science**, v.26, n.4, 2018. Disponível em: <https://revistas.ufpr.br/veterinary/article/view/60351>. Acesso em: 20. Out. 2019.

NEVES, K. A. L. Effect of interval between insemination and ovulation in conception rates in Nelore cows timed AI with sex-sorted. **Master Diss. University of Sao Paulo, Brazil**, p. 57, 2010.

PALHANO, H.B. **Reprodução em bovinos-fisiopatologia, terapêutica, manejo e biotecnologia**. 2.ed. Rio de Janeiro: Editora LF Livros, p.181-224, 2008.

PONTES, J. H. F.; et al. Ovum pick up, in vitro embryo production, and pregnancy rates from a large-scale commercial program using Nelore cattle (*Bos indicus*) donos. **Theriogenology**, v. 75, p 1640-1646, 2011.

PONTES, J. H. F.; et al. Large-scale in vitro embryo production and pregnancy rates from *Bos taurus*, *Bos indicus*, and *indicus-taurus* dairy cows using sexed sperm. **Theriogenology**, v. 74, n.8, p. 1349-1355, 2010.

RHODES FM, DE'ATH G, ENTWISTLE KW. Animal and temporal effects on ovarian follicular dynamics in Brahman heifers. **Anim Reprod Sci**, v.38, p.265-277, 1995.

ROSENBERG, M. Et al. Seasonal variations in post-partum plasma progesterone levels and conception in primiparous and multiparous dairy cows. **J Reprod Fertil**, v. 51, p. 363-367, 1977.

RUAS, J.R.M.; et al. **Sistema de produção de leite com vacas F1 Holandês x Zebu**. Informe Agropecuário, v.31, p.63-71, 2010.

SAACKE, R.G., NADIR, S. e NEBEL, R.L. Relationship of semen quality to sperm transport, fertility and embryo quality in ruminants. **Theriogenology**, 41: 45-50, 1994.

SATRAPA, R. A.; et. Differential expression. Of members of the IGF system in OPU-derived oocytes from Nelore (*Bos indicus*) and Holstein (*Bos taurus*) cows. **Animal Reproduction Science**, v. 138, p. 155-158, 2013.

SCANAVEZ, A. L.; CAMPOS, C. C.; SANTOS, R. M. **Taxa de prenhez e de perda de gestação em receptoras de embriões bovinos produzidos in vitro**. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v. 65, n. 3, p. 722-728, 2013.

SILVA, A.P.T.B.; et al. Efeito do acasalamento entre a doadora e o touro (Holandês versus Gir) na produção in vitro de embriões bovinos. **Boletim de Indústria Animal**. v.72, p.51-58, 2015.

SILVA-SANTOS, K. C., et al. Estimate of the population of preantral follicles in the ovaries of *Bos taurus indicus* and *Bos taurus taurus* cattle. **Theriogenology**, v.76, n.6, p.1051-1057, 2011.

STRINGFELLOW, D.A., SEIDEL, S.M., **Manual da sociedade internacional de transferência de embriões: um guia de procedimento e informações gerais para uso em tecnologia de transferência de embriões enfatizando procedimentos sanitários**. Illinois. 1:180, 1998.

TORRES, H. A. L; TINEO, J. S. A; RAIDAN, F. S. S. **Influência do escore de condição corporal na probabilidade de prenhez em bovinos de corte**. Archivos de Zootecnia. V. 65, p.255-260, 2015.

VARAGO FC, MENDONÇA LF, LAGARES MA. Produção in vitro de embriões bovinos: estado da arte e perspectiva de uma técnica em constante evolução. **Rev Bras Reprod Anim**, v.32, p.100-109, 2008.

VIANA J.H.M. Produção de embriões bovinos in vivo (transferência de embriões - TE) e in vitro (Fecundação in vitro FIV) no Brasil: histórico, cenário atual e perspectivas. In: **Simpósio de Reprodução de Bovinos**, 1, Pelotas, RS. Anais... Pelotas: EMBRAPA, p.48-55, 2008.

VIANA, J. H. M., et al. Short intervals between ultrasonographically guided follicle aspiration improve oocyte quality but do not prevent establishment of dominant follicles in the Gir breed (*Bos indicus*) of cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 84, n. 1-2, p. 1–12, 2004.

WEBB R, et al. Control of follicular growth: Local interactions and nutritional influences. **J Anim Sci**, v.82, p.63-74, 2004.

AGRADECIMENTOS

Queria agradecer primeiramente a Deus por te me abençoado até aqui e ter me dados força para sempre está em busca de conhecimento, agradecer meus pais e minha irmã por sempre estarem me incentivando e mostrando o caminho que devo seguir e por estarem presentes em momentos importantes de minha vida. A empresa ABS PECPLAN pelos dados concedidos, e juntamente com todos os técnicos que puderam contribuir de alguma forma, a Dr. Isabel Cristina Ferreira por te feito a análise estatística e também por ter me ajudado em diversas

fases da minha vida acadêmica, aos amigos que sempre estavam me apoiando, ao professor ME Cleyber José da Trindade de Fátima por ter além de aceitado me orientar, contribuído para que tudo viesse a ocorrer bem no decorrer do trabalho pela confiança e dedicação, e aos futuros amigos de profissão por estarem juntos nessa caminhada.