

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 13/07/2023.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU

FATORES QUE INTERFEREM NA MANUTENÇÃO DA
GESTAÇÃO DE RECEPTORAS SUBMETIDAS A TETF *IN*
VITRO

SUSIANDRA KLOSTER MUNHOZ

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Zootecnia como parte das exigências
para obtenção do título de Mestre em
Zootecnia.

BOTUCATU – SP

Agosto - 2022

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU

FATORES QUE INTERFEREM NA MANUTENÇÃO DA
GESTAÇÃO DE RECEPTORAS SUBMETIDAS A TETF *IN*
VITRO

SUSIANDRA KLOSTER MUNHOZ
Médica Veterinária

Orientador: Prof. Dr. José Luiz Moraes Vasconcelos

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Zootecnia como parte das exigências
para obtenção do título de Mestre em
Zootecnia.

BOTUCATU – SP

Agosto - 2022

BIOGRAFIA DO AUTOR

Susiandra Kloster Munhoz, nascida em Ituiutaba – MG, em 20 de junho de 1992, filha de Nelson Munhoz e Rosilda Aparecida Kloster Munhoz. Criada em Uberlândia, ingressou no curso de Medicina Veterinária na Universidade Federal de Uberlândia (UFU). Realizou graduação-sanduíche na University of Guelph – Canadá, realizando estágios na área de bovinocultura. Finalizou a graduação em 2016, e ingressou no programa de residência em Clínica e Cirurgia de Bovinos e Pequenos Ruminantes na USP/São Paulo. Em 2019, finalizou o programa de residência e participou de pesquisas na área de reprodução bovina, sob orientação do Prof. Dr. José Luiz Moraes Vasconcelos. Em 2020, ingressou no programa de pós-graduação em Zootecnia da FMVZ-UNESP/Botucatu – SP, sob orientação do Prof. Dr. José Luiz Moraes Vasconcelos, desenvolvendo o trabalho para apresentação e obtenção do título de mestre: Fatores que interferem na manutenção da gestação de receptoras submetidas a TETF *in vitro*.

Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que seja citada a fonte.

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Munhoz, Susiandra Kloster.

Fatores que interferem na manutenção da gestação de
receptoras submetidas a TETF in vitro / Susiandra Kloster
Munhoz. - Botucatu, 2022

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista
"Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina
Veterinária e Zootecnia

Orientador: José Luiz Moraes Vasconcelos

Capes: 50405004

1. Bovinos. 2. Touro. 3. Transferência de embriões.
4. Fertilização in vitro. 5. Gravidez - Complicações.

Palavras-chave: Bos indicus; Embrião; Perda gestacional;
Touro.

DEDICATÓRIA

Aos meu pais **Nelson Munhoz** e **Rosilda Kloster**, e ao meu irmão, **Anderson Kloster**, por sempre estarem ao meu lado independente da escolha que fizesse, me dando apoio e estímulo para seguir meus objetivos e só parar quando alcança-los.

Dedico principalmente aos meus avós, vô Lorete (*in memoriam*), vô Vicente (*in memoriam*) e vó Olga. Obrigada por todos os ensinamentos de humildade, perseverança e amor. Esses dois últimos anos de perdas ressignificaram algumas escolhas e princípios. Sinto muito a falta de vocês no meu cotidiano!

Muito obrigada, eu amo vocês.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por proporcionar momentos incríveis durante minha trajetória, com muito aprendizado, saúde e anjos que cruzaram meu caminho.

Ao meu orientador Zequinha, pelos ensinamentos, paciência, puxões de orelha e oportunidade de trabalharmos juntos. Agradeço a referência que o senhor é para mim, me auxiliando na direção das minhas escolhas nos momentos de dúvida. Só tenho a agradecer!

Ao meu irmão Anderson, pelos ensinamentos, oportunidades e por todas as histórias que já construímos juntos, seja no trabalho ou em algumas presepadas por aí. Agradeço por ter você na minha vida.

Aos meus pais, pela confiança em mim. Por acreditarem e me apoiarem sempre. Pela educação, princípios e valores. Por serem sempre meu porto seguro e os maiores incentivadores de qualquer escolha tomada.

Aos meus avós, pelos bons momentos juntos, os quais abdiquei muitas vezes para buscar meu sonho. Pela compreensão, humildade e amor.

À toda minha família, que sempre torce por mim, vibra comigo e me apoia.

A todos os antigos amigos, que mesmo tão ausente fisicamente, mantivemos a amizade e é sempre muito prazeroso o reencontro.

Aos novos amigos que encontrei nessa caminhada: Jovair, Eltinho, Paulo, Carolzinha, Rafael Marreta, Marcelo, Mateusão, Leandro, Pedro Neto e toda a turma que acompanhou minha trajetória e dedicação para concluir esse trabalho. Obrigada pela amizade e ajuda em todos os momentos.

A minha amiga e cunhada Camila, com quem cultivo enorme amizade. Obrigada pela gigantesca ajuda em obrigações do mestrado, em planilhas e por todo o companheirismo de sempre. Obrigada por ser esse presente que Deus colocou na minha vida!

À Fazenda Tulipa Agropecuária, agradeço por ter participado dessa escola e ter crescido tanto! Obrigada Rodrigo Bruner pelas cobranças e puxões de orelha, essenciais para o meu crescimento e desenvolvimento pessoal e profissional. Tenho grande admiração por você. Obrigada toda a equipe da fazenda que não mediu esforços para auxiliar nos projetos e coleta de dados.

À Fazenda Vertente, pela oportunidade de conhecer e acompanhar o maior projeto de transferência de embrião em gado de corte do Brasil. Obrigada pela receptividade e confiança nas informações coletadas. Obrigada pela paciência na coleta dos dados e contato com funcionários. Foi um prazer acompanhar esse projeto fenomenal de perto!!

À equipe da transferência dos embriões, muito obrigada pela paciência, compartilhamento de informações e pela parceria na resolução de problemas. Obrigada pela acessibilidade aos relatórios e auxílio em dúvidas. Agradeço em especial Douglas, Telcio, Ilana, Marquinhos e Marco Tulio.

Ao Izaias Claro Jr, pela oportunidade de participar do GERAR e aprender muito.

Aos meus amigos de Botucatu, obrigada pelos dias de distração, pelos favores e ajuda em missões aleatórias. Obrigada República Coxera e Boi na Zona pelo acolhimento, meu e da Pandoreca.

Obrigada aos estagiários que me ajudaram com tantas planilhas e dados. Em especial, Camila, Julia Oliveira, Caique, Jéssica e Julia Godoy. Obrigada por ajudar a decifrar os problemas nas fichas de controle e pelo esforço em sempre ajudar. Desejo muito sucesso pra vocês!

Obrigada ao meu amigo Guilherme, estagiário que me ajudou muito e logo alçou voo sozinho. Acompanhar seu crescimento e desenvolvimento profissional de perto foi um dos maiores presentes que esse período me proporcionou. Obrigada pela companhia nos momentos de distração e principalmente, pelos momentos de resolução de problemas.

Obrigada a minha amiga Barbara, irmã que conquistei em terras goianas. Pelos puxões de orelha no excesso de trabalho, por ter cuidado de mim e compartilhado tantos momentos juntas. Não consigo definir o vínculo que criamos vivendo em tantas situações adversas. Obrigada pela sua amizade.

À técnica da Seção de Pós-graduação da UNESP - Botucatu: Cláudia. Uma mãe no meu mundo acadêmico da pós, sempre disposta a ajudar e informar. Muito obrigada por tudo!!

Aos professores da banca de qualificação e de defesa, Zequinha, Marcos, José Buratini (Bura), Reinaldo Cooke, Leandro Cruppe. Muito obrigada pelas considerações e auxílio no desenvolvimento do trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil
(CAPES) - Código de Financiamento 001, pela importante bolsa concedida.

Muito obrigada a todos!!

SUMÁRIO DE FIGURAS

Capítulo 2

Figura 1 - Embriões em diferentes estágios de blastocistos. A. Blastocisto inicial; B. Blastocisto; C. Blastocisto expandido; D. Blastocisto eclodido. Fonte: Grazia, 2019.

Figura 2 – Diagrama esquemático do protocolo de sincronização das receptoras e manejos de avaliação do experimento: D-17: inserção de dispositivo de P4 e aplicação de 2 mg de BE (benzoato de estradiol); D-9: retirada do dispositivo de P4, aplicação de 1mg de CE (cipionato de estradiol), 300UI de eCG (gonadotrofina coriônica equina) e 150µg de PGF2α; D0: transferência de embrião e aplicação de 10,5mcg de GnRH (gonadotrofina); DG1: diagnóstico de gestação por ultrassonografia 25 ± 1,5 dias após a transferência; DG2: diagnóstico de gestação por ultrassonografia 83 ± 18,1 dias após a transferência; Parto: coleta de informação de parto das receptoras prenhas.

SUMÁRIO DE TABELAS

Capítulo 2

Tabela 1 – Classificação dos embriões proposta pela IETS por códigos de acordo com o estágio de desenvolvimento e qualidade embrionária. Fonte: adaptado de Stringfellow; Seidel (1998).

Tabela 2 – Média da produção de oócitos/OPU e proporção da participação das doadoras nas sessões de aspiração de acordo com a categoria.

Tabela 3 – Efeito da produção oocitária por doadora nos índices de manutenção da gestação.

Tabela 4 – Efeito da categoria da doadora nos índices de manutenção da gestação.

Tabela 5 – Efeito da taxa de produção de embriões nos índices de manutenção da gestação.

Tabela 6 – Efeito da dieta das receptoras nos índices de manutenção da gestação.

Tabela 7 – Efeito do ECC das receptoras nos índices de manutenção da gestação.

Tabela 8 – Efeito do peso das receptoras no dia da TE e os índices de manutenção da gestação.

Tabela 9 – Efeito dos touros nos índices de manutenção da gestação.

LISTA DE ABREVIATURAS

AMH Hormônio anti-mulleriano
BL blastocisto
BI blastocisto inicial
BN blastocisto eclodindo
BE blastocisto eclodido
BET betametasona
BNC células binucleadas
BX blastocisto expandido
CL corpo lúteo
CIV cultivo *in vitro*
COCs Complexo cumulus oocito
ECC escore de condição corporal
FSH Hormônio folículo estimulante
FIV fertilização *in vitro*
GnRH hormônio liberador de gonadotrofina
hCG gonadotrofina coriônica equina
IA Inseminação artificial
IATF Inseminação Artificial em Tempo Fixo
IFNT interferon tau
IGF-1 Fator de crescimento semelhante a insulina tipo 1
IVP *in vitro production*
IVD *in vivo derived*
MCI massa celular interna
MIV maturação *in vitro*
MOET *multiple ovulation embryo transfer*
OPU *Ovum pick up*
OPL hormônio lactogênico placentário
PAD Programa de acasalamento dirigido
PGF2 α prostaglandina F2 α
PGE₂ prostagladina E2
PIV Produção *in vitro* de embriões
P4 progesterona
TETF Transferência de Embrião em Tempo Fixo

TE Transferência de embrião

TO Trofoectoderma epitelial externo

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	14
1. REVISÃO DE LITERATURA.....	17
1.1 Doadoras e produção de embriões.....	17
1.2 Receptoras de embriões	18
1.3 Touro e sua contribuição no desenvolvimento embrionário	21
1.4 Perdas gestacionais na TETF <i>in vitro</i>	24
2. HIPÓTESES	28
3. OBJETIVOS	28
4. REFERÊNCIAS.....	29
CAPÍTULO 2	39
FATORES QUE INTERFEREM NA MANUTENÇÃO DA GESTAÇÃO DE RECEPTORAS SUBMETIDAS A TETF <i>IN VITRO</i>	39
RESUMO.....	40
ABSTRACT	42
1. INTRODUÇÃO	44
2. MATERIAL E MÉTODOS	45
2.1 Localização e animais.....	45
2.2 Produção de embriões	46
2.2.1 Aspiração/Ovum Pick Up (OPU).....	46
2.2.2 Fertilização <i>in vitro</i> (FIV)	46
2.2.3 Cultivo <i>in vitro</i> (CIV)	47
2.3 Receptoras.....	49
2.4 Protocolo de sincronização	49
2.5 Transferência de embriões.....	50
2.6 Diagnóstico de gestação	50
2.7 Nascimento dos animais.....	50
3. ANÁLISE ESTATÍSTICA	51
4. RESULTADOS.....	52
5. DISCUSSÃO	59
6. CONCLUSÃO	66

4. REFERÊNCIAS

ALVAREZ, P.; SPICER, L. J., CHASE JR., C. C., PAYTON, M. E., HAMILTON, T. D., STEWART, R. E., ... & WETTEMANN, R. P. Ovarian and endocrine characteristics during an estrous cycle in Angus, Brahman, and Senepol cows in a subtropical environment. *Journal of animal science*, v. 78, n.5, p. 1291-1302, 2000.

ALMEIDA, T. G. et al. Paternal effect does not affect in vitro embryo morphokinetics but modulates molecular profile. *Theriogenology*, v. 178, p. 30-39, 2022.

AONO, F. H., COOKE, R. F., ALFIERI, A. A., & VASCONCELOS, J. L. M. Effects of vaccination against reproductive diseases on reproductive performance of beef cows submitted to fixed-timed AI in Brazilian cow-calf operations. *Theriogenology*, v.79, n.2, p.242-248. 2013.

AMARAL, T.F. et al. Actions of CSF2 and DKK1 on bovine embryo development and pregnancy outcomes are affected by composition of embryo culture medium. *Scientific reports*, v. 12, n. 1, p. 1-11, 2022.

ARAUJO, R. R., O. J. GINTHER, J. C. FERREIRA, M. M. PALHÃO, M. A. BEG, M. C. WILTBANK. 2009. Role of follicular estradiol-17beta in timing of luteolysis in heifers. *Biol. Reprod.* 81:426–437.

AROSH, Joe A.; BANU, Sakhila K.; MCCracken, John A. Novel concepts on the role of prostaglandins on luteal maintenance and maternal recognition and establishment of pregnancy in ruminants. *Journal of dairy science*, v. 99, n. 7, p. 5926-5940, 2016.

ASBIA, Associação Brasileira de Inseminação Artificial. Index Asbia, 1º semestre, 2022. p.1-37.

ASSUMPCAO, M. E. O. et al. Bull individual effect is determinant to in vitro embryo production regardless of seminal profile. *Animal Reproduction*, v. 16, n. 3, p. 604, 2019.

BAARENDS, W.M.; UILENBROEK, J.T.; KRAMER, P.; HOOGERBRUGGE, J.W.; VAN LEEUWEN, E. C.; THEMME, A. P.; GROOTEGOED, J. A. Anti-mullerian hormone and anti-mullerian hormone type II receptor messenger ribonucleic acid expression in rat ovaries during postnatal development, the estrous cycle, and gonadotropin-induced follicle growth. *Endocrinology*; v. 136, p. 4951–4962, 1995

BATISTA, E. O. S., MACEDO, G. G., SALA, R. V., ORTOLAN, M. D. D. V., SÁ FILHO, M. F., DEL VALLE, T. A., ... & BARUSELLI, P. S. Plasma antimullerian hormone as a predictor of ovarian antral follicular population in Bos indicus (Nelore) and Bos taurus (Holstein) heifers. *Reproduction in Domestic Animals*, v.49, n.3, p. 448-452. 2014.

BARUSELLI, P. S.; SÁ FILHO, M. F.; MARTINS, C. M.; NASSER, L. F.; NOGUEIRA, M. F.; BARROS, C. M.; & BÓ, G. A. Superovulation and embryo transfer in Bos indicus cattle. *Theriogenology*, v. 65, n. 1, p. 77-88. 2006.

BARUSELLI, P. S. et al. Manipulation of follicle development to ensure optimal oocyte quality and conception rates in cattle. *Reproduction in Domestic Animals*, v. 47, p. 134-141, 2012.

BARUSELLI, P. S. et al. Factors that interfere with oocyte quality for in vitro production of cattle embryos: effects of different developmental & reproductive stages. *Animal Reproduction (AR)*, v. 13, n. 3, p. 264-272, 2018.

BARUSELLI, P. S., ELLIFF, F. M., SILVA, L. G., CATUSSI, B. L., & BAYEUX, B. M. Estratégias para aumentar a produção de embriões em bovinos. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v. 43, n.2, p.315-326. 2016.

BARTON, S. C., ADAMS, C. A., NORRIS, M. L., & SURANI, M. A. H. Development of gynogenetic and parthenogenetic inner cell mass and trophectoderm tissues in reconstituted blastocysts in the mouse. 1985.

BELLOWS, D., S. Ott, and R. Bellows. 2002. Review: Cost of Reproductive Diseases and Conditions in Cattle. *The Professional Animal Scientist* 18: p.26-32.

BELTMAN, M. E., LONERGAN, P., DISKIN, M. G., ROCHE, J. F., & CROWE, M. A. Effect of progesterone supplementation in the first week post conception on embryo survival in beef heifers. *Theriogenology*, v.71, n.7, p.1173-1179. 2009.

BERG, D. K.; VAN LEEUWEN, J.; BEAUMONT, S.; BERG, M.; & PFEFFER, P. L. Embryo loss in cattle between Days 7 and 16 of pregnancy. *Theriogenology*, v. 73, n. 2, p. 250-260. 2010.

BLASCHI W., ANDRADE E.R., NONATO JR. I., PONTES J.H.F., ERENO JR. J.C., UVO S.; SENEDA, M.M. Utilização prévia do Pluset na aspiração folicular: Impacto na produção in vitro de embriões em vacas *Bos indicus*. *Acta Scientiae Veterinariae*; v.32, p. 186. 2004.

BÓ, G. A.; PERES, L. C.; CUTAIA, L. E.; PINCINATO, D.; BARUSELLI, P. S., & MAPLETOFT, R. J. Treatments for the synchronisation of bovine recipients for fixed-time embryo transfer and improvement of pregnancy rates. *Reproduction, Fertility and Development*, v. 24, n.1, p. 272-277. 2011.

CHEBEL, R.C., DEMÉTRIO, D.G., METZGER, J. Factors affecting success of embryo collection and transfer in large dairy herds. *Theriogenology*, v. 69, p. 98-106. 2008.

COOKE, R. F. et al. Effects of temperament on pregnancy rates to fixed-timed AI in *Bos indicus* beef cows. *Livestock science*, v. 142, n. 1-3, p. 108-113, 2011.

DAVOODI, S., COOKE, R. F., FERNANDES, A. C. D. C., CAPPELLOZZA, B. I., VASCONCELOS, J. L. M., & CERRI, R. L. A. Expression of estrus modifies the gene expression profile in reproductive tissues on day 19 of gestation in beef cows. *Theriogenology*, v. 85, n.4, p. 645-655. 2016.

DISKIN, M. G. et al. Effects of nutrition and metabolic status on circulating hormones and ovarian follicle development in cattle. *Animal reproduction science*, v. 78, n. 3-4, p. 345-370, 2003.

DISKIN, M. G.; MORRIS, D. G. Embryonic and early foetal losses in cattle and other ruminants. *Reproduction in Domestic Animals*, v. 43, p. 260-267, 2008.

FRANCO, G. A. et al. Sire contribution to pregnancy loss and pregnancy-associated glycoprotein production in Nelore cows. *Journal of animal science*, v. 96, n. 2, p. 632-640, 2018.

FRANCO, G., REESE, S., POOLE, R., RHINEHART, J., THOMPSON, K., COOKE, R., & POHLER, K. Sire contribution to pregnancy loss in different periods of embryonic and fetal development of beef cows. *Theriogenology*, v. 154, p.84-91. 2020.

FERES, L. F., SIQUEIRA, L. G. B., PALHAO, M. P., DOS SANTOS, L. L., BRANDAO, F. Z., & VIANA, J. H. M. Likelihood of pregnancy after the transfer of embryos derived from follicle aspiration and in vitro embryo production sessions with different relative efficiencies. *Animal reproduction science*, v.193, p.165-170. 2018.

FERNANDES, C. A. C., PALHAO, M. P., FIGUEIREDO, A. C. S., RIBEIRO, J. R., E SILVA, F. F., & VIANA, J. H. M. Weight gain potential affects pregnancy rates in bovine embryo recipients raised under pasture conditions. *Tropical animal health and production*, v.48, n.1, p.103-107. 2016.

GARCIA, S. M., MARINHO, L. S. R., LUNARDELLI, P. A., SENEDA, M. M., & MEIRELLES, F. V. Developmental block and programmed cell death in *Bos indicus* embryos: effects of protein supplementation source and developmental kinetics. *PLoS One*, v.10, n.3. 2015.

GUIMARÃES, A. S. B., ROCHA, L. F., JESUS, R. D. L. D., VASCONCELOS, G. L., ANGHINONI, G., SANTANA, A. L. A., & BARBOSA, L. P. In vitro performance of Zebu (*Bos indicus*) and Taurus (*Bos taurus*) donor cow embryos. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, v.21. 2020.

GRAZIA, J. G. V. Produção in vitro de embriões (PIVE) na bovinocultura de leite e de corte. 2019. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Minas Gerais.

HAFEZ, Elsayed Saad Eldin; HAFEZ, B. (Ed.). *Reproduction in farm animals*. John Wiley & Sons, 2013.

HANSEN, P. J. Embryonic mortality in cattle from the embryo's perspective. *Journal of Animal Science*, v. 80, n. E-suppl_2, p. E33-E44, 2002.

HANSEN, P. J. Current and future assisted reproductive technologies for mammalian farm animals. In: Current and future reproductive technologies and world food production. *Springer*, New York, NY, p. 1-22, 2014.

INSKEEP, E. K., & DAILEY, R. A. Embryonic death in cattle. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, v.21, n.2, p.437-461. 2005.

MALTAU, J. M., STOKKE, K. T., & MOE, N. Effects of betamethasone on plasma levels of estriol, cortisol and hcs in late pregnancy. *Acta Obstetricia et Gynecologica Scandinavica*, v. 58, n.3, p.235-238. 1979.

MARKUSFELD-NIR, O. Epidemiology of bovine abortions in Israeli dairy herds. *Preventive Veterinary Medicine*, v. 31, n. 3-4, p. 245-255, 1997.

MANN, G.E., LAMMING, G.E. The role of sub-optimal preovulatory estradiol secretion in the aetiology of premature luteolysis during the short oestrus cycle in the cow. *Anim. Reprod. Sci.* v.64, p.171–180. 2000.

MERMILLOD P, OSSAID B, COGNIE Y Aspects of follicular and oocyte maturation that affect the developmental potential of embryos. *J Reprod Fertil Suppl* v.54, p.449–460, 1999.

MONTEIRO, F. M., BATISTA, E. O. S., VIEIRA, L. M., BAYEUX, B. M., ACCORSI, M., CAMPANHOLI, S. P., ... & BARUSELLI, P. S. Beef donor cows with high number of retrieved COC produce more in vitro embryos compared with cows with low number of COC after repeated ovum pick-up sessions. *Theriogenology*, v. 90, p.54-58. 2017.

MOROTTI, F., SANTOS, G. M. G., JÚNIOR, C. K., SILVA-SANTOS, K. C., ROSO, V. M., & SENEDA, M. M. Correlation between phenotype, genotype and antral follicle population in beef heifers. *Theriogenology*, v.91, 21-26, 2017.

MOROTTI, F., BARREIROS, T. R. R., MACHADO, F. Z., GONZÁLEZ, S. M., MARINHO, L. S. R., & SENEDA, M. M. Is the number of antral follicles an interesting selection criterium for fertility in cattle?. *Animal Reproduction (AR)*, v.12, n.3, p.479-486. 2018.

MOSCHINI, G. A. et al. Comparison between in vitro embryo production in *Bos indicus* and *Bos taurus* cows. *Research, Society and Development*, v. 10, n. 7, p. e38810716712-e38810716712, 2021.

NAHMS, 2017. Beef Cow-calf Health and Management Practices in the United States, 2017. Acessado em <<http://usda.gov>> .

NOGA, N., & LOONEY, C. Embryo Transfer and Embryo Collection. *Bovine Reproduction*, p.1041-1060. 2021.

LEMLEY, C. O., CAMACHO, L. E., & VONNAHME, K. A. Maternal recognition and physiology of pregnancy. *Bovine reproduction*, p.324-338. 2021

LONERGAN, P.; FORDE, N. Maternal-embryo interaction leading up to the initiation of implantation of pregnancy in cattle. *Animal*, v. 8, n. s1, p. 64-69, 2014.

ORTEGA, M. et al. Influences of sire conception rate on pregnancy establishment in dairy cattle. *Biology of reproduction*, v. 99, n. 6, p. 1244-1254, 2018.

O'CALLAGHAN, E. et al. Sire contribution to fertilization failure and early embryo survival in cattle. *Journal of Dairy Science*, v. 104, n. 6, p. 7262-7271, 2021.

PALMA, G. A.; SINOWATZ, F. Male and female effects on the in vitro production of bovine embryos. *Anatomia, histologia, embryologia*, v. 33, n. 5, p. 257-262, 2004.

PEIXER, P. F.; SANTOS, K. J. G.; SANTOS, A.P. P.; BACKES, C.; SANTOS, J. F. D.; CASTRO, C. S. Produção in vitro de embriões bovinos. *Espacios*, v. 39, n. 16, p. 2, 2018.

PEREIRA, M. H. C., WILTBANK, M. C., & VASCONCELOS, J. L. M. Expression of estrus improves fertility and decreases pregnancy losses in lactating dairy cows that receive artificial insemination or embryo transfer. *Journal of dairy science*, v.99, n.3, p.2237-2247. 2016.

POHLER, K. G., GEARY, T. W., ATKINS, J. A., PERRY, G. A., JINKS, E. M., & SMITH, M. F. Follicular determinants of pregnancy establishment and maintenance. *Cell and tissue research*, v. 349, n.3, p.649-664. 2012.

POHLER, K. G., REESE, S. T., FRANCO, G. A., OLIVEIRA, R. V., PAIVA, R., FERNANDEZ, L., ... & POOLE, R. K. New approaches to diagnose and target reproductive failure in cattle. *Animal Reproduction*, v.17. 2020.

PONTES, J. H. F. et al. Comparison of embryo yield and pregnancy rate between in vivo and in vitro methods in the same Nelore (*Bos indicus*) donor cows. *Theriogenology*, v. 71, n. 4, p. 690-697, 2009.

PONTES, J. H. F., STERZA, F. M., BASSO, A. C., FERREIRA, C. R., SANCHES, B. V., RUBIN, K. C. P., & SENEDA, M. M. Ovum pick up, in vitro embryo production, and pregnancy rates from a large-scale commercial program using Nelore cattle (*Bos indicus*) donors. *Theriogenology*, V. 75, n.9, p.1640-1646. 2011.

PONSART, C. et al. Nutritional status of donor cows: insulin related strategies to enhance embryo development. *Animal Reproduction (AR)*, v. 11, n. 3, p. 195-198, 2018.

REESE, S. T., FRANCO, G. A., POOLE, R. K., HOOD, R., MONTERO, L. F., OLIVEIRA FILHO, R. V., ... & POHLER, K. G. Pregnancy loss in beef cattle: A meta-analysis. *Animal reproduction science*, v. 212, 2020.

SAKODA, J. N. Caracterização e controle da população de oócitos em bovinos Nelore baseados na configuração da cromatina. 2018. Dissertação de mestrado. Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”.

SANTOS, J. E. P., Thatcher, W. W., Chebel, R. C., Cerri, R. L. A., & Galvao, K. N. The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrus synchronization programs. *Animal reproduction science*, v. 82, p.513-535. 2004.

SANTOS, J. E. P., Thatcher, W. W., Chebel, R. C., Cerri, R. L. A., & Galvao, K. N. The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrus synchronization programs. *Animal reproduction science*, v. 82, p.513-535. 2004.

SANTOS-BIASE, W. K. F. Identificação de SNPs e associação com número de oócitos colhidos por aspiração folicular em bovinos da raça Nelore. 2008. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

SANTOS, J. E. P.; CERRI, R. L. A.; SARTORI, R. Nutritional management of the donor cow. *Theriogenology*, v. 69, n. 1, p. 88-97, 2008.

SARTORI, R. et al. Update and overview on assisted reproductive technologies (ARTs) in Brazil. *Animal Reproduction (AR)*, v. 13, n. 3, p. 300-312, 2018.

SIQUEIRA AFP, CASTRO LS, ASSIS PM, BICUDO LdC, MENDES CM, NICHIM, et al. Sperm traits on in vitro production (IVP) of bovine embryos: Too much of anything is good for nothing. *PLoS ONE* V.13, N.7, p. e0200273. 2018.

SHI, D. S. Effects of bulls on fertilization of bovine oocytes and their subsequent development in vitro. *Theriogenology*, v. 30, p. 324 (abstr), 1990.

SPELL, A. R. et al. Evaluating recipient and embryo factors that affect pregnancy rates of embryo transfer in beef cattle. *Theriogenology*, v. 56, n. 2, p. 287-297, 2001.

SUMMERS, R. N., PETERSON, C. A., LOCK, T. F., POLLACK, C., IRELAND, F. A., FAULKNER, D. B., & KESLER, D. J. The effect of exogenous progesterone administered intravaginally, via CIDR, on embryo survival in beef cattle. *Illini BeefNet, University of Illinois. Published on <http://trail.outreach.uiuc.edu/beefnet>*. 2004.

VASCONCELOS, J. L. M., SARTORI, R., OLIVEIRA, H. N., GUENTHER, J. G., & WILTBANK, M. C. Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate. *Theriogenology*, v.56, n.2, p.307-314. 2001.

VASCONCELOS, J. L. M. et al. Effects of postbreeding gonadotropin treatments on conception rates of lactating dairy cows subjected to timed artificial insemination or embryo transfer in a tropical environment. *Journal of dairy science*, v. 94, n. 1, p. 223-234, 2011.

VIANA JHM, FIGUEIREDO ACS, SIQUEIRA LGB. Brazilian embryo industry in context: pitfalls, lessons, and expectations for the future. *Anim. Reprod.*, v.14, n.3, p.476-481, 2017.

VIANA, J. H.; FIGUEIREDO, ACS. 2019 Statistics of embryo production and transfer in domestic farm animals. *Embryo Technology Newsletter*, v. 38, n. 4, 2020.

VIANA, J. H. 2020 Statistics of embryo production and transfer in domestic farm animals. *Embryo Technology Newsletter*, v. 39, n. 4, 2021.

WATANABE, Y. F., DE SOUZA, A. H., MINGOTI, R. D., FERREIRA, R. M., BATISTA, E. O. S., DAYAN, A., ... & BARUSELLI, P. S. Number of oocytes retrieved per donor during OPU and its relationship with in vitro embryo production and field fertility following embryo transfer. *Animal Reproduction (AR)*, v.14, n.3, p.635-644. 2017.

WARD, F. et al. Paternal influence on the time of first embryonic cleavage post insemination and the implications for subsequent bovine embryo development in vitro and fertility in vivo. *Molecular Reproduction and Development: Incorporating Gamete Research*, v. 60, n. 1, p. 47-55, 2001.

WILTBANK, M. C., SOUZA, A. H., GIORDANO, J. O., NASCIMENTO, A. B., VASCONCELOS, J. M., PEREIRA, M. H. C., ... & SARTORI, R. Positive and negative effects of progesterone during timed AI protocols in lactating dairy cattle. *Animal Reproduction (AR)*, v.9, n.3, p.231-241. 2018.

YAN, L. et al. Efficacy of progesterone supplementation during early pregnancy in cows: A meta-analysis. *Theriogenology*, v. 85, n. 8, p. 1390-1398. e1, 2016.

CAPÍTULO 2

FATORES QUE INTERFEREM NA MANUTENÇÃO
DA GESTAÇÃO DE RECEPTORAS SUBMETIDAS
A TETF IN VITRO

Fatores que interferem na manutenção da gestação de receptoras submetidas a TETF *in vitro*

RESUMO

Os objetivos deste estudo foram avaliar fatores relacionados à categoria das doadoras de oócitos e efeito do touro na manutenção da gestação de receptoras *Bos indicus* x *Bos taurus*, submetidas a transferência de embrião em tempo fixo (TETF) de embriões Nelore produzidos *in vitro*. Foram utilizadas 463 doadoras Nelore e 6 touros Nelore para a produção *in vitro* de embriões. As doadoras foram divididas em 3 categorias: novilhas precoces (< 15 meses de idade; NP); novilhas regulares (entre 18 e 24 meses de idade; NR) e vacas múltiparas paridas (VM). Os embriões (n = 4366) foram transferidos a fresco em receptoras *Bos indicus* x *Bos taurus*, sincronizadas através do seguinte protocolo: D-17: inserção do dispositivo intravaginal de 0,5g de P4 (ReproOne, Globalgen) e 2mg de benzoato de estradiol (Bioestrogen, Biogenesis); D-9: remoção do dispositivo de P4 + 1 mg de cipionato de estradiol (Cronicip, Biogenesis) + 300UI de eCG (Ecegon, Biogenesis) + 150 µg de D-cloprostenol (Croniben, Biogenesis). Foi administrado 10,5 mcg de acetato de buserelina, análogo do hormônio GnRH (Gonaxal, Biogenesis) em todas as receptoras no dia da TETF (D0). Os diagnósticos para verificação da prenhez foram realizados através da ultrassonografia aos 25 ± 1,5 dias (DG1) e 83 ± 18,1 dias (DG2) após a TE. As receptoras prenhas ao DG2 foram acompanhadas até o parto, sendo que aquelas que não pariram, foi considerado perda gestacional. Não houve efeito da recuperação oocitária/doadora nos índices de manutenção da gestação ($P > 0,05$). Embriões provenientes de doadoras NP tiveram menor índice ao DG1 (39%, [808/2072]) e DG2 (22,7%; [470/2072]), comparado a doadoras NR (DG1 42,6%; [349/819] e DG2 27,4%; [224/819]) e VM (DG1 26,8%; [396/1475] e DG2 26,8%; [396/1475]). Embriões de doadoras NR apresentaram a maior taxa de parição (18,9%; [155/819]) comparado às NP (14,5%; [301/2072]) e VM (15,9%; [234/1475]). As receptoras em diferentes manejos nutricionais no momento da TE, tiveram concepção semelhante ao DG1 (a pasto 41,4%; [1317/3182] vs. confinadas 41%; [485/1184]), no entanto, receptoras mantidas a pasto

evidenciaram maior manutenção gestacional até o parto (a pasto 17,7% [564/3182] vs. confinadas 10,6% [126/1184]). Houve efeito do touro utilizado em todo o período gestacional avaliado: variações entre 39,3% a 47,6% ao DG1, 21,4% a 31,1% ao DG2 e 13,1% a 25% ao parto de acordo com o touro utilizado. Em resumo, os resultados demonstraram que a categoria da doadora utilizada pode impactar resultados de prenhez à TETF, sendo que doadoras NP exibiram menores taxas de concepção e parto; foram observadas maiores perdas gestacionais em receptoras submetidas a mudança de manejo após DG1 (do confinamento para pasto); e por fim, houve efeito do touro em todo o período gestacional avaliado, promovendo variações significativas na manutenção da gestação até o parto.

Palavras – chave: embrião, touro, perda gestacional, *Bos indicus*.

Factors that interfere in the maintenance of pregnancy in recipients submitted to *in vitro* FTET

ABSTRACT

The objectives of this study were to evaluate factors related to the category of oocyte donors and the effect of the bull on the maintenance of pregnancy in *Bos indicus* x *Bos taurus* recipients, submitted to fixed-time embryo transfer (**FTET**) of Nellore embryos produced *in vitro*. A total of 463 Nellore donors and 6 Nellore bulls were used for the *in vitro* embryo production. Donors were divided into 3 categories: precocious heifers (< 15 months of age; **NP**); heifers (18-24 months of age; **NR**) and multiparous cows (**VM**). The embryos (n = 4366) were transferred fresh into *Bos indicus* x *Bos taurus* recipients, synchronized using the following protocol: D-17: insertion of 0.5g-P4 intravaginal device (ReproOne, Globalgen) + 2mg of estradiol benzoate (Bioestrogen, Biogenesis); D-9: P4 device removal + 1 mg of estradiol cypionate (Cronicip, Biogenesis) + 300IU of eCG (Ecegon, Biogenesis) + 150 µg of D-cloprostenol (Croniben, Biogenesis). On the day of FTET (D0), all recipients received 10.5mcg of buserelin acetate (GnRH hormone analogue; Gonaxal, Biogenesis). Pregnancy diagnosis were performed through ultrasound at 25 ± 1.5 days (DG1) and 83 ± 18.1 days (DG2) after FTET. The recipients that were pregnant at DG2 were separated until parturition; and the ones that did not delivered a calf, were considered to have gestational loss. There was no effect of oocyte per donor recovery on pregnancy maintenance rates ($P > 0.05$). Embryos from PH-donors had a lower rate at DG1 (39%, [808/2072]) and DG2 (22.7%; [470/2072]), compared to H-donors (DG1 42.6%; [349 /819] and DG2 27.4%; [224/819]) and MC-donors (DG1 26.8%; [396/1475] and DG2 26.8%; [396/1475]). Embryos from H-donors had the highest calving rate (18.9%; [155/819]) compared to PH-donors (14.5%; [301/2072]) and MC-donors (15.9%; [234/ 1475]). Recipients in different nutritional managements at the time of FTET had similar conception rate at DG1 (41.4% on pasture; [1317/3182] vs. confined 41%; [485/1184]); however, recipients maintained on pasture showed evidence of greater gestational maintenance until calving (pasture 17.7% [564/3182] vs. confined 10.6% [126/1184]). There was a bull

effect throughout the evaluated gestational period: 39.3% to 47.6% at DG1; 21.4% to 31.1% at DG2; and 13.1% to 25% at parturition. In summary, the results showed that donors' category can impact pregnancy results at FTET, with PH-donors resulting in decreased conception and parturition rates. In addition, higher gestational losses were observed in recipients submitted to managements changes after FTET (from confinement to pasture). Moreover, a bull effect was detected throughout the evaluated gestational period, promoting significant variations in pregnancy maintenance until calving.

Keywords: embryo, sire, pregnancy loss, *Bos indicus*.

6. CONCLUSÃO

Os índices de manutenção da gestação de receptoras submetidas a TETF *in vitro* são afetados por características das doadoras, como a categoria da doadora aspirada para produção dos embriões, sendo que NP e VM promoveram piores índices de sobrevivência embrionária do que doadoras NR, provavelmente associado à competência oocitária e subsequente desenvolvimento embrionário.

A quantidade de oócitos recuperados não afetou a manutenção da gestação, enquanto a taxa de produção de embriões (embriões produzidos/oócitos coletados acima de 18%) demonstrou efeito positivo na manutenção da gestação até o parto.

Quanto às receptoras, melhores índices de manutenção da gestação foram encontrados para receptoras manejadas à pasto durante todo o período experimental, já que a mudança de manejo das receptoras pode ter promovido estresse maternal afetando diretamente a sobrevivência embrionária.

O touro utilizado na produção embrionária mostrou efeito durante todas as etapas do estudo, promovendo efeitos desde o primeiro diagnóstico até o parto, demonstrando variações individuais no efeito de perda gestacional e no período avaliado.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, T. G., MINGOTI, R. D., CASTRO, L. S., SIQUEIRA, A. F. P., HAMILTON, T. R., FONTES, P. K., ... & ASSUMPÇÃO, M. E. O. D. A. Paternal effect does not affect in vitro embryo morphokinetics but modulates molecular profile. *Theriogenology*, v. 178, p. 30-39, 2022.

AMARAL, T.F. et al. Actions of CSF2 and DKK1 on bovine embryo development and pregnancy outcomes are affected by composition of embryo culture medium. *Scientific reports*, v. 12, n. 1, p. 1-11, 2022.

ASSUMPCAO, M. E. O. et al. Bull individual effect is determinant to in vitro embryo production regardless of seminal profile. *Animal Reproduction*, v. 16, n. 3, p. 604, 2019

BARUSELLI, P. S. et al. Manipulation of follicle development to ensure optimal oocyte quality and conception rates in cattle. *Reproduction in Domestic Animals*, v. 47, p. 134-141, 2012.

BARUSELLI, P. S. et al. Factors that interfere with oocyte quality for in vitro production of cattle embryos: effects of different developmental & reproductive stages. *Animal Reproduction (AR)*, v. 13, n. 3, p. 264-272, 2018.

BARTON, S. C. et al. Development of gynogenetic and parthenogenetic inner cell mass and trophectoderm tissues in reconstituted blastocysts in the mouse. 1985.

BLASCHI W., ANDRADE E.R., NONATO JR. I., PONTES J.H.F., ERENO JR. J.C., UVO S.; SENEDA, M.M. Utilização prévia do Pluset na aspiração folicular: Impacto na produção in vitro de embriões em vacas *Bos indicus*. *Acta Scientiae Veterinariae*; v.32, p. 186. 2004.

BLONDIN, P. Status of embryo production in the world. *Animal Reproduction (AR)*, v. 12, n. 3, p. 356-358, 2018.

BRAUN, T., LI, S., MOSS, T. J., NEWNHAM, J. P., CHALLIS, J. R., GLUCKMAN, P. D., & SLOBODA, D. M. Maternal betamethasone administration reduces binucleate cell number and placental lactogen in sheep. *Journal of Endocrinology*, v.194, n.2, p.337-347. 2007.

CRUPPE, L.H. The effect of preovulatory concentration of estradiol and length of proestrus on fertility in beef cattle. Tese de Doutorado. Ohio State University. 2011.

COOKE, R. F. et al. Effects of temperament on pregnancy rates to fixed-timed AI in Bos indicus beef cows. *Livestock science*, v. 142, n. 1-3, p. 108-113, 2011.

DEMETRIO, D. G. B. et al. Factors affecting conception rates following artificial insemination or embryo transfer in lactating Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, v. 90, n. 11, p. 5073-5082, 2007.

DISKIN, M. G.; MORRIS, D. G. Embryonic and early foetal losses in cattle and other ruminants. *Reproduction in Domestic Animals*, v. 43, p. 260-267, 2008.

DOBSON, H. et al. Is stress really all that important?. *Theriogenology*, v. 55, n. 1, p. 65-73, 2001.

EALY, A. D., WOOLDRIDGE, L. K., & MCCOSKI, S. R. BOARD INVITED REVIEW: Post-transfer consequences of in vitro-produced embryos in cattle. *Journal of animal science*, v.97, n. 6, p.2555-2568. 2019.

FARIN, P. W., CROSIER, A. E., & FARIN, C. E. Influence of in vitro systems on embryo survival and fetal development in cattle. *Theriogenology*, V. 55, N. 1, P. 151-170. 2001.

FERNANDES, C. A. C., PALHAO, M. P., FIGUEIREDO, A. C. S., RIBEIRO, J. R., E SILVA, F. F., & VIANA, J. H. M. Weight gain potential affects pregnancy rates in bovine embryo recipients raised under pasture conditions. *Tropical animal health and production*, v.48, n.1, p.103-107. 2016.

FRANCO, G., REESE, S., POOLE, R., RHINEHART, J., THOMPSON, K., COOKE, R., & POHLER, K. Sire contribution to pregnancy loss in different periods of embryonic and fetal development of beef cows. *Theriogenology*, v. 154, p.84-91. 2020.

GRAZIA, J. G. V. Produção in vitro de embriões (PIVE) na bovinocultura de leite e de corte. 2019. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Minas Gerais.

HAFEZ, Elsayed Saad Eldin; HAFEZ, B. (Ed.). *Reproduction in farm animals*. John Wiley & Sons, 2013.

HANSEN, P. J. Embryonic mortality in cattle from the embryo's perspective. *Journal of Animal Science*, v. 80, n. E-suppl_2, p. E33-E44, 2002.

HOUGHTON PL, LEMENAGER RP, MOSS GE, HENDRIX KS. Prediction of postpartum beef cow body composition using weight to height ratio and visual body condition score. *J Anim Sci* 1990;68:1428–37.

LEMLEY, C. O., CAMACHO, L. E., & VONNAHME, K. A. Maternal recognition and physiology of pregnancy. *Bovine reproduction*, p.324-338. 2021

MALTAU, J. M., STOKKE, K. T., & MOE, N. Effects of betamethasone on plasma levels of estriol, cortisol and HCS in late pregnancy. *Acta Obstetricia et Gynecologica Scandinavica*, v.58, n.3, p.235-238. 1979.

MARKUSFELD-NIR, O. Epidemiology of bovine abortions in Israeli dairy herds. *Preventive Veterinary Medicine*, v. 31, n. 3-4, p. 245-255, 1997.

MERTON, J. S. et al. Factors affecting oocyte quality and quantity in commercial application of embryo technologies in the cattle breeding industry. *Theriogenology*, v. 59, n. 2, p. 651-674, 2003.

MONTEIRO, F. M., BATISTA, E. O. S., VIEIRA, L. M., BAYEUX, B. M., ACCORSI, M., CAMPANHOLI, S. P., ... & BARUSELLI, P. S. Beef donor cows

with high number of retrieved COC produce more in vitro embryos compared with cows with low number of COC after repeated ovum pick-up sessions. *Theriogenology*, v. 90, p.54-58. 2017.

MOROTTI, F., SANTOS, G. M. G., JÚNIOR, C. K., SILVA-SANTOS, K. C., ROSO, V. M., & SENEDA, M. M. Correlation between phenotype, genotype and antral follicle population in beef heifers. *Theriogenology*, v.91, 21-26, 2017.

ORTEGA, M. et al. Influences of sire conception rate on pregnancy establishment in dairy cattle. *Biology of reproduction*, v. 99, n. 6, p. 1244-1254, 2018.

POHLER, K. G., GEARY, T. W., ATKINS, J. A., PERRY, G. A., JINKS, E. M., & SMITH, M. F. Follicular determinants of pregnancy establishment and maintenance. *Cell and tissue research*, v. 349, n.3, p.649-664. 2012.

POHLER, K. G., PERES, R. F. G., GREEN, J. A., GRAFF, H., MARTINS, T., VASCONCELOS, J. L. M., & SMITH, M. F. Use of bovine pregnancy-associated glycoproteins to predict late embryonic mortality in postpartum Nelore beef cows. *Theriogenology*, v.85, n.9, p.1652-1659. 2016.

PONTES, J. H. F., STERZA, F. M., BASSO, A. C., FERREIRA, C. R., SANCHES, B. V., RUBIN, K. C. P., & SENEDA, M. M. Ovum pick up, in vitro embryo production, and pregnancy rates from a large-scale commercial program using Nelore cattle (*Bos indicus*) donors. *Theriogenology*, V. 75, n.9, p.1640-1646. 2011.

REESE, S. T., FRANCO, G. A., POOLE, R. K., HOOD, R., MONTERO, L. F., OLIVEIRA FILHO, R. V., ... & POHLER, K. G. Pregnancy loss in beef cattle: A meta-analysis. *Animal reproduction science*, v. 212, 2020.

SALES, J. N. S., PEREIRA, R. V. V., BICALHO, R. C., & BARUSELLI, P. S. Effect of injectable copper, selenium, zinc and manganese on the pregnancy rate of crossbred heifers (*Bos indicus* × *Bos taurus*) synchronized for timed embryo transfer. *Livestock Science*, v.142, n.1-3, p.59-62. 2011.

SANTOS, J. E. P., Thatcher, W. W., Chebel, R. C., Cerri, R. L. A., & Galvao, K. N. The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrus synchronization programs. *Animal reproduction science*, v. 82, p.513-535. 2004.

SANTOS, G. M. G., SILVA-SANTOS, K. C., BARREIROS, T. R. R., MOROTTI, F., SANCHES, B. V., DE MORAES, F. L. Z., ... & SENEDA, M. M. High numbers of antral follicles are positively associated with in vitro embryo production but not the conception rate for FTAI in Nelore cattle. *Animal reproduction science*, v.165, p.17-21. 2016.

SARTORI, R., PRATA, A. B., FIGUEIREDO, A. C. S., SANCHES, B. V., PONTES, G. C. S., VIANA, J. H. M., ... & BARUSELLI, P. S. Update and overview on assisted reproductive technologies (ARTs) in Brazil. *Animal Reproduction (AR)*, v.13, n.3, p.300-312. 2018.

SCHUBACH, K. M. et al. Impacts of stocking density on development and puberty attainment of replacement beef heifers. *Animal*, v. 11, n. 12, p. 2260-2267, 2017.

STRINGFELLOW, D. A.; SEIDEL, S. M. *Manual of the International Embryo Transfer Society*. 3. ed. Champaign, IL: International Embryo Transfer Society, 1998.

SUMMERS, R. N., PETERSON, C. A., LOCK, T. F., POLLACK, C., IRELAND, F. A., FAULKNER, D. B., & KESLER, D. J. The effect of exogenous progesterone administered intravaginally, via CIDR, on embryo survival in beef cattle. *Illini BeefNet, University of Illinois*. Published on <http://traill.outrreach.uiuc.edu/beefnet>. 2004.

VASCONCELOS, J. L. M., SARTORI, R., OLIVEIRA, H. N., GUENTHER, J. G., & WILTBANK, M. C. Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate. *Theriogenology*, v.56, n.2, p.307-314. 2001.

VIANA, J. H.; CAMARGO, L. S. A.; FERREIRA, A. M.; SÁ, W. F.; FERNANDES, C. A. C.; MARQUES JÚNIOR, A. P. 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, p. 1–12, 2004.

VIANA, J. H. 2020 Statistics of embryo production and transfer in domestic farm animals. *Embryo Technology Newsletter*, v. 39, n. 4, 2021.

IMPLICAÇÕES

O presente estudo trará contribuições para pesquisadores e pecuaristas na área de reprodução animal, já que demonstrou importantes resultados de perdas gestacionais em receptoras submetidas a TETF. Além disso, esse assunto pouco discutido traz grandes impactos econômicos no sistema de corte. Ter conhecimento dos números atribuídos a esse impacto, e levando em consideração fatores que influenciam as perdas, surgem oportunidades de ajustes operacionais que podem otimizar resultados de manutenção da gestação, e consequentemente, maior taxa de parição.