

ANA PAULA VIEIRA PINTO

**FATORES QUE INFLUENCIAM A TAXA DE CONCEPÇÃO DE
EMBRIÕES BOVINOS PRODUZIDOS *IN VITRO***

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação apresentado à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, SP, para a obtenção do grau de médico-veterinário

Preceptor: Prof. Titular Márcio Garcia Ribeiro

Botucatu

2023

ANA PAULA VIEIRA PINTO

**FATORES QUE INFLUENCIAM A TAXA DE CONCEPÇÃO DE
EMBRIÕES BOVINOS PRODUZIDOS *IN VITRO***

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação apresentado à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, SP, para a obtenção do grau de médico-veterinário

Área de Concentração: Reprodução Animal

Preceptor: Prof. Titular Márcio Garcia Ribeiro

Coordenador de Estágios: Prof. Dr.^a Luciane dos Reis Mesquita

Botucatu

2023

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: MARIA CAROLINA A. CRUZ E SANTOS-CRB 8/10188

Pinto, Ana Paula Vieira.

Fatores que influenciam a taxa de concepção de embriões bovinos produzidos *in vitro* / Ana Paula Vieira Pinto. - Botucatu, 2023

Trabalho de conclusão de curso (bacharelado - Medicina Veterinária) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Orientador: Márcio Garcia Ribeiro

Capes: 50504002

1. Bovinos - Reprodução. 2. Fertilização *in vitro*. 3. Técnicas *in vitro*. 4. Embriologia veterinária.

Palavras-chave: Biotécnicas da reprodução; Fertilização *in vitro*; PIVE; TE.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a Deus, que permitiu que este sonho se tornasse realidade, cursando na melhor universidade que eu poderia escolher e junto a pessoas maravilhosas.

Aos meus pais, Vanda e Marcelo, e ao meu irmão, Marcelo Filho, pelo apoio e suporte em todas as etapas de minha vida e durante a graduação, sem vocês nada disso seria possível ou teria sentido.

À minha família que sempre entendeu os momentos que precisei abdicar e estar longe, e sempre acreditou em meu potencial.

Aos meus cachorros e em especial ao Negresco, peça essencial durante a pandemia e depois dela, sendo meu suporte emocional e companheiro de viagens.

À minha segunda família, República Tarja Preta, por todo o apoio durante esses 5 anos. Com vocês esse período foi mais feliz, obrigada por cada momento e histórias compartilhadas.

Aos meus amigos, vocês tornaram esses anos mais leves e divertidos, foi incrível estar com vocês do primeiro ao último dia da graduação dividindo os momentos de dúvidas, decisões e alegrias. Vocês sabem o quanto são especiais e importantes.

Aos professores que pude conviver durante a graduação, vocês foram peças essenciais para o despertar do meu amor pela profissão. Obrigada a todos que participaram da minha formação profissional e pessoal, apoiando sonhos e projetos.

A todos que se fizeram presentes e tornaram possível a conquista e o decorrer desta jornada, meu muito obrigada.

PINTO, ANA PAULA VIEIRA. *Fatores que influenciam a taxa de concepção de embriões bovinos produzidos in vitro*. Botucatu. 2023. 20p. Trabalho de conclusão de curso de graduação (Medicina Veterinária, Área de Concentração: Reprodução Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

RESUMO

O Brasil possui um dos maiores rebanhos de bovinos do mundo e a preocupação com técnicas que facilitem o melhoramento genético são primordiais no país. A Produção *in Vitro* de Embriões (PIVE) consiste na seleção de fêmeas doadoras para aspiração de oócitos, que serão fertilizados e cultivados em meio de cultura para posterior transferência em receptoras devidamente sincronizadas. Trata-se de uma técnica laboriosa e onerosa, mas que possibilita o melhoramento genético dos rebanhos de forma mais rápida e eficiente. Muitos fatores podem influenciar a taxa de concepção, relacionados à fêmea doadora, à receptora ou ainda ao macho e o sêmen ou às técnicas e meios de cultivo do embrião. O estágio de desenvolvimento do embrião, a criopreservação a assincronia receptora e embrião, o corpo lúteo, a concentração de progesterona, a produção de leite, o estresse térmico, o estado nutricional das receptoras e os aspectos sanitários são fatores que podem afetar as taxas de concepção após a transferência de embriões produzidos *in vitro*. Neste contexto, a compreensão dos fatores que podem afetar o sucesso dos programas de TE e da PIVE faz-se de extrema importância para que se possa ter um aproveitamento satisfatório da técnica.

Palavras-chave: biotécnicas da reprodução, fertilização *in vitro*, PIVE, TE.

PINTO, ANA PAULA VIEIRA. *Factors influencing the conception rate of bovine in vitro produced embryo*. Botucatu. 2023. 20p. Trabalho de conclusão de curso de graduação (Medicina Veterinária, Área de Concentração: Reprodução Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

ABSTRACT

Brazil has one of the biggest cattle herds of the world, and concerning regard techniques that facilitate the genetical enhancement are essential in the country. The *in vitro* embryo production (IVEP) consists in a technique that selects donor cows for follicular aspiration. The oocytes are fertilized and cultivated for post transfer in the recipient cows properly synchronized. It is a laborious and costly technique, although enables the genetical enhancement of herds in a faster and effective way. Several factors can influence the conception rate related to the donor or recipient female, to the male or the semen, or to the techniques and culture environment of the embryo. The embryo development stage, the cryopreservation, the asynchrony between donor-recipient, the corpus luteum, the progesterone concentration, the milk production, the heat stress, the nutritional status of the recipients and sanitary aspects are factors that can affect the conception rate after *in vitro* produced embryo transfer in cattle. On this context, understanding the factors that influence the program's success of embryo transfer (ET) and IVEP is extremely important to a satisfactory use of the technique.

Keywords: reproduction biotechniques, *in vitro* fertilization, IVEP, ET.

SUMÁRIO

Agradecimentos	4
Resumo	5
Abstract	6
1. INTRODUÇÃO.....	8
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	8
2.1 FATORES QUE INFLUENCIAM A TAXA DE CONCEPÇÃO DE EMBRIÕES BOVINOS PRODUZIDOS <i>IN VITRO</i>	9
2.1.1 ESTÁGIO DE DESENVOLVIMENTO DO EMBRIÃO	9
2.1.2 CRIOPRESERVAÇÃO	10
2.1.3 ASSINCRONIA ENTRE RECEPTORA E EMBRIÃO	10
2.1.4 CORPOLÚTEO E CONCENTRAÇÃO DE PROGESTERONA.	11
2.1.5 DIAS EM LACTAÇÃO E PRODUÇÃO DE LEITE	12
2.1.6 ESTRESSE TÉRMICO	13
2.1.7 ESTADO NUTRICIONAL DAS RECEPTORAS	14
2.1.8 ASPECTOS SANITÁRIOS	14
3. CONCLUSÃO	15
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	16

1. Introdução

O Brasil possui um dos maiores rebanhos bovinos do mundo, estimado em 224,6 milhões de cabeças em 2021, segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2021). Com isso, a preocupação com maior e melhor produtividade tem sido colocada em foco de programas de melhoramento genético e se tornado essenciais para manter a posição de destaque do país na bovinocultura mundial.

A técnica de Produção *in Vitro* de embriões (PIVE) consiste na seleção de doadoras que serão submetidas a aspiração folicular guiada por ultrassom (OPU). Após a aspiração, os ovócitos passam pelo processo de maturação, fertilização e cultivo *in vitro*, para posterior transferência nas receptoras. Trata-se de uma técnica laboriosa e de alto custo, mas que possibilita aproveitamento genético mais rápido e eficiente (SOUZA & ABADE, 2018).

No Brasil, a PIVE tem crescido principalmente com o objetivo de melhoramento de matrizes, possibilitando a exploração do potencial zootécnico das fêmeas, uma vez que as doadoras de genética reconhecida podem ser aspiradas e produzir maior número de filhos em curto intervalo de tempo (VARAGO *et al.*, 2008). Entretanto, a técnica ainda apresenta dificuldades que impactam nos índices de concepção.

A morte embrionária nos primeiros dias de gestação é a principal responsável pela baixa eficiência reprodutiva em bovinos (SARTORI, 2004). A perda gestacional no primeiro trimestre após a TE corresponde a aproximadamente 10% (SCANAVEZ *et al.*, 2013). Assim, é essencial reconhecer os fatores que podem estar relacionados a baixa eficiência reprodutiva. Nesse contexto, o presente estudo revisou os principais aspectos que influenciam na taxa de concepção da PIVE.

2. Revisão de Literatura

2.1 Fatores que influenciam a taxa de concepção de embriões bovinos produzidos *in vitro*

Muitos fatores podem impactar a fertilidade e a taxa de sucesso da concepção da PIVE. Dentre estes, o estágio de desenvolvimento do embrião na transferência, a criopreservação, a assincronia receptora-embrião, o corpo lúteo, a concentração de progesterona, a produção de leite, o estresse térmico, o estado nutricional das receptoras e os aspectos sanitários são considerados os principais e serão discutidos a seguir. Ainda, outros fatores podem influenciar as taxas como o grupo genético, o número de aspirações das doadoras e a qualidade do sêmen (NOGUEIRA *et al.*, 2021; XAVIER *et al.*, 2023).

2.1.1 Estágio de desenvolvimento do embrião

Após a fecundação, tem início o processo de clivagem do zigoto, que passa por uma série de divisões mitóticas, formando a mórula que se desenvolverá e formará o blastocisto inicial, com a formação da massa celular interna e da blastocele e subsequente processo de diferenciação celular formando o blastocisto, blastocisto expandido e por fim o blastocisto eclodido, quando há rompimento da zona pelúcida (PRESTES & LANDIM-ALVARENGA, 2017).

O embrião pode ser transferido em qualquer etapa após a fecundação *in vitro*, entretanto estudos apontam maior concepção para embriões transferidos em estágios mais avançados de desenvolvimento (DAYAN, 2001). As taxas de concepção encontradas são melhores para embriões transferidos em fase de blastocisto expandido quando comparadas as fases de blastocisto inicial e blastocisto (DAYAN, 2001; GRÁZIA & SANTOS, 2021).

Por outro lado, Scanavez *et al.* (2013) não encontraram diferença na taxa de concepção de embriões implantados em diferentes estágios de desenvolvimento, mas em relação ao tempo de cultivo do embrião. A taxa de concepção foi maior para os embriões implantados em D7 do que em D8, também conhecidos como embriões tardios. Observaram, ainda maior perda gestacional

para os embriões tardios, que pode ser justificada pelo tempo de exposição e metabolização do meio de cultura pelo embrião.

2.1.2 Criopreservação

A criopreservação visa manter a viabilidade dos embriões sem perda significativa. Pode ser realizada pelo congelamento lento ou rápido, também conhecido como vitrificação. Para manter a viabilidade de embriões bovinos é utilizada grande quantidade de crioprotetores com o objetivo de reduzir a formação de cristais de gelo que causam danos às células, mas que podem se tornar tóxicos e limitar o desenvolvimento dos mesmos (DO *et al.*, 2016).

Quando realizada com embriões produzidos *in vivo* é um processo mais eficiente, uma vez que embriões produzidos *in vitro* possuem maior quantidade de lipídeos intracelulares que podem afetar a recuperação do embrião após o descongelamento (DO *et al.*, 2016). Estudos apontaram maior taxa de concepção para embriões transferidos a fresco quando comparados a embriões criopreservados (JONES & LAMB, 2008; SILVA, 2019).

A criopreservação por vitrificação tem mostrado melhores resultados quando comparada ao congelamento lento, entretanto devido a dificuldades de padronização do processamento, ainda não é amplamente adotada. Além disso, os meios para cultivo e criopreservação dos embriões devem ser adaptados, uma vez que é conhecida a diferença de composição do embriões produzidos *in vitro* daqueles produzidos *in vivo* (DO *et al.*, 2016).

2.1.3 Assincronia entre receptora e embrião

A sincronização de doadoras e receptoras é parte fundamental do processo de transferência de embriões, pois visa garantir a presença de CL funcional e útero preparado para a concepção do embrião a ser recebido (JONES & LAMB, 2008). Entretanto, o grau de sincronia ainda é um fator muito estudado e com resultados divergentes.

Pode-se considerar o grau de sincronia zero quando a receptora e doadora apresentaram ovulação no mesmo dia, assincronia negativa e positiva, quando a receptora ovula um dia depois e um dia antes da doadora, respectivamente. Andrade *et al.* (2012) descreveram a sincronia zero das receptoras em relação a doadoras com melhores taxas de concepção. Em contraste, Mello *et al.* (2016) não encontraram diferenças para assincronia de mais um ou menos um dia.

Dayan (2001) obteve taxas de prenhez inferiores para receptoras com sincronia negativa em relação a doadora, mas não encontrou diferenças em receptoras com sincronia zero ou mais um ou dois dias. O mesmo estudo refutou ainda a ideia de que a implantação de embriões em D8 ou D9 poderiam afetar o reconhecimento materno, apontando as condições uterinas após D6 como mais favoráveis a implantação do embrião.

2.1.4 Corpo Lúteo e concentração de progesterona

O corpo lúteo (CL) é a estrutura responsável pela produção de progesterona (P4), o que demonstra a importância da análise de suas características no momento da transferência de embrião, uma vez que a qualidade interfere significativamente na concepção (ANDRADE *et al.*, 2012; SCANAVEZ *et al.* 2013). A taxa de concepção pode ser diretamente relacionada a concentração sérica de progesterona nos primeiros dias de gestação, ocorrendo maior taxa de prenhez e menor taxa de perda gestacional em vacas com concentração de P4 mais elevada (CHOI *et al.*, 2023).

A produção de P4 não é diretamente relacionada ao tamanho do CL no momento da ovulação. No entanto, Choi *et al.* (2023) associaram maiores índices de prenhez em receptoras com CL > 2,0 cm de diâmetro. Estudos revelaram uma maior taxa de prenhez em receptoras que apresentam boa perfusão no momento da transferência (PINAFFI *et al.*, 2015; KANAZAWA *et al.*, 2016). Embora o lado do CL não exerça influência sobre a taxa gestacional, é importante que a transferência seja realizada no lado ipsilateral à ovulação, onde a

concentração tecidual de P4 é maior devido ao aporte hormonal e vascularização do corno e tuba uterinos (PIERONI, 2009).

Além disso, a recuperação de ovócitos de ovários com presença de CL no momento da aspiração das doadoras, tem mostrado a produção de maior número de embriões e melhor desenvolvimento destes após o cultivo (BARBOSA *et al.*, 2013). Tal fato se justifica pelo número de folículos de ondas diferentes de emergência, que ainda não estão com processo de atresia acentuado, como ocorre na fase folicular.

2.1.5 Dias em lactação e produção de leite

Com o avanço da pecuária leiteira tem-se observado efeito negativo na fertilidade de vacas de alta produção. Embora o tamanho do CL seja maior nestes animais, a concentração de progesterona e de estrógenos na circulação é menor, fato que pode estar relacionado ao metabolismo destes animais. A maior necessidade energética leva ao aumento significativo do consumo de alimentos e, como consequência, aumento no fluxo sanguíneo hepático, acelerando também o metabolismo de hormônios como o estrógeno e a progesterona e podendo afetar dessa forma as taxas de TE (WILTBANK *et al.*, 2006).

Menores taxas de prenhez e maiores taxas de perda embrionária podem ser notadas em receptoras cuja média de produção de leite diária é superior. Além disso, há influência da produção na temperatura retal das receptoras no dia da transferência de embrião, provavelmente devido ao estresse térmico a que animais de alta produção são submetidos, podendo influenciar seu potencial reprodutivo (VASCONCELOS *et al.*, 2006).

A lactação gera maior requerimento energético e metabólico pelos animais, que é mais evidente no período de pico lactacional e pode justificar menor eficiência reprodutiva durante esse período (TIEZZI *et al.*, 2012). Estudos têm revelado melhor concepção em novilhas e vacas secas quando comparadas a vacas lactantes (BRAUNER *et al.*, 2008; LOBATO *et al.*, 2019). Em relação aos dias

em lactação, Vasconcelos *et al.* (2006) descreveram melhor taxa de concepção em receptoras com mais dias em lactação, enquanto Pieroni (2009) não encontrou diferenças nas taxas de concepção de receptoras com mais ou menos de 300 dias em lactação.

2.1.6 Estresse térmico

O controle da temperatura corporal de bovinos quando submetidos a situações de estresse térmico compreende uma série de mecanismos, incluindo o declínio na ingestão da matéria seca, aumento das frequências cardíaca e respiratória e da sudorese além de alterações da hemodinâmica e aumento da circulação periférica, com o objetivo de perder calor (HANSEN, 2004). Devido as alterações hemodinâmicas visando manter a homeostase, o fluxo sanguíneo uterino é reduzido, o que afeta o funcionamento normal do órgão e pode produzir efeitos negativos nas taxas reprodutivas (GRUNERT *et al.*, 2005).

Os efeitos do estresse térmico por calor podem ser maiores em taurinos do que em zebuínos devido a sua origem, adaptação e fisiologia, gerando prejuízo energético e efeitos sobre o desempenho devido a mecanismos fisiológicos para manutenção de homeostase que podem comprometer a reprodução (PEREIRA *et al.*, 2017). Vasconcelos *et al.* (2006) encontraram taxas de concepção menores e maior perda embrionária em receptoras com temperatura retal mais elevada.

Entre as consequências do estresse por calor, pode-se citar a diminuição na secreção de LH, que pode resultar em CL de baixa funcionalidade e, conseqüentemente, gerar concentrações inferiores de progesterona (WOLFESON & ROTH, 2019). De Rensis *et al.* (2021) mencionaram ainda efeito negativo do estresse térmico sobre a fertilidade de bezerras que vierem a nascer, uma vez que o desenvolvimento dos oócitos das fêmeas tem início durante a vida fetal.

Estudos têm observado efeito deletério na qualidade dos oócitos recuperados de vacas *Bos taurus* nas estações mais quentes do ano, com recuperação de menor número de embriões e embriões de menor capacidade de

desenvolvimento (ZERON *et al.*, 2001; AL-KATANANI *et al.*, 2002). Temperaturas mais elevadas levam a produção de embriões de *Bos taurus* com ácidos graxos predominantemente saturados, bem como alteram a síntese de proteínas pelos embriões, prejudicando o desenvolvimento até o estágio de blastocisto (EDWARDS & HANSEN, 1996; ZERON *et al.*, 2001).

2.1.7 Estado nutricional das receptoras

A redução da ingestão de alimentos ou a oferta insuficiente de nutrientes essenciais e energia, bem como a perda de escore corporal podem afetar a atividade reprodutiva de receptoras e impactar negativamente a performance dos animais (JONES & LAMB, 2008). Em situações de baixa oferta de alimentos ou alimentos de baixa qualidade, as receptoras têm menor reserva de energia, que afeta a atividade estral e o estabelecimento prenhez, priorizando outras funções do organismo como o metabolismo basal, crescimento e lactação (SHORT & ADAMS, 1987).

O escore corporal ao parto impacta diretamente na taxa de sucesso da TE, embora o impacto possa ser reduzido a partir da correção nutricional das vacas, dificilmente o efeito negativo é eliminado, podendo resultar em menores taxas de prenhez (JONES & LAMB, 2008). Ferreira (1993) demonstrou que a perda de peso no pós-parto é normal e nem sempre causa atraso no retorno a ciclicidade, mas quando animais de boa condição corporal perdem de 20-35% de seu peso adulto podem apresentar menor produção hormonal e anestro.

Vacas submetidas a dietas deficientes em nutrientes e vitaminas têm bloqueio da atividade ovariana luteal cíclica, resultando em efeitos negativos sobre o corpo lúteo e anestro (FERREIRA, 1993). Dessa forma, baixo escore corporal (ECC) ao parto acarreta atraso do retorno do ciclo ovariano, gerando diminuição da fertilidade e maior tempo de serviço. Por outro lado, elevado ECC ao parto aumenta os riscos de doenças metabólicas que também impactam diretamente na fertilidade (NAZHAT *et al.*, 2021).

2.1.8 Aspectos sanitários

Alguns pontos são importantes ao analisar os aspectos sanitários da TE, pois doenças podem ser transmitidas a partir da vaca doadora, da vaca receptora, do sêmen ou até mesmo da manipulação em laboratório. Dessa forma, é importante garantir que os animais estejam bem clinicamente e livres de doenças infectocontagiosas. Cuidados com a higiene e manipulação dos embriões são importantes para garantir a biossegurança, bem como a esterilidade dos meios utilizados para cultivo dos oócitos e embriões (PARRA *et al.*, 2008).

As perdas embrionárias e falhas reprodutivas de causa infecciosa podem ser geradas direta ou indiretamente por patógenos. De forma indireta, a falha reprodutiva pode ocorrer após infecções sistêmicas que causem hipertermia, gerando perda embrionária. As falhas reprodutivas diretas são aquelas causadas por infecções virais, bacterianas, por protozoários ou ainda por toxinas e fungos, diretamente no trato reprodutivo. Entre as principais enfermidades que alteram a taxa de concepção e a fertilidade dos rebanhos estão a Rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR), a diarreia Viral Bovina (BVD), a Brucelose, a Tricomonose, a Campilobacteriose e a Leptospirose (JUNQUEIRA & ALFIERI, 2006).

3. Conclusão

A preocupação com a produtividade e melhoramento genético em rebanhos no Brasil tem incrementado investimentos em biotécnicas como a Transferência de Embriões e a Produção *in Vitro* de embriões. O uso dessas biotécnicas possibilita o melhoramento de matrizes e a exploração do potencial zootécnico de forma mais rápida e eficaz. Entretanto, muitos fatores podem afetar as taxas de concepção destes programas, incluindo o estágio de desenvolvimento do embrião na transferência, a criopreservação, a assincronia receptora-embrião, o corpo lúteo, a concentração de progesterona, a produção de leite, o estresse térmico, o estado nutricional das receptoras e os aspectos sanitários. Dessa forma, é essencial compreender os fatores que podem afetar o sucesso das biotécnicas de

reprodução, visando garantir melhores taxas de concepção a partir da transferência de embriões produzidos *in vitro*.

4. Referências Bibliográficas

AL-KATANANI, Y. M.; PAULA-LOPES, F. F.; HANSEN, P. J. Effect of season and exposure to heat stress on oocyte competence in Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v.85, p.390-396, 2002.

ANDRADE, G. A.; FERNANDES, M. A.; KNYNCHALA, R. M.; PEREIRA JUNIOR, M. V.; OLIVEIRA, A. J.; NUNES, D. P.; BONATO, G. L.; SANTOS, R. M. Fatores que afetam a taxa de prenhez de receptoras de embriões bovinos produzidos *in vitro*. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.36, n.1, p.66-69, jan./mar. 2012. Disponível em: <www.cbra.org.br>. Acesso em: 22/03/2023.

BARBOSA, C. P.; TONIOLLO, G. H.; GUIMARÃES, E. C.; Produção *in vitro* de embriões de bovinos da raça nelore oriundos de ovócitos de ovários com e sem corpo lúteo. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v.14, n.1, p. 81-90, 2013.

BRAUNER, C. C.; PIMENTEL, M. A.; LEMES, J. S.; PIMENTEL, C. A.; MORAES, J. C. F. Reprodução de vacas de corte em lactação e solteiras submetidas à indução/sincronização de estro. **Ciência Rural**, v.38, n.4, 2008.

CHOI, W.; RO, Y.; CHOE, E.; HONG, L.; LEE, W.; KIM, D. Evaluation of Corpus Luteum and Plasma Progesterone the Day before Embryo Transfer as an Index for Recipient Selection in Dairy Cows. **Veterinary Sciences**, v. 10, n.4, p. 1-10, 2023.

DAYAN, A. **Fatores que interferem na produção de embriões bovinos mediante aspiração folicular e fecundação *in vitro***. 2001. 56p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2001.

DE RENSIS, F.; SALERI, R.; GARCIA-SPIERTO, I.; SCARAMUZZI, R.; LÓPEZ-GATIUS, F. Effects of Heat Stress on Follicular Physiology in Dairy Cows. **Animals**, v. 11, n. 12, 2021.

DO, V. H.; WALTON, S.; CATT, S.; TAYLOR-ROBINSON, A. W. Requirements for cryopreservation of *in vitro*-produced bovine embryos by a standard method of vitrification. **Journal of Veterinary Science and Animal Husbandry**, v. 4, n. 1, p. 1-10, 2016.

EDWARDS, J. L.; HANSEN, P. J. Elevated temperature increases heat shock protein 70 synthesis in bovine two-cell embryos and compromises function of maturing oocytes. **Biology Reproduction**, v. 55, n.2, 1996.

FERREIRA, A. M. Nutrição e atividade ovariana em bovinos: uma revisão. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 9, p. 1077-1093, 1993.

GRÁZIA, J. G. V.; SANTOS, G. M. Avaliação do estágio de desenvolvimento embrionário na taxa de prenhez em receptoras de embriões bovinos produzidos *in vitro*. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, Curitiba, v.4, n.3, p.4776-4782, jul./set. 2021.

GRUNERT, E.; BIRGEL, E. H.; VALE, W. G; BIRGEL JR, E. H. **Patologia e clínica da reprodução dos animais mamíferos domésticos**. São Paulo: Varela, 2005. 551 p.

HANSEN, P. J. Physiological and cellular adaptations of zebu cattle to thermal stress. **Animal Reproduction Science**, v. 82-83, p. 349-360, 2004.

IBGE. Produção da Pecuária Municipal, 2021. Disponível em: <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pesquisa/18/0>>. Acesso em 12/03/2023.

JONES, A.L.; LAMB, C.G. Nutrition, synchronization, and management of beef embryo transfer recipients. **Theriogenology**, v.69, n. 1, p.107-115, 2008.

JUNQUEIRA, J. R. C.; ALFIERI, A. A. Falhas da reprodução na pecuária bovina de corte com ênfase para causas infecciosas. **Semina: Ciências Agrárias**, vol. 27, núm. 2, p. 289-298, abril-junho, 2006. Disponível em: <<http://www.redalyc.org>>. Acesso em: 08/07/2023.

KANAZAWA, T.; SEKI, M.; ISHIYAMA, K.; KUBO, T.; KANEDA, Y.; SAKAGUCHI, M.; IZAIKE, Y.; TAKAHASHI, T. Pregnancy prediction on the day of embryo transfer (Day 7) and Day 14 by measuring blood flow in dairy cows. **Theriogenology**, v.88, n.6, p.1436-1444, 2016.

LOBATO, M. D.; MARQUES, F. L. A.; SOARES, M. M.; FARIA, A. C. F.; CADIMA, G. P.; SANTOS, R. M. Fatores que influenciam a taxa de concepção e perda gestacional de embriões produzidos *in vitro* na raça girolando. **Ciência Animal**, v.29, n.3, p.50-58, 2019.

MELLO, R.R.C.; MORAIS, M.E.O.; FERREIRA, J.E.; MELLO, M.R.B. Taxa de prenhez em receptoras bovinas com diferentes graus de assincronia embrião-útero. **Brasil de Indústria Animal**, Nova Odessa, v.73, n.1, p.88-93, 2016; Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.17523/bia.v73n1p88>>. Acesso em: 20/05/2023.

NAZHAT, S.; AZIS, A.; ZABULI, J.; RAHMATI, S. Importance of Body Condition Scoring in Reproductive Performance of Dairy Cows: A Review. **Open Journal of Veterinary Medicine**, v. 11, n. 7, p. 272-288, 2021.

NOGUEIRA, B. G. R.; DE SOUZA, L. F. A.; PUELKER, R. Z.; GIOMETTI, I. C.; FIRETTI, S. M. G.; DIAS, T. S. S. B.; CASTILHO, C. Factors affecting the *in vitro* production of bovine embryos in a commercial program. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 2, 2021. Disponível em:

<<https://doi.org/10.33448/rsd-v10i2.12264>>. Acesso em 21/04/2023.

PARRA, B. C.; PARRA, B. S.; ZANGIROLAMI FILHO, D.; BUENO, A. P. Aspecto sanitário na transferência de embriões em bovinos. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 6, n. 10, 2008. Disponível em: <http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/mruLvTF8UDoB MpZ_2013-5-29-10-56-31.pdf>. Acesso em 26/07/2023.

PEREIRA, A. **Variações climáticas ao longo do ano e resultados da PIVE em doadoras de diferentes grupos genéticos**. 2012. 59P. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade José do Rosário Vellano, Alfenas

PEREIRA, J. R.; MONTAGNER, M. M.; FLUCK, A. C.; SANTIAGO, A. P.; NERES, M. A. Efeitos do clima sobre a adaptação e fisiologia de bovinos de corte *Bos taurus* x *Bos indicus*. **Revista eletrônica de Veterinária**, v. 18, n. 11, 2017. Disponível em: <<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n111117.htm>>. Acesso em 07/05/2023.

PIERONI, J. S. P. **Influência do local de inovulação de embriões produzidos**

in vivo e in vitro sobre as taxas de concepção de fêmeas bovinas e sua relação com a morfologia uterina. 2009. 121p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu.

PINAFFI, F. L. V.; SANTOS, E. S.; SILVA, M. G.; FILHO, M. M.; MADUREIRA, E. H.; SILVA, L. A.; Tamanho e vascularização do folículo e corpo lúteo como preditores de fertilidade após inseminação artificial e transferência de embriões em gado de corte. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.35, n.5, p.470-476, 2015.

PRESTES, N. C. e LANDIM-ALVARENGA, F. C. **Obstetrícia veterinária.** 2. ed. Guanabara Koogan LTDA, 2017. 236p.

SARTORI, R. Fertilização e morte embrionária em bovinos. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 32, p. 35-50, 2004.

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.

SHORT, R.E.; ADAMS, D.C. Nutritional and hormonal interrelationships in beef cattle reproduction. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 68, n. 1, p. 29-39. Disponível em: <cdnsciencepub.com>. Acesso em 20/05/23.

SILVA, N. A. **Influência da estação do ano, do desenvolvimento embrionário e raça do embrião na taxa de concepção de embriões produzidos in vitro em vacas leiteiras de alta produção.** 2019. 47p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Vila Velha, Vila Velha.

SOUZA, N. S.; ABADE, C. C. Produção *in vitro* de embriões bovinos: etapas de produção e histórico no Brasil. **Ciência Veterinária UniFil**, v. 1, n. 3, p. 95-108, 2019. Disponível em: <<http://periodicos.unifil.br/index.php/revista-vet/article/view/988>>. Acesso em: 15/04/23.

TIEZZI, F.; MALTECCA C.; CECCHINATO, A.; PE NASA, M.; BITTANTE, G. Genetic parameters for fertility of dairy heifers and cows at different parities and

relationships with production traits in first lactation. **Journal of Dairy Science**, v.95, p. 7355-7362, 2012.

VARAGO, F. C.; MENDONÇA, L. F.; LAGARES, M. A. Produção *in vitro* de embriões bovinos: estado da arte e perspectiva de uma técnica em constante evolução. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.32, p.100-109, 2008.

VASCONCELOS, J.L.M.; DEMÉTRIO, D. G. B.; SANTOS, R. M.; CHIARI, J. R.; RODRIGUES, C. A.; FILHO, O. G. S. Factors potentially affecting fertility of lactating dairy cow recipients. **Theriogenology**, v. 65, n. 1, p. 192-200, 2006.

WILTBANK, M.; LOPEZ, H., SARTORI, R.; SANGSRITAVONG, S.; GUMEN, A. Changes in reproductive physiology of lactating dairy cows due to elevated steroid metabolism. **Theriogenology**, v. 65, n. 1, p. 17-29, 2006.

WOLFESON, D.; ROTH, Z. Impact of heat stress on cow reproduction and fertility. **Animal Frontiers**, v. 9, n. 1, p. 32–38, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1093/af/vfy027>>. Acesso em 29/06/23.

XAVIER, M. C.; PEIXER, M. A. S.; VIANA, J. H. M.; DE ANDRADE, R. V. Impacto da qualidade seminal e dos fatores relativos ao macho na produção *in vitro* de embriões bovinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.47, n.3, p.574-578, jul./set. 2023. Disponível em: <<http://cbra.org.br/portal/downloads/publicacoes>>. Acesso em 08/07/2023.

ZERON, Y.; OCHERETNY, A.; SKLAN, D.; ARAV, A. Seasonal changes in bovine fertility: relation to developmental competence of oocytes, membrane properties and fatty acid composition of follicles. **Reproduction**, v. 121, n. 1, p. 447-454, 2001. Disponível em: <<https://rep.bioscientifica.com/view/journals/rep/121/3/447.xml>>. Acesso em 23/03/2023.