



UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL

CAMPUS REALEZA

CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

CAMILA KETERINE GORZELANSKI TRENKEL

**GESTAÇÃO DE EMBRIÕES BOVINOS PRODUZIDOS *IN VITRO*
ORIUNDOS DE RAÇAS DE CORTE E LEITE**

REALEZA

2022

CAMILA KETERINE GORZELANSKI TRENKEL

**GESTAÇÃO DE EMBRIÕES BOVINOS PRODUZIDOS *IN VITRO*
ORIUNDOS DE RAÇAS DE CORTE E LEITE**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), como requisito para obtenção do título de Bacharel em Medicina Veterinária.

Orientador: Profa. Dra. Adalgiza Pinto Neto

APROVADO EM 31/03/2022.

REALEZA

2022

Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS

, Camila Keterine Gorzelanski Trenkel
TAXA DE GESTAÇÃO DE EMBRIÕES BOVINOS PRODUZIDOS IN
VITRO ORIUNDOS DE RAÇAS DE CORTE E LEITE / Camila
Keterine Gorzelanski Trenkel . -- 2022.
24 f.

Orientadora: Doutora Adalgiza Pinto Neto

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) -
Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de
Bacharelado em Medicina Veterinária, Realeza, PR, 2022.

1. Produção in vitro de embriões bovinos;
Transferência de embriões; Melhoramento genético. I. ,
Adalgiza Pinto Neto, orient. II. Universidade Federal da
Fronteira Sul. III. Título.

RESUMO

A produção *in vitro* de embriões bovinos porta-se como uma relevante biotécnica aplicada à reprodução assistida, apresentando-se como uma ferramenta eficaz na potencialização da eficiência reprodutiva e na geração de animais geneticamente superiores. Essa biotécnica viabiliza o aproveitamento de fêmeas com alterações reprodutivas que impeçam sua reprodução, de animais senis e pré-púberes. No entanto, a variabilidade no sucesso das transferências de embriões *in vitro* é um dos grandes impasses para a sua expansão, uma vez que, para que se obtenha taxas de gestação satisfatórias, alguns fatores necessitam de observação, considerando suas influências no resultado da técnica. Para tanto, objetivou-se avaliar a influência do horário da transferência de embriões, do estágio de desenvolvimento e da qualidade dos embriões transferidos, do processamento dos embriões, do ovário ipsilateral ao corpo lúteo e do tamanho do corpo lúteo, sobre a taxa de gestação de receptoras que receberam embriões bovinos produzidos *in vitro* oriundos de raças de corte e leite. Para tanto, utilizou-se dados retrospectivos de 419 transferências de embriões bovinos produzidos *in vitro*, sendo 245 oriundas de embriões de raças de corte e 174 de raças de leite. Os dados foram cedidos por uma empresa particular especializada em Reprodução Animal. O estudo contemplou dados de fevereiro a novembro de 2021, de animais oriundos de três propriedades de criação de gado de corte e 13 propriedades com bovinos de leite. A taxa de gestação foi calculada considerando-se os efeitos do horário de realização da transferência dos embriões a receptoras, da fase de desenvolvimento embrionário, da qualidade e processamento do embrião, ovário ipsilateral ao corpo lúteo e do tamanho do corpo lúteo. O tamanho do corpo lúteo também foi avaliado conforme sua ocorrência no ovário esquerdo ou direito. As porcentagens médias foram comparadas pelo Teste de Dispersão de Frequência (Qui-quadrado), mediante pacote estatístico SAS versão 9.2, considerando 5% de significância ($p < 0,05$). As 419 transferências de embriões produzidos *in vitro* resultaram em 29,04% de gestação. Não se observou influência do horário da transferência de embriões às receptoras, do estágio de desenvolvimento dos embriões, do ovário ipsilateral ao corpo lúteo e do tamanho do corpo lúteo sobre taxa de gestação de receptoras após transferência de embriões produção *in vitro* oriundos de raças de corte e leite ($p > 0,05$). Contudo, a qualidade e o processamento dos embriões produzidos *in vitro* exerceram efeitos sobre a taxa de gestação, após transferência de embriões de raças de corte e leite ($p < 0,05$).

Palavras-chave: biotecnologia; reprodução assistida; PIV.

ABSTRACT

The in vitro production of bovine embryos is a relevant biotechnology applied to assisted reproduction, presenting itself as an effective tool in the enhancement of reproductive efficiency and in the generation of genetically superior animals. This biotechnique enables the use of females with reproductive alterations that prevent their reproduction, of senile and prepubescent animals. However, the variability in the success of in vitro embryo transfers is one of the major impediments for its expansion, since, in order to obtain satisfactory pregnancy rates through in vitro production, some factors need to be observed, considering their influence on the result of the technique. Therefore, the objective of this study was to evaluate the influence of factors such as the time of embryo transfer, the stage of development and quality of transferred embryos, embryo processing, the ovary ipsilateral to the corpus luteum and the size of the corpus luteum, on the pregnancy rate of recipients who received in vitro-produced bovine embryos from beef and dairy breeds. The study was carried out with retrospective data from 419 transfers of in vitro produced bovine embryos, 245 from beef breeds and 174 from dairy breeds. The data were provided by a private company specialized in Animal Reproduction. The study included data obtained from February to November 2021, from three beef cattle raising properties and 13 properties with activity focused on dairy cattle. The pregnancy rate was calculated considering the effects of time of embryo transfer, stage of embryonic development, embryo quality and processing, ovary ipsilateral to the corpus luteum, and corpus luteum size. The size of the corpus luteum was also evaluated according to its occurrence in the left or right ovary. The size of the corpus luteum was also evaluated according to its occurrence in the left or right ovary. Mean percentages were compared using the Frequency Scatter Test (Chi-square), using the SAS statistical package version 9.2, considering 5% significance ($p < 0.05$). The 419 transfers of embryos produced in vitro performed, resulted in 29.04% of pregnancy. Considering that, there were no influences of the time of embryo transfer to recipients, stage of embryo development, ovary ipsilateral to the corpus luteum and size of the corpus luteum on the pregnancy rate of recipients after embryo transfer of in vitro production embryos from beef and dairy breeds. However, the quality and processing of in vitro production embryos exerted effects on the pregnancy rate after embryo transfer of beef and dairy breed embryos.

Keywords: biotechnology; assisted reproduction; PIV.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	7
2 MATERIAIS E MÉTODOS	7
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	11
4 CONCLUSÃO.....	20
REFERÊNCIAS	21

1 INTRODUÇÃO

A produtividade dos rebanhos bovinos vem crescendo consideravelmente, decorrente de processos de melhoramento e seleção genética, a fim de maximizar características produtivas, através da implantação e aperfeiçoamento de biotecnologias da reprodução animal (MELLO *et al.*, 2016). Desse modo, a crescente aplicação de biotécnicas como a inseminação artificial em tempo fixo (IATF), transferência de embriões (TE) e produção *in vitro* (PIV) de embriões, é capaz de otimizar o potencial reprodutivo de fêmeas bovinas, bem como melhorar os indicadores de produtividade e lucratividade no setor da criação de bovinos de corte e leite (SCANAVEZ; CAMPOS; SANTOS, 2013).

A produção *in vitro* de embriões bovinos porta-se como uma relevante biotécnica aplicada à reprodução assistida, apresentando-se como uma ferramenta eficaz na potencialização da eficiência reprodutiva e na geração de animais geneticamente superiores, contribuindo para o crescimento da produtividade da pecuária brasileira (LEAL *et al.*, 2020).

A PIV de embriões consiste na interação entre o espermatozoide e o oócito fora do trato reprodutivo da fêmea, sob condições laboratoriais, resultando na formação de um novo indivíduo. Possui por objetivo gerar embriões viáveis oriundos de fêmeas saudáveis de alto valor genético, ou ainda a obtenção de descendentes de fêmeas não aptas a se reproduzirem por técnicas convencionais (SOUZA; ABADE, 2018; EALY; WOOLDRIDGE; MCCOSKI, 2019; GRÁZIA; SANTOS, 2021). Esse processo envolve a coleta de oócitos, mediante técnica de aspiração folicular guiada por ultrassom (OPU), além da maturação *in vitro* (MIV), fecundação *in vitro* (FIV) e o cultivo *in vitro* (CIV) de zigotos e embriões fora do útero da fêmea, até o estágio de blastocisto, no qual os embriões podem ser criopreservados e/ou transferidos para o útero de fêmeas receptoras sincronizadas (SOUZA-FABJAN *et al.*, 2014; MELLO *et al.*, 2016).

A PIV de embriões tem como principal vantagem promover o aumento significativo no número de crias concebidas por fêmea. Silva *et al.* (2015) relataram que, cada doadora é capaz de produzir cerca de 50 gestações por ano, uma vez que, fisiologicamente, só seria possível a obtenção de um bezerro ao ano. Ademais, essa biotécnica viabiliza o aproveitamento de fêmeas com alterações reprodutivas que impeçam sua reprodução, de animais senis e pré-púberes, sendo uma alternativa para otimizar a padronização dos rebanhos, com animais geneticamente superiores, além de impedir o descarte precoce de fêmeas de alto mérito genético (SCANAVEZ; CAMPOS; SANTOS, 2013; SILVA *et al.*, 2015; BARUSELLI *et al.*, 2019).

No entanto, a variabilidade no sucesso das transferências de embriões *in vitro* é um dos grandes impasses para a sua expansão, uma vez que, para que se obtenha taxas de gestação

satisfatórias por meio da PIV, alguns fatores necessitam serem observados, considerando suas influências no resultado da técnica (JELONSCHEK *et al.*, 2018). Entre eles destacam-se a qualidade do corpo lúteo, a sincronia das doadoras e receptoras, raça da doadora, a qualidade do embrião, o efeito do reprodutor, a qualidade e viabilidade do sêmen, o estresse térmico, o período do ano e o número de transferências de embriões prévias a receptora, bem como a condição corporal e nutricional das mesmas (ANDRADE *et al.*, 2012; MELLO *et al.*, 2016; BECHER *et al.*, 2018).

A taxa de gestação das receptoras porta-se como um ponto decisivo para a ascensão da PIV e da transferência de embriões, uma vez que, estudos discorreram sobre seus resultados que variam em torno de 55% após transferência de embriões morfológicamente viáveis (RIBEIRO FILHO *et al.*, 2011). Dessa forma, evidencia-se uma perda de aproximadamente metade dos embriões coletados, o que torna a técnica relativamente onerosa para os produtores, interferindo negativamente a implantação da mesma nos sistemas de criação de bovinos (FERNANDES 1999; RIBEIRO FILHO *et al.*, 2011). Portanto, são inúmeros os fatores que comprometem a taxa de gestação das receptoras, sendo eles intrínsecos ao embrião, ao ambiente uterino, como também aspectos relacionados ao processo de inovulação (BECHER *et al.*, 2018).

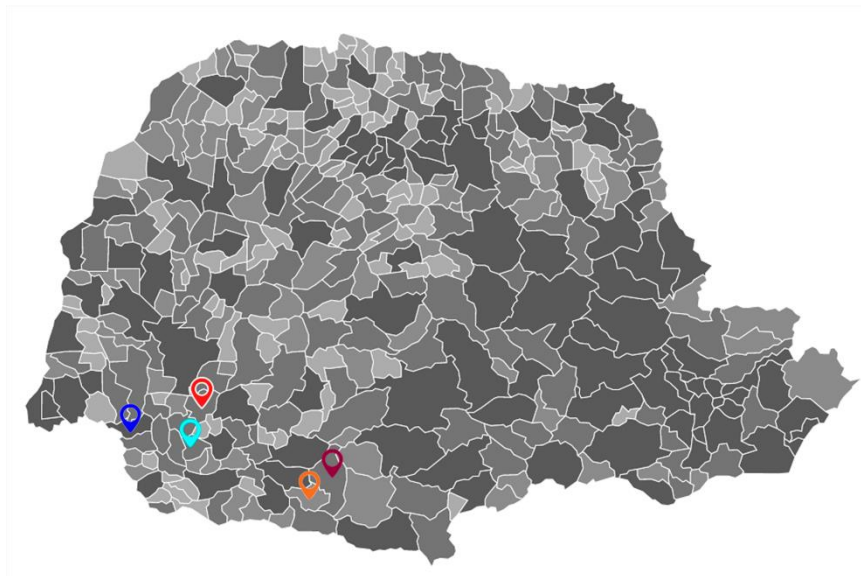
Sendo assim, esse estudo teve como objetivo avaliar a influência de fatores como o horário da transferência de embriões, o estágio de desenvolvimento e da qualidade dos embriões transferidos, o processamento dos embriões, o ovário ipsilateral ao corpo lúteo e o tamanho do corpo lúteo, sobre a taxa de gestação de receptoras que receberam embriões bovinos produzidos *in vitro* oriundos de raças de corte e leite.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Esse estudo foi realizado com dados retrospectivos de 419 transferências de embriões bovinos produzidos *in vitro*, sendo 245 oriundas de embriões de raças de corte (Brangus, Braford, Nelore e Hereford) e 174 de raça de leite (Holandesa). Os dados foram cedidos por uma empresa particular especializada em Reprodução Animal, sediada no município de Francisco Beltrão, Estado do Paraná.

O estudo contemplou dados obtidos do período de fevereiro a novembro de 2021, oriundos de três propriedades de criação de gado de corte, localizadas nos municípios de Três Barras, Honório Serpa e Mangueirinha, e 13 propriedades com atividade voltada para a bovinocultura leiteira, nos municípios de Capanema e Salto do Lontra, todas no Estado do Paraná (Figura 1).

Figura 1 – Distribuição geográfica no Estado do Paraná, dos municípios onde os dados desse estudo foram obtidos. As propriedades de criação de gado de corte encontram-se nos municípios em tons de vermelho e as propriedades de atividade leiteira em tons de azul.



Fonte: Adaptado de IBGE, 2010.

Coletou-se dados referentes ao horário da transferência dos embriões a receptoras; do estágio de desenvolvimento embrionário (mórula, blastocisto inicial, blastocisto, blastocisto expandido) e a qualidade do embrião transferido (Grau 1: pelo menos 85% da massa embrionária viável e intacta e Grau 2: ao menos 50% do material celular composto por massa embrionária viável e intacta;) (STRINGFELLOW; SEIDEL, 1998); do processamento do embrião transferido (fresco ou criopreservado); do ovário ipsilateral ao corpo lúteo (esquerdo ou direito) e do tamanho do corpo lúteo (1: pequeno, 2: médio ou 3: grande).

Os dados foram coletados, organizados, tabulados em planilhas e submetidos a análise estatística. A taxa de gestação foi calculada considerando-se os efeitos do horário de realização da transferência dos embriões, fase de desenvolvimento embrionário, qualidade e processamento do embrião, ovário ipsilateral ao corpo lúteo e o tamanho do corpo lúteo. O tamanho do corpo lúteo também foi avaliado conforme sua ocorrência no ovário esquerdo ou direito. As porcentagens médias foram comparadas pelo Teste de Dispersão de Frequência (Qui-quadrado), mediante pacote estatístico SAS versão 9.2, considerando 5% de significância ($p < 0,05$).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As 419 transferências de embriões produzidos *in vitro* realizadas, resultaram em 29,04% de gestação. Dessas transferências, 245 embriões foram provenientes de fêmeas bovinas de raças de corte (Brangus, Braford, Nelore e Hereford) e 174 de raça leiteira (Holandesa), que resultaram em taxa de gestação de 29,92% e 27,81%, respectivamente. Valores divergentes foram apresentados por Scanavez, Campos e Santos (2013), ao relatarem taxa de gestação de 57,8% (636/1100), após 1100 transferências de embriões produzidos *in vitro* oriundos de doadoras das raças Gir e Holandesa.

De maneira semelhante, Niemann *et al.* (2002) ao discorrerem sobre os avanços da PIV e da transferência de embriões, apresentaram valores médios de taxa de gestação de até 50%. Em contrapartida Nonato Júnior *et al.* (2004), ao avaliarem as diferenças entre programas de TE produzidos *in vivo* e *in vitro*, relataram taxa de gestação de 35,5% (310/849) para embriões PIV e 46,5% (105/226) para transferências realizadas com embriões *in vivo*. Esses autores, acrescentam ainda, que a PIV resulta em maior número de embriões produzidos, no entanto, a utilização de embriões *in vivo* viabiliza maiores percentuais de taxa de gestação.

A Tabela 1 apresenta a taxa de gestação de embriões produzidos *in vitro*, em diferentes horários de transferência às receptoras. Nas condições desse estudo, não se observou diferença na taxa de gestação de embriões PIV, de raças de corte após a TE em qualquer hora do dia ($p>0,05$). De forma semelhante, a taxa de gestação não foi alterada após TE de embriões PIV, da raça Holandesa a partir das 13:30 horas ($p>0,05$).

Tabela 1 – Taxa de gestação de embriões bovinos, de raças de corte e leite, produzidos *in vitro*, de acordo com o horário de transferência a receptoras.

Horário da TE	Taxa de gestação (%)			
	Nº de embriões de corte	Nº de embriões de leite	Corte	Leite
07:30 – 10:30	88	-	38,33 ^a	-
10:31 – 13:30	74	-	17,14 ^a	-
13:31 – 16:30	50	66	28,00 ^a	18,46 ^A
16:31 – 19:00	24	68	16,67 ^a	38,78 ^A
Após 19:01	09	40	25,00 ^a	31,58 ^A
Valor de p			0,0664	0,1442

^{Aa}Valores seguidos por letras iguais, na mesma coluna, não diferem ($p>0,05$).

Muitos são os fatores que interferem o resultado dos programas de PIV e transferência de embriões, incluindo o estresse térmico, uma vez que, a eficiência reprodutiva de vacas em lactação sob condições ambientais de altas temperaturas é comprometida, onde se observa

efeito deletério do estresse térmico na fertilidade e sobrevivência do embrião (VASCONCELOS *et al.*, 2006). Ademais, as variações climáticas evidenciadas em diferentes épocas do ano podem influenciar a produção de embriões, especialmente em animais taurinos, o que é justificado pela maior sensibilidade desses animais ao estresse calórico, decorrente de altas temperaturas e umidade relativa do ar, como é observado no verão em países de clima tropical (ALVES *et al.*, 2009).

Vacas holandesas expostas a temperaturas superiores a 29°C, um dia antes da inseminação artificial apresentam menores taxas de concepção (SILVA *et al.*, 2010; BONATO *et al.*, 2014), além do mais, observou-se que receptoras de embriões, com aumento da temperatura retal, apresentaram menor taxa de gestação aos 25 dias pós-inovulação e aumento da taxa de perdas embrionárias (VASCONCELOS *et al.*, 2006).

A mensuração de parâmetros como a temperatura retal (TR) e frequência respiratória (FR) dos animais, bem como dados de temperatura ambiente, umidade relativa do ar (UR) e índice de temperatura e umidade (ITU), é importante para a avaliação da influência do estresse térmico sobre as taxas de gestação de TE de embriões PIV. Mesmo que nesse estudo tais parâmetros não tenham sido avaliados, a literatura relata amplamente suas relevâncias no sucesso de programas de PIV e TE de embriões bovinos (ARMSTRONG, 1994).

Alves *et al.* (2009), relataram médias de temperatura ambiente e do ITU obtidas em horários das 12:00 e 18:00 horas, em épocas de verão, superiores aos limites estabelecidos para o conforto térmico de bovinos, sendo então que, os animais apresentavam-se sob condições ambientais estressantes. Adicionalmente, estudos apontaram diferenças da influência do estresse térmico na produção de oócitos e embriões, em fêmeas zebuínas e taurinas, uma vez que, vacas taurinas apresentam menor produção de oócitos viáveis quando comparado com animais zebuínos. Apesar da maior produção oocitária de fêmeas zebu, as mesmas sofrem diminuição na produção de embriões, principalmente nos meses mais frios do ano (PEREIRA, 2012; JELONSCHEK *et al.*, 2018).

Na Tabela 2 observa-se a taxa de gestação de embriões bovinos produzidos *in vitro*, de acordo com seu estágio de desenvolvimento. Não se observou diferenças na taxa de gestação de embriões PIV, em raças de corte após a TE nos estádios de desenvolvimento de blastocisto e blastocisto expandido ($p > 0,05$). Da mesma forma, a taxa de gestação de embriões PIV, na raça Holandesa não sofreu alterações após TE nos estádios de desenvolvimento de mórula, blastocisto inicial, blastocisto e blastocisto expandido ($p > 0,05$).

Tabela 2 – Taxa de gestação de embriões bovinos, de raças de corte e leite, produzidos *in vitro*, de acordo com o estágio de desenvolvimento do embrião.

Estádio de desenvolvimento do embrião	Nº de embriões de corte	Nº de embriões de leite	Taxa de gestação (%)	
			Corte	Leite
MO	-	08	-	37,50 ^A
BI	-	33	-	15,63 ^A
BL	42	42	31,63 ^a	25,00 ^A
BX	203	66	23,08 ^a	20,83 ^A
Valor de p			0,2240	0,2240

^{Aa}Valores seguidos por letras iguais, na mesma coluna, não diferem ($p > 0,05$).

Os dados apresentados nesse estudo (Tabela 2) corroboram com os resultados obtidos por Mello *et al.* (2016), ao avaliarem a taxa de gestação mediante diferentes graus de assincronia embrião-receptora. Mello e colaboradores não observaram diferenças na taxa de gestação de receptoras que receberam embriões em diferentes estádios de desenvolvimento, desde mórula inicial até blastocisto expandido. De maneira semelhante, Scanavez, Campos e Santos (2013) não detectaram efeitos do grau de desenvolvimento do embrião nas taxas de gestação e perdas embrionárias.

Em contrapartida, Neto *et al.* (2014), ao avaliarem a taxa de gestação de receptoras transferidas com embriões de estágio de desenvolvimento inicial (mórula e blastocisto inicial) e embriões de estágio desenvolvido (blastocisto e blastocisto expandido), obtiveram taxas de gestação de 25% e 57,14%, respectivamente. Esses autores, salientaram que existem diferenças bioquímicas e metabólicas nos diferentes estádios de desenvolvimento embrionário, que podem afetar os resultados das taxas de gestação, sendo que embriões transferidos em estádios iniciais podem apresentar retardos em seu desenvolvimento e assim comprometer a gestação. Adicionalmente, Grázia e Santos (2021), também evidenciaram maiores taxas de gestação em fêmeas que receberam embriões em estádios de desenvolvimento mais avançado.

Em relação a qualidade embrionária, autores discorreram sobre a influência da morfologia do embrião e seu estágio de clivagem, sobre as taxas de gestação após fertilização *in vitro* e TE (GIORGETTI *et al.*, 1995) e pesquisas são realizadas com o intuito de otimizar a qualidade dos embriões, e assim, maximizar os resultados obtidos por meio da PIV de embriões bovinos. A qualidade dos embriões produzidos está intimamente relacionada aos processos realizados durante as técnicas de aspiração folicular, cultivo, maturação e fertilização *in vitro* (COELHO *et al.*, 1998; JELONSCHEK *et al.*, 2018).

Inúmeros fatores interferem na qualidade do embrião, como descrito por Hidaka *et al.* (2018), onde maiores concentrações de Glutathione (GSH) em oócitos aspirados promove desenvolvimento embrionário mais satisfatório.

Dessa forma, a qualidade do embrião apresenta-se como um fator de grande relevância para o sucesso dos programas de transferência de embriões. Tendo em vista que, a classificação da qualidade embrionária pode ser realizada mediante análise microscópica de critérios morfológicos, como a coloração das células, a homogeneidade e tamanho dos blastômeros, a granulação citoplasmática e o grau de fragmentação dos blastômeros (ALVAREZ *et al.*, 2008). Ainda, com base em critérios morfológicos a Sociedade Internacional de Transferência de Embriões, elaborou um guia de classificação de qualidade e/ou viabilidade do embrião em quatro graus, sendo eles: grau 1: excelente ou bom; grau 2: regular; grau 3: ruim e grau 4: morto ou degenerado (STRINGFELLOW; SEIDEL, 1998).

A Tabela 3 apresenta a taxa de gestação de embriões bovinos produzidos *in vitro*, de acordo com a qualidade embrionária. A taxa de gestação de embriões bovinos PIV, foi semelhante, em raças de corte após TE com embriões de qualidade grau 1 e grau 2 ($p>0,05$). Já a taxa de gestação de embriões PIV, na raça Holandesa, após TE com embriões de qualidade grau 1 e grau 2, resultou em maior percentual gestacional em transferências realizadas com embriões de qualidade grau 2 ($p<0,05$).

Tabela 3 – Taxa de gestação de embriões bovinos, de raças de corte e leite, produzidos *in vitro*, de acordo com a qualidade do embrião.

Qualidade	Taxa de gestação (%)			
	Nº de embriões de corte	Nº de embriões de leite	Corte	Leite
1	221	142	30,17 ^a	26,36 ^B
2	24	5	27,27 ^a	75,00 ^A
Valor de p			0,7694	0,0088

^aValores seguidos por letras iguais, na mesma coluna, não diferem ($p>0,05$).

^{BA}Valores seguidos por letras diferentes, na mesma coluna, diferem ($p<0,05$).

Dados divergentes aos relatados nesse estudo foram evidenciados por Andrade *et al.* (2012), que não observaram influência da qualidade embrionária na taxa de gestação, após TE de embriões de qualidade grau 1 e grau 2. Adicionalmente, Spell *et al.* (2001), também não relatam efeitos da qualidade do embrião sobre as taxas de gestação. Alvarez *et al.* (2008), abordam que existe uma relação positiva entre a qualidade morfológica dos embriões e a taxa

de gestação, e acrescentaram que embriões de melhor qualidade resultaram em índices de gestação mais elevados quando comparado com embriões de baixa qualidade.

Sabe-se que a eficiência em avaliar a qualidade e viabilidade dos embriões PIV apresenta-se como um fator de suma importância para o sucesso dos programas de TE produzidos *in vitro*, tendo em vista que, a utilização de embriões considerados mais aptos a promoverem a gestação otimiza o melhoramento genético dos rebanhos e reduz perdas financeiras associadas à técnica, como também um embrião de maior qualidade possui maior valor comercial agregado (CAETANO, 2018). Ademais, a avaliação morfológica dos embriões é realizada mediante técnicas que objetivam diferenciar embriões viáveis e não viáveis, sendo considerada uma abordagem prática, especialmente na aplicação da transferência de embriões bovinos e humanos (ALIKANI *et al.*, 1999).

No entanto, essa abordagem é considerada por alguns autores pouco precisa, visto que muitos embriões considerados morfológicamente fora do padrão, também resultam em gestação. A avaliação morfológica dos embriões é um método que pode gerar variações de interpretação dos graus de qualidade embrionária entre os profissionais (FARIN *et al.*, 1999; VAN SOOM *et al.*, 2001; CAETANO, 2018). Corroborando com os achados desse estudo, poder-se-ia supor que a maior taxa de gestação de embriões PIV observada após transferência de embriões de qualidade grau 2, na raça Holandesa, poderia ser decorrente de variações na graduação do escore qualidade embrionária pelos avaliadores, e/ou ainda, pela capacidade inerente dos embriões de características morfológicas inferiores levar a gestação a termo.

A Tabela 4 apresenta a taxa de gestação de embriões produzidos *in vitro*, sendo fresco ou congelado/descongelado, no momento da TE. Nas condições desse estudo, não se observou diferença na taxa de gestação de embriões PIV, da raça Holandesa após a TE de embriões frescos ou congelados ($p>0,05$). Em contrapartida, a taxa de gestação de embriões PIV, em raças de corte foi superior após TE de embriões frescos ($p<0,05$).

Tabela 4 – Taxa de gestação de embriões bovinos, de raças de corte e leite, produzidos *in vitro*, de acordo com o processamento do embrião.

Processamento	Taxa de gestação (%)			
	Nº de embriões de corte	Nº de embriões de leite	Corte	Leite
Fresco	215	123	36,27 ^A	28,66 ^A
Congelado	30	51	0,00 ^B	25,00 ^A
Valor de p			0,0032	0,4397

^{AB}Valores seguidos por letras diferentes, na mesma coluna, diferem ($p<0,05$).

^AValores seguidos por letras iguais, na mesma coluna, não diferem ($p>0,05$).

As técnicas de criopreservação de embriões bovinos contam com uma vasta possibilidade de protocolos bem definidos, os quais resultam em bons índices de sobrevivência embrionária, viabilizando sua aplicação comercial. No entanto, existem fatores inerentes ao embrião que influenciam nas técnicas de criopreservação, que até o momento não foram completamente elucidados (WERLICH *et al.*, 2006; SANTIN; BLUME; MANDODERI, 2009).

Braga *et al.* (2017), ao avaliarem a taxa de gestação de embriões frescos ou congelados transferidos para receptoras da raça Brangus, obtiveram percentuais de taxa de gestação de 56,87% e 43,67%, respectivamente, sendo possível evidenciar maiores taxas de gestação após TE de embriões frescos em raças de corte, o que corrobora com os resultados desse estudo. No entanto, Borges Filho (2018), ao realizar um estudo com novilhas e vacas da raça Nelore e avaliar a taxa de gestação após TE de embriões PIV criopreservados e a fresco, não evidenciou diferenças na taxa de concepção entre os dois grupos.

Sabe-se que o aumento da sensibilidade dos embriões PIV aos processos de criopreservação, é decorrente de mudanças na estrutura embrionária, como o menor número de células no embrioblasto, da maior proporção de gotas lipídicas intracelulares e do aumento da permeabilidade da zona pelúcida. Além disso, embriões PIV apresentam menor taxa de compactação do embrioblasto, elevando sua susceptibilidade as crioinjúrias, resultando no maior estresse oxidativo das células, o que leva a uma diminuição do número de gestações e nascimentos em relação a utilização de embriões frescos (RAMOS *et al.*, 2006; MARQUES *et al.*, 2021).

A Tabela 5 apresenta taxa de gestação de embriões bovinos produzidos *in vitro*, de acordo com o ovário ipsilateral ao corpo lúteo (CL), esquerdo ou direito. Nesse estudo, não se observou diferença na taxa de gestação de acordo com local da ovulação, ovário direito ou esquerdo, após TE de embriões PIV de raças de corte e leite ($p>0.05$).

Tabela 5 – Taxa de gestação de embriões bovinos, de raças de corte e leite, produzidos *in vitro*, de acordo com o ovário ipsilateral ao CL.

Ovário	Taxa de gestação (%)	
	Corte	Leite
Direito	34,66 ^a	23,28 ^A
Esquerdo	23,07 ^a	33,33 ^A
Valor de p	0,0964	0,0974

^{Aa}Valores seguidos por letras iguais, na mesma coluna, não diferem ($p>0,05$).

Scanavez, Campos e Santos (2013), não evidenciaram variações na taxa de gestação e perdas embrionárias, quanto ao ovário da localização do corpo lúteo (direito ou esquerdo), obtendo taxa de gestação de 58,9% e 55,4%, respectivamente. De maneira semelhante, Andrade *et al.* (2012) não observaram efeitos do lado do corpo lúteo na taxa de gestação, ainda salientaram que o importante é a qualidade do CL que a receptora possui no momento da inovulação e não o lado em que ocorreu a ovulação. Adicionalmente, Mello (2004) encontrou taxa de gestação semelhante entre receptoras que apresentavam CL do lado direito ou esquerdo. Os resultados desse estudo, coincide com a literatura citada.

O sucesso dos programas de transferência de embriões PIV, bem como a manutenção da gestação, relacionam-se com a qualidade do corpo lúteo da receptora (ANDRADE *et al.*, 2012; JELONSCHEK *et al.*, 2018). Na Tabela 6 é possível observar a taxa de gestação de embriões produzidos *in vitro*, de acordo com o tamanho do corpo lúteo, sendo 1: pequeno, 2: médio ou 3: grande. No presente estudo, a taxa de gestação foi semelhante em receptoras que apresentaram CL pequeno, médio ou grande, após TE de embriões PIV de raças de corte e raça de leite ($p>0,05$).

Tabela 6 – Taxa de gestação de embriões bovinos, de raças de corte e leite, produzidos *in vitro*, de acordo com o tamanho do CL.

Tamanho do CL	Taxa de gestação (%)	
	Corte	Leite
1	20,00 ^a	0,00 ^A
2	33,82 ^a	26,32 ^A
3	27,27 ^a	30,56 ^A
Valor de p	0,9113	0,4016

^{Aa}Valores seguidos por letras iguais, na mesma coluna, não diferem ($p>0,05$).

Pessoa *et al.* (2014), ao avaliarem o tamanho do corpo lúteo (pequeno, médio ou grande) e a taxa de gestação de embriões PIV frescos e criopreservados, relataram que o volume luteal não exerce efeito direto sobre a gestação. De forma semelhante Leal *et al.* (2009), relataram que não houveram diferenças significativas nas taxas de gestação de acordo com o tamanho do

CL, tendo em vista que, os corpos lúteos considerados grandes produziram maior concentração de Progesterona (P₄) quando comparado aos médios e pequenos, no entanto, isto não afetou as taxas de gestação. Esses relatos foram semelhantes ao encontrado nesse estudo, uma vez que o tamanho do corpo lúteo não influenciou na taxa de gestação ($p > 0,05$ – Tabela 6).

Kenyon *et al.* (2013), relataram variações nos percentuais de taxa de gestação de acordo com a concentração de Progesterona, sendo que a taxa de gestação foi maior em vacas com concentração de P₄ sérica $> 5 \text{ ng/mL}$, e vacas com $< 2 \text{ ng/mL}$ não obtiveram sucesso na manutenção da gestação. Ainda, Mann (2012), ao avaliar dados oriundos de vacas de leite não lactantes da raça Holandesa, evidenciou que o tamanho do corpo lúteo e a concentração sérica de P₄ aumentaram do quinto ao oitavo dia, e do oitavo ao 16º dia do ciclo, salientando que a elevação da P₄ plasmática não apresenta correlação com o discreto crescimento do corpo lúteo, dessa forma, o autor observou que o tamanho do CL produz efeitos sobre a concentração de P₄ até o oitavo dia do seu desenvolvimento e ao alcançar sua maturidade passa a não exercer influência na concentração hormonal.

A Tabela 7 apresenta o percentual de ocorrência de corpos lúteos de tamanho 1, 2 ou 3 (pequeno, médio ou grande), e sua prevalência no ovário direito e esquerdo de receptoras de raças de corte e raça de leite. Demczuk *et al.* (1998), relataram que a predominância das ovulações em fêmeas bovinas é no ovário direito, sendo de 36,0% e 64,0%, para ovulações no ovário esquerdo e direito, respectivamente, sem exercer influência sobre a taxa de gestação.

Tabela 7 – Tamanho do corpo lúteo de acordo com sua ocorrência no ovário direito ou esquerdo em raças de corte e raça de leite.

Vacas de Corte			
Tamanho CL	Ovário Direito	Ovário Esquerdo	Valor de p
1	4,38% ^a	10,71% ^a	0,0868
2	40,35% ^a	28,57% ^a	0,0874
3	23,68% ^a	25,00% ^a	0,8313
Vacas de Leite			
Tamanho CL	Ovário Direito	Ovário Esquerdo	Valor de p
1	1,10% ^A	4,28% ^A	0,1992
2	52,74% ^A	55,71% ^A	0,7089
3	41,76% ^A	35,71% ^A	0,4374

^{Aa}Valores seguidos por letras iguais, na mesma linha, não diferem ($p > 0,05$).

Nas condições desse estudo, não foram observadas diferenças na ocorrência de CL de tamanho 1, 2 ou 3 entre os ovários direito e esquerdo de fêmeas de raças de corte e raça de leite ($p > 0,05$). Em estudo realizado por Dantas *et al.* (2018), foram analisadas matrizes que

apresentavam corpo lúteo no ovário direito e esquerdo, sendo que 84,81% das matrizes incluídas no programa de TE apresentavam CL no ovário direito e 82,39% das fêmeas selecionadas possuíam CL no ovário esquerdo, não sendo possível identificar diferenças entre os dois grupos, sendo assim, não houve distinção de funcionalidade entre os dois ovários, direito e esquerdo, o que foi observado nos animais de corte e leite desse estudo.

4 CONCLUSÃO

Nas condições desse estudo conclui-se que o horário da transferência de embriões às receptoras, estágio de desenvolvimento dos embriões, ovário ipsilateral ao CL e tamanho do corpo lúteo não influenciaram a taxa de gestação de receptoras que receberam embriões produzidos *in vitro* oriundos de raças de corte e leite. Contudo, a qualidade e o processamento dos embriões PIV exerceram efeitos sobre a taxa de gestação, após TE de embriões de raças de corte e leite.

REFERÊNCIAS

- ALVAREZ, R. H. *et al.* Transfer of bovine blastocysts derived from short-term *in vitro* culture of low quality morulae produced *in vivo*. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 43, n.3, 2008. DOI: 10.1111/j.1439-0531.2007.00884.x. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18179632/>. Acesso em: 03 mar. 2022.
- ALVES, B. R. C. *et al.* Desempenho de novilhas Holandês na produção de embriões F1 Holandês-Zebu, em condições tropicais. **Revista Brasileira de Ciências Veterinárias**, v. 16, n.1, 2009. DOI: 10.4322/rbcv.2014.164. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/284407671_Desempenho_de_novilhas_Holandes_na_producao_de_embrioes_F1_Holandes-Zebu_em_condicoes_tropicais. Acesso em: 03 mar. 2022.
- ALIKANI, M. *et al.* Human embryo fragmentation *in vitro* and its implications for pregnancy and implantation. **Assisted Reproductive Technology**, v.71, n. 5, 1999. DOI: 10.1016/s0015-0282(99)00092-8. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10231042/>. Acesso em: 03 mar. 2022.
- ANDRADE, G. A. *et al.* 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, 2012. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/vti-8312>. Acesso em: 03 mar. 2022.
- ARMSTRONG, D. V. Heat stress interaction with shade and cooling. **Journal of Dairy Science**, v. 77, 1994. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030294771496>. Acesso em: 03 mar. 2022.
- BARUSELLI, P. S. *et al.* Estratégias para aumentar a produção de embriões em bovinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.43, n. 2, 2019. Disponível em: <https://repositorio.usp.br/item/002956228>. Acesso em: 03 mar. 2022.
- BECHER, B.G. *et al.* Fatores que afetam a produção *in vitro* de embriões (PIVE) em bovinos. **Centro Científico Conhecer**, Goiânia, v. 15, n. 28, 2018. DOI: 10.18677/EnciBio_2018B48. Disponível em: <https://conhecer.org.br/ojs/index.php/biosfera/article/view/421>. Acesso em: 03 mar. 2022.
- BONATO, G. L. *et al.* Sazonalidade da temperatura retal e da taxa de concepção de vacas Jersey leiteiras. **Boletim de Indústria Animal**, Nova Odessa, v. 71, n.2, 2014. DOI: 10.17523/bia.v71n2p143. Disponível em: <http://www.iz.sp.gov.br/pdfsbia/1403617378.pdf>. Acesso em: 03 mar. 2022.
- BORGES FILHO, G. N. **Taxa de concepção e gestação de embriões produzidos *in vitro*, transferidos a fresco ou criopreservado, em vacas e novilhas nelore.** Orientador: Joaquim Mansano Garcia. 2018. Dissertação (Mestrado em Reprodução Animal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2018. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/155994>. Acesso em: 03 mar. 2022.
- BRAGA, H. *et al.* Taxa de prenhez de embriões frescos ou congelados de angus e brangus transferidos para receptoras bovinas. **Revista Eletrônica Biociências, Biotecnologia e Saúde**, Curitiba, n. 18, 2017. Disponível em: <file:///C:/Users/User/Downloads/1555-Texto%20do%20artigo-3175-1-10-20181009.pdf>. Acesso em: 03 mar. 2022.

CAETANO, D. P. **Perfil transcricional da criotolerância de embriões produzidos in vitro**. Orientador: Matheus José Sudano. 2018. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal do Pampa – UNIPAMPA, Uruguaiana, 2018. Disponível em: <https://dspace.unipampa.edu.br/handle/rii/5530>. Acesso em: 03 mar. 2022.

COELHO, L. A. *et al.* Avaliação das condições de maturação oocitária e do efeito do reprodutor na produção in vitro de embriões bovinos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 35, n.5, 1998. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/bjvras/a/fXKSVnd8YPWnx6zGpvCyWkw/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 03 mar. 2022.

DANTAS, K. S. *et al.* Seleção de receptoras em um programa de transferência de embriões (PIVE) em bovinos no nordeste do Brasil. **Ciência Animal**, v. 28, n.1, 2018. Disponível em: <http://www.uece.br/cienciaanimal/dmdocuments/v28p03-16.pdf>. Acesso em: 03 mar. 2022.

DEMÇZUK, E. *et al.* Transferência de embrião em vacas da raça Simental na região noroeste do Paraná e Sul do Mato Grosso do Sul. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 35, n.4, 1998. DOI:10.1590/S1413-95961998000400006. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/bjvras/a/v6Btc4LbfwdWtxxNnZ8RXHm/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 03 mar. 2022.

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. 30, n.6, 2019. DOI: 10.1093/JAS/SKZ116. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30968113/>. Acesso em: 03 mar. 2022.

FARIN, P. W; SLENNING, B. D; BRITT, J. H. Estimates of pregnancy outcomes based on selection of bovine embryos produced in vivo or in vitro. **Theriogenology**, v. 52, n.4, 1999. DOI:10.1016/S0093-691X(99)00160-0. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0093691X99001600?via%3Dihub>. Acesso em: 03 mar. 2022.

FERNANDES, C. A. C. Inovações não cirúrgicas e taxa de gestação de receptoras de embrião. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.51, n. 3, 1999. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/abmvz/a/FgkkyWhsKPNVKyQTHDYTm8y/?lang=pt>. Acesso em: 03 de mar. 2022.

GIORGETTI, C. *et al.* Embryo score to predict implantation after in-vitro fertilization: based on 957 singles embryo transfers. **Human Reproduction**, v.10, n.9, 1995. Disponível em: <http://humrep.oxfordjournals.org/>. Acesso em: 03 mar. 2022.

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, 2021. DOI: 10.34188/bjaerv4n3-153. Disponível em: <https://www.brazilianjournals.com/index.php/BJAER/article/view/36630>. Acesso em: 03 mar. 2022.

- HIDAKA, T. *et al.* Variations in bovine embryo production between individual donors for opu-ivf are closely related to glutathione concentrations in oocytes during in vitro maturation. **Theriogenology**, v. 113, 2018. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0093691X18300815?casa_token=ztKv5vuEI04AAAAA:YLWfULkJuHoiO8WZnYa700B9-Zo5v2PpHbQz3BVBhr_nhPw5zuVF1ME38EcQ8HH4RfSTekGUJQ. Acesso em: 03 mar. 2022.
- IBGE. Cidades e Estados. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pr/panorama>. Acesso em: 03 mar. 2022.
- JELONSCHEK, J. P. *et al.* Fatores que afetam a taxa de gestação de receptoras de embriões produzidos *in vitro*. Revisão de literatura. **Scientific Electronic Archives**, v. 11, n.6, 2018. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/abmvz/a/Yq8wqBjCgSpDtL64PV7QzGh/>. Acesso em: 03 mar. 2022.
- KENYON, A. G. *et al.* Minimal progesterone concentration required for embryo survival after embryo transfer in lactating holstein cows. **Animal Reproduction Science**, v.136, n.4, 2013. DOI: 10.1016/j.anireprosci.2012.10.014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23199583/>. Acesso em: 03 mar. 2022.
- LEAL, L. S. *et al.* Avaliação do corpo lúteo, contratilidade uterina e concentrações plasmáticas de progesterona e estradiol em receptoras de embriões bovinos. **Ciência Animal Brasileira**, v. 10, n. 1, 2009. Disponível em: <https://revistas.ufg.br/vet/article/view/448>. Acesso em: 03 mar. 2022.
- LEAL, G. R. *et al.* The spom-adapted ivm system improves in vitro production of bovine embryos. **Theriogenology**, v. 158, 2021. DOI:10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2020.09.024. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33002771/>. Acesso em: 03 mar. 2022.
- MANN, G. E. Corpus luteum size and plasma progesterone concentration in cows. **Animal Reproduction Science**, v. 115, 2009. DOI: 10.1016/J.ANIREPROSCI.2008.11.006. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378432008004697>. Acesso em: 03 mar. 2022.
- MARQUES, T. C. *et al.* Blastocoel fluid removal and melatonin supplementation in the culture medium improve the viability of vitrified bovine embryos. **Theriogenology**, v. 160, 2021. DOI: 10.1016/2020.10.028. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0093691X20305768?via%3Dihub>. Acesso em: 03 mar. 2022.
- MELLO, V. F. **Influência da receptora e do embrião sobre a viabilidade embrionária e sexo determinados através da ultrassonografia**. Orientador: Alicio Martin Júnior. 2004. Dissertação (Mestrado em Reprodução Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo. 2004. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/10/10131/tde-14062004-111239/pt-br.php>. Acesso em: 03 mar. 2022.
- MELLO, R. R. C. *et al.* Produção *in vitro* (PIV) de embriões em bovinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.40, n.2, 2016. Disponível em: www.cbra.org.br. Acesso em: 03 mar. 2022.
- NETO, H. F. V. *et al.* Parâmetros que afetam a taxa de prenhez de receptoras bovinas de embriões produzidos *in vitro*. **Medicina Veterinária (UFRPE)**, Recife, v.8, n.3, 2014.

Disponível em:

[http://www.journals.ufrpe.br/index.php/medicinaveterinaria/article/view/1188#:~:text=As%20taxas%20de%20prenhez%20resultantes,01\)%20do%20que%20as%20demais.](http://www.journals.ufrpe.br/index.php/medicinaveterinaria/article/view/1188#:~:text=As%20taxas%20de%20prenhez%20resultantes,01)%20do%20que%20as%20demais.) Acesso em: 03 mar. 2022.

NIEMANN, H. *et al.* Gene Expression Patterns in Bovine *in vitro*-Produced and Nuclear Transfer-Derived Embryos and Their Implications for Early Development. **Cloning and Stem Cells**, v. 4, n.1, 2002. DOI: 10.1089/153623002753632020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12006154/>. Acesso em: 03 mar. 2022.

NONATO JÚNIOR, I. *et al.* Produção de embriões em vacas nelore com a utilização associada de FIV e TE. *In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE EMBRIÕES*, 18., 2004, Barra Bonita. *Anais... Barra Bonita: Acta Scientiae Veterinariae*, 2004. v.32.

PEREIRA, A. **Variações climáticas ao longo do ano e resultados da PIVE em doadoras de diferentes grupos genéticos.** Orientador: Carlos Antônio de Carvalho Fernandes. 2012. 60f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade José do Rosário Vellano, Alfenas. 2012. Disponível em: <http://tede2.unifenas.br:8080/jspui/handle/jspui/133>. Acesso em: 03 mar. 2022.

PESSOA, A.B.C. M; PEREIRA, E.T.N; MELO, M.I.V. Influência do local de inovulação e do tamanho de corpo lúteo sobre a taxa de prenhez em programa de transferência de embriões bovinos em tempo fixo. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 38, n.4, 2014. Disponível em: www.cbra.org.br. Acesso em: 03 mar. 2022.

RAMOS, A. A. *et al.* Efeito do transporte no desenvolvimento de embriões bovinos cultivados *in vitro* a fresco ou reaquecidos após vitrificação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n.6, 2006. DOI:10.1590/S1516-35982006000800012. Disponível em: www.sbz.org.br. Acesso em: 03 mar. 2022.

RIBEIRO FILHO, A. L. *et al.* Taxa de gestação de receptoras de embriões bovinos com diferentes graus de dificuldades no procedimento de inovulação. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v.12, n.4, 2011. DOI:10.5216/cab.v12i4.12414. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/314365062>. Acesso em: 03 mar. 2022.

SANTIN, T. R; BLUME, H; MONDADORI, R. G. Criopreservação de embriões – metodologias de vitrificação. **Veterinária e Zootecnia**, v. 16, n.4, 2009. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/277228713_CRIOPRESERVACAO_DE_EMBRIOES_-_METODOLOGIAS_DE_VITRIFICACAO. Acesso em: 03 mar. 2022.

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, 2013. DOI.ORG/10.1590/S0102-09352013000300017. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/abmvz/a/Yq8wqBjCgSpDtL64PV7QzGh/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 03 mar. 2022.

SILVA, E. V.C. *et al.* Efeito do manejo e de variáveis bioclimáticas sobre a taxa de gestação em vacas receptoras de embriões. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 11, n.2, 2010. DOI:10.526/CAV.VLLI2.3166. Disponível em: <https://www.revistas.ufg.br/vet/article/view/3166/> Acesso em: 03 mar. 2022.

SILVA, J. S. *et al.* Aspectos comerciais da transferência de embriões e fertilização *in vitro* em bovinos – revisão. **Nutri Time**, Viçosa, v. 12, n.5, 2015. Disponível em: <https://www.nutritime.com.br/site/artigo-332-aspectos-comerciais-da-transferencia-de-embrioes-e-fertilizacao-in-vitro-em-bovinos-revisao/>. Acesso em: 03 mar. 2022.

STRINGFELLOW, D. A; SEIDEL, S. M. Manual da Sociedade Internacional de Transferência de Embriões. 3º Edição. 1998.

SOUZA-FAJAN, J. M. G. *et al.* In vitro production of small ruminant embryos: Late improvements and further research. **Theriogenology**, v. 81, n.9, 2014.

DOI:10.1016/j.theriogenology.2014.02.001. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0093691X14000764>. Acesso em: 03 mar. 2022.

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, 2018. Disponível em:

<http://periodicos.unifil.br/index.php/revista-vet/article/view/988>. Acesso em: 03 mar. 2022.

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, 2001. DOI: 10.1016/s0093-691x(01)00563-5. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11480620/>. Acesso em: 03 mar. 2022.

VAN SOOM, A. *et al.* Silicone oil used in microdrop culture can affect bovine embryonic development and freezability. **Reproduction in Domestic Animals**, v.36, n.3-4, 2001. DOI:

10.1046/j.1439-0531.2001.00281.x. Disponível em:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11555364/>. Acesso em: 03 mar. 2022.

VASCONCELOS, J. L. M. *et al.* Factors potentially affecting fertility of lactating dairy cow recipients. **Theriogenology**, v. 65, n. 1, 2006. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2005.09.030.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16290259/>. Acesso em: 03 mar. 2022.

WERLICH, D. R. *et al.* Embriões bovinos PIV vitrificados em diferentes soluções crioprotetoras com ou sem o uso de nitrogênio super-resfriado. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 34, n.1, 2006. Disponível em:

<https://seer.ufrgs.br/ActaScientiaeVeterinariae/article/view/15074/8884>. Acesso em: 03 mar. 2022.