



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

APLICAÇÃO DE GONADORELINA NO MOMENTO DA
INOVULAÇÃO EM TEMPO FIXO DE EMBRIÃO BOVINO
PRODUZIDO *IN VITRO*

Melissa Lobato Defensor
Médica Veterinária

UBERLÂNDIA – MINAS GERAIS - BRASIL
Agosto de 2017



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

APLICAÇÃO DE GONADORELINA NO MOMENTO DA
INOVULAÇÃO EM TEMPO FIXO DE EMBRIÃO BOVINO
PRODUZIDO *IN VITRO*

Melissa Lobato Defensor

Orientadora: Prof. Dra. Ricarda Maria dos Santos

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária - UFU, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciências Veterinárias (Produção Animal).

UBERLÂNDIA – MINAS GERAIS - BRASIL
Agosto de 2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

D313a
2017

Defensor, Melissa Lobato, 1991

Aplicação de gonadorelina no momento da inovulação em tempo
fixo de embrião bovino produzido in vitro / Melissa Lobato Defensor. -
2017.

44 p. : il.

Orientadora: Ricarda Maria dos Santos.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,
Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.

Disponível em: <http://dx.doi.org/10.14393/ufu.di.2017.19>


Inclui bibliografia.

1. Veterinária - Teses. 2. Bovino - Embrião - Transplante - Teses. 3.
Bovino - Inseminação artificial - Teses. 4. Hormônios - Teses. I. Santos,
Ricarda Maria dos. II. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de
Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. III. Título.

CDU: 619

**Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias
Faculdade de Medicina Veterinária – Universidade Federal de Uberlândia**

Dissertação defendida e aprovada em 06 de Setembro de 2017, pela comissão examinadora constituída por:



Profa. Dra. Ricarda Maria dos Santos
ORIENTADORA

Universidade Federal de Uberlândia



Dra. Kele Amaral Alves

Universidade Federal de Uberlândia



Prof. Dr. Cleber Barbosa de Oliveira

Instituto Federal do Triângulo Mineiro



Profa. Dra. Daise Aparecida Rossi
Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

MELISSA LOBATO DEFENSOR – nascida em Uberlândia, no dia 30 de janeiro de 1991. Ingressei na faculdade de medicina veterinária da Universidade Federal de Uberlândia (FAMEV – UFU) no primeiro semestre de 2009. Em julho de 2012 fui aprovada no programa Ciências sem Fronteira e em setembro de 2012 me mudei para Madri – Espanha. Lá, cursei dois semestres de medicina veterinária na Universidad Complutense de Madrid. No segundo semestre de 2014 concluí a graduação e no início de 2015 entrei para o Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias – UFU.

	Página
SUMÁRIO	
RESUMO	VII
SUMMARY	VIII
I – INTRODUÇÃO	9
II – REVISÃO DE LITERATURA	11
1.1 – Importância da pecuária no Brasil	11
1.2 – Transferências de embriões em tempo fixo	12
1.3 – Manutenção da gestação	15
1.5 – Hormônio liberador das gonadotrofinas (GnRH)	17
III – MATERIAIS E MÉTODOS	20
3.1 – Local	20
3.2 – Doadoras e embriões	20
3.3 – Receptoras e tratamento	21
3.4 – DIAGNÓSTICOS DE GESTAÇÃO	22
3.5 – Avaliações	22
3.6 - Análises	23
IV – RESULTADOS	24
V – DISCUSSÃO	30
VI – CONCLUSÕES	33
VII – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34

APLICAÇÃO DE GONADORELINA NO MOMENTO DA INOVULAÇÃO EM TEMPO FIXO DE EMBRIÃO BOVINO PRODUZIDO IN VITRO

RESUMO – Objetivou-se avaliar o efeito da aplicação de gonadorelina, no momento da inovulação em tempo fixo, sobre as taxas de concepção aos 30 (DG30) e aos 60 (DG60) dias de gestação e sobre as taxas de perdas gestacionais (PGest) em receptoras de embrião bovino produzidos *in vitro*. O experimento foi realizado em 11 fazendas e as receptoras foram divididas em: grupo controle (n=624) e tratamento (n=687). Também foram analisadas as variáveis: estações do ano, fazenda, laboratório, raça da receptora, categoria da receptora, estágio do embrião, raça do embrião, estruturas do ovário e qualidade do corpo lúteo, bem como as possíveis interações. O protocolo para sincronizar a ovulação das receptoras foi: D0: inserção do dispositivo intravaginal de progesterona e aplicação intramuscular de 2,0mg de benzoato de estradiol; D7: aplicação intramuscular de 0,526mg de cloprostenol sódico; D9: aplicação intramuscular de 0,526mg de cloprostenol sódico + 1mg de cipionato de estradiol + retirada do dispositivo intravaginal; D18: inovulação do embrião + aplicação intramuscular de 0,1mg de gonadorelina ou não. Os dados foram avaliados por regressão logística multivariada usando o procedimento GLIMMIX do SAS versão 9.2. No modelo de regressão logística final algumas variáveis foram removidas baseando-se no critério Wald para $P > 0,20$. Foi detectado efeito de tratamento sobre DG30 ($P = 0,03$), DG60 ($P = 0,01$) e tendência sobre a PGest ($P = 0,09$). A estação do ano afetou DG30 ($P = 0,04$) e DG60 ($P = 0,01$). A variável fazenda teve efeito no DG30 ($P < 0,0001$) e no DG60 ($P < 0,0001$). Houve tendência de efeito da categoria da receptora sobre DG30 ($P = 0,06$) e DG60 ($P = 0,06$). Não houve interação entre as variáveis avaliadas. Conclui-se que a aplicação de gonadorelina no momento da inovulação aumentou a taxa de concepção tanto no DG30 quanto no DG60.

Palavras-chave: eficiência reprodutiva, prenhez, transferência de embrião

APPLICATION OF GONADORELINE AT THE TIME OF FIXED TIMED INNOVULATION OF BOVINE EMBRYO PRODUCED IN VITRO

SUMMARY – The objective of this study was to evaluate the effect of gonadorelin at conception rates at 30 (DG30) and at 60 (DG60) days of gestation and on gestational loss rates (PGest) at recipients of bovine embryos produced in vitro. The experiment was carried out in 11 farms and the recipients were divided into: control group (n = 624) and treatment (n = 687). The variables were also analyzed: seasons of the year, farm, laboratory, recipient race, recipient category, embryo stage, embryo race, ovary structures and corpus luteum quality, as well as possible interactions. The protocol to synchronize the ovulation of the recipients was: D0: insertion of the intravaginal progesterone device and intramuscular application of 2.0mg of estradiol benzoate; D7: intramuscular application of 0.526mg of sodium cloprostenol; D9: intramuscular application of 0.526mg of sodium cloprostenol + 1mg of estradiol cypionate + withdrawal from the intravaginal device; D18: embryo innovulation + intramuscular application of 0.1mg gonadorelin or not. The data were evaluated by multivariate logistic regression using the GLIMMIX procedure of SAS version 9.2. In the final logistic regression model, some variables were removed based on the Wald criterion for $P > 0.20$. Treatment effect was detected on DG30 ($P = 0.03$), DG60 ($P = 0.01$) and trend on PGest ($P = 0.09$). The season affected DG30 ($P = 0.04$) and DG60 ($P = 0.01$). The farm variable had an effect on DG30 ($P < 0.0001$) and DG60 ($P < 0.0001$). There was a trend of effect of the recipient category on DG30 ($P = 0.06$) and DG60 ($P = 0.06$). There was no interaction between the evaluated variables. It is concluded that the application of gonadorelin at the time of the innovulation increased the conception rate in both DG30 and DG60.

Keywords: reproductive efficiency, pregnancy, embryo transfer

I – INTRODUÇÃO

O Brasil possui índices zootécnicos muito ruins apesar de ser detentor de um dos maiores rebanhos bovino do mundo. A eficiência reprodutiva é um dos índices mais importantes a ser considerado, pois influencia diretamente o desempenho econômico de uma propriedade produtora de leite, uma vez que afere a habilidade de fazer a vaca ficar gestante após o período de espera voluntário (GAINES et al., 1994). Redução no número de crias para reposição, redução no progresso genético, aumento no intervalo entre partos e entre lactações (LIMA et al., 2010; RIBEIRO et al., 2012), e aumento no número de descartes involuntários (SILVA et al., 2009) são alguns dos prejuízos causados pela baixa eficiência reprodutiva. Como consequência desses prejuízos tem-se um baixo retorno do capital investido na propriedade (RIBEIRO et al., 2012).

As biotecnologias da reprodução têm sido muito estudadas, pois o objetivo principal delas é melhorar a eficiência reprodutiva das fazendas. Dentre elas, destacam-se a inseminação artificial em tempo fixo (IATF) e transferência de embrião em tempo fixo (TETF). Vários protocolos hormonais, com diferentes dias de aplicação e hormônios distintos têm sido testados com o intuito de aumentar o número de fêmeas gestantes.

MACHADO et al. (2006) relataram que a administração de GnRH entre quatro e sete dias após a data do cio, promove a ovulação do folículo dominante da 1ª onda de crescimento folicular e induz a formação de um corpo lúteo acessório (CLa), que incrementa a produção de progesterona. Nas condições deste estudo, a gonadorelina, hormônio análogo de GnRH, ainda não havia sido testada como agente capaz de incrementar a taxa de concepção na TETF. Optou-se por aplicar a gonadorelina no dia da inovulação do embrião, pois assim não haveria necessidade de aumentar um dia de manejo no protocolo de TETF.

Objetivou-se avaliar o efeito da aplicação de gonadorelina, no momento da inovulação na transferência de embrião em tempo fixo (TETF), sobre as taxas de

concepção aos 30 (DG30) e aos 60 (DG60) dias de gestação, e também sobre as perdas gestacionais (PGest) em receptoras de embriões bovinos produzidos *in vitro*.

II – REVISÃO DE LITERATURA

1.1 – Importância da pecuária no Brasil

O Brasil atualmente ocupa a 5ª colocação em termos de produção de leite de vaca (CONAB, 2016) e o 2º lugar em produção de carne bovina (CNA, 2016). O agronegócio em 2015 representou entre 21,46% do Produto Interno Bruto (PIB) total, ou seja, cerca de R\$ 1,2 trilhões. Desse valor total 68,4% refere-se a agricultura e 31,6% a pecuária (MAPA¹, 2016). Em 2015, mesmo com a retração do PIB total nacional, o agronegócio fechou com alta de 1,8% (MAPA², 2016).

A representatividade do setor pecuário na economia nacional tem espaço para crescer mais, uma vez que ela ainda não reflete o real potencial produtivo do Brasil. A baixa produtividade é um dos entraves para aumentar o aproveitamento das terras pela pecuária. As principais causas dessa baixa produtividade são a utilização de animais sem aptidão para produção de leite ou com potencial genético inapropriado; falhas no manejo alimentar, reprodutivo e sanitário; baixo nível de instrução dos produtores (57% dos produtores tem pouca instrução) e falta de assistência técnica (na zona da mata mineira, uma das maiores bacias leiteiras do país, 73% dos produtores informam que não recebem assistência técnica) (IBGE, 2006).

De todo o leite produzido no país, 80% vem de animais girolando. A Associação Brasileira dos Criadores de Girolando (2016), mostrou que, em 2015, a média de produção das vacas girolando registradas foi de 5.175 litros por lactação, apenas 15% maior que a média de 2006, um crescimento de 1,5% ao ano. Ao considerar também os dados de animais não registrados, a média de produção por vaca no Brasil cai para 1.492 litros de leite por ano, 71% a menos. Nos Estados Unidos esse valor é de 9.902 litros (EMBRAPA, 2016), média 51% maior que as vacas registradas da raça girolando e 151% a mais do que a produção média brasileira.

Em 2016 a população do Brasil era de 206.081.432 pessoas (IBGE¹, 2017) e o país produziu cerca de 23,17 bilhões de litros de leite cru, o que correspondeu a 115 litros de leite/habitante/ano (IBGE², 2017). A OMS (Organização Mundial da Saúde) e o Ministério da Saúde recomendam que o consumo de leite per capita anual seja de pelo menos 210 litros (MAPA, 2014). Estima-se que em 2026 a população brasileira

seja de 219 milhões de habitantes (IBGE¹, 2017), logo o volume de leite produzido deverá ser de 46 bilhões de litros/ano.

O Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) lançou em 2014 o Plano Mais Pecuária, que visa aumentar em 10 anos a produtividade dos rebanhos leiteiros. O objetivo é elevar a média de produção das vacas para pelo menos 2000 litros/vaca/ano. Estima-se que 23,5 milhões de cabeças sejam ordenhadas diariamente no Brasil (MAPA, 2014), se estas vacas produzissem 2000 litros por ano, seria possível produzir 47 bilhões de litros de leite e suprir as recomendações de consumo da população sem ter que aumentar a área de pastagem. Para alcançar esse objetivo, o plano propõe investimentos em quatro diretrizes principais: melhoramento genético, ampliação de mercado, incorporação de tecnologia, e segurança e qualidade dos produtos.

Destaca-se como elemento chave para o incremento da produtividade, o melhoramento genético. Existem várias tecnologias de reprodução assistida usadas como ferramenta para viabilizar o melhoramento genético, e a mais robusta é a transferência de embriões (TE) produzidos *in vitro* (PIVE). A transferência de embriões PIVE possibilita ganhos genéticos simultâneos vindos do pai e da mãe (BARUSELLI, et al., 2015), permite que cada fêmea possa produzir até 36 crias/ano (RUMPF, 2007), confere maior biossegurança ao embrião (BLONDIN, 2015) e permite que sejam usadas como doadoras de ovócitos: bezerras pré-púberes, vacas no início de gestação, vacas com problemas de fertilidade adquiridos e vacas com idade avançada (SILVA, 2010).

1.2 – Transferências de embriões em tempo fixo

Nas últimas décadas as Tecnologias de Reprodução Assistida (TRA) evoluíram muito com a introdução de grandes inovações como inseminação artificial (IA), a criopreservação de sêmen, protocolos hormonais de sincronização e as transferências de embriões (TE). Associadas as biotecnologias, como o congelamento de embriões, a sexagem de sêmen, a clonagem e a produção *in vitro* de embriões (PIVE), as TRAs revolucionaram as empresas pecuárias, tornando-as mais eficientes e mais rentáveis (BLONDIN, 2015).

A correlação direta e positiva entre o aumento da produtividade da atividade leiteira no Brasil e os avanços da reprodução animal pode ser expressada pelo crescimento da utilização de técnicas como a IA e a TE. Em 2002, somente 5-6% das novilhas e vacas foram inseminadas, o que representou 7 milhões de IA por ano. Desse total apenas 70.000 foram submetidas a protocolo de sincronização hormonal de cio e inseminação artificial em tempo fixo (IATF), ou seja, 99% foram inseminadas no cio natural. Em 2015 esse número saltou para 13 milhões de IA, o que correspondeu a 10-12% do total de fêmeas com idade reprodutiva, sendo que 77% foram submetidas a IATF (SARTORI et al., 2016). Com relação a TE no cenário mundial, a análise do avanço da utilização da técnica é dividida em dois cenários diferentes, a transferência de embriões produzidos *in vivo* e *in vitro*. A produção de embriões *in vivo* em 1997 foi de 360.656 (PERRY, 1998) e em 2015 foi de 520.535 embriões produzidos por ano (PERRY, 2016). Já a produção *in vitro* de embriões (PIVE) deu um salto de 30.569 embriões produzidos em 1997 (PERRY, 1998), para 404.173 em 2015, sendo 304.946 embriões transferidos a fresco e 99.227 congelados (PERRY, 2016).

Os motivos pelos quais o uso da PIVE tem aumentado significativamente são: ganhos genéticos simultâneos vindos do pai e da mãe (BARUSELLI, et al., 2015), permite que cada fêmea produza até 36 crias/ano (RUMPF, 2007), confere maior biossegurança ao embrião (BLONDIN, 2015) e permite que sejam usadas como doadoras de ovócitos: bezerras pré-púberes, vacas no início de gestação, vacas com problemas de fertilidade adquiridos e vacas com idade avançada (SILVA, 2010). Em contrapartida, a PIVE tem como desvantagens, comparada a produção *in vivo*, a baixa proporção (raramente superior a 40%) de embriões que atingem o estágio de blastocisto, e a taxa de concepção média de somente 40% (NEVES et al., 2010). De cada 100 ovócitos aspirados, apenas 40 são aproveitados para TE, desses 40, só 16 conseguem estabelecer e manter a gestação, isso implica no aumento do custo de cada embrião produzido. Estudos têm sido realizados para compreender os impactos negativos das condições *in vitro* sobre o desenvolvimento fisiológico dos embriões, e assim espera-se aprimorar a técnica (BILODEAU-GOESEELS, 2012).

A coleta de ovócitos para a PIVE pode ser feita por diversas técnicas: punção folicular *post mortem* de ovários de vacas abatidas, por punção folicular *in vivo* por

meio de laparoscopia via flanco ou por aspiração folicular transvaginal guiada por ultrassom, a chamada técnica *ovum pick-up* (OPU) (VARAGO et al., 2008). A OPU é considerada a melhor opção para coleta de ovócitos *in vivo* em fêmeas bovinas (BOLS et al., 2004; GONÇALVES et al., 2007; ANDRADE et al., 2012). A PIVE é composta por três etapas, a maturação *in vitro* (MIV), a fecundação *in vitro* (FIV) e o cultivo *in vitro* (CIV) dos embriões fecundados (NASCIMENTO, 2014).

Na fase de MIV ocorrem mudanças no citoplasma e no núcleo do ovócito, para assim torna-lo apto a fecundação. A maturação nuclear *in vivo* ou fisiológica ocorre durante o estro, após o pico pré-ovulatório de LH, já *in vitro*, essa maturação inicia-se quando se faz a OPU, ou seja, a retirada do ovócito do folículo ovariano (LONERGAN et al., 1994; GONÇALVES et al., 2007; VARAGO et al., 2008). Para que a maturação se complete, após a aspiração folicular, é preciso que a técnica *in vitro* seja capaz de mimetizar o que acontece *in vivo*. Assim, vários meios de cultivo e protocolos de maturação têm sido estudados e testados. Dentre as possibilidades, o meio de cultivo TCM199® é o mais usado e normalmente é suplementado com soro fetal bovino, aminoácidos, bicarbonato de sódio, FSH, LH, estradiol-17 β , piruvato de sódio, lactato, vitaminas e antibióticos (GANDHI et al., 2000; SMETANINA et al., 2000). Além do meio de cultivo, o ambiente (atmosfera gasosa, temperatura e luminosidade) também precisa imitar ao máximo a fisiologia, por isso, todo o processo de maturação acontece dentro estufas com ambiente controlado (39°C, atmosfera com 5% de CO₂, e ar e umidade saturados). O período de maturação varia de 18 a 24 horas (GONÇALVES et al., 2007; VARAGO et al., 2008).

O processo que consiste no contato do espermatozoide com o ovócito e dá origem ao embrião é chamado de fecundação. *In vivo* a fecundação ocorre na tuba uterina. Durante o trajeto do espermatozoide até a tuba, substâncias presentes no sistema reprodutor feminino induzem o processo de capacitação dos espermatozoides. Somente após a capacitação, o espermatozoide é capaz de ligar sua membrana a receptores específicos na zona pelúcida do ovócito. Na FIV, todo esse processo é realizado através de meios, protocolos e ambiente de fecundação que se assemelham ao fisiológico (YANG et al., 1993; ASSUMPÇÃO et al., 2002; GONÇALVES et al., 2007). O meio mais usado é o Fert-TALP (Tyrode-albumina-lactato-piruvato), o período da FIV varia de 18 a 22 horas e a estufa deve estar com

ambiente controlado em 39°C, atmosfera com 5% de CO₂, e ar e umidade saturados (IRITANI e NIWA, 1977; DAYAN, 2001)

Logo após a fecundação o embrião já entra na etapa de CIV. Este é o momento em que o embrião passa por inúmeras clivagens até alcançar o estágio de blastocisto. Os meios de cultivo mais utilizados são o *Whitten* e o *Brinster Medium for Ovum Culture* (BMOC) (GONÇALVES et al., 2007; BUENO E BELTRAN, 2008). Semelhante aos processos de MIV e FIV, é preciso um ambiente controlado (39°C, atmosfera com 5% de O₂, 5% de CO₂ e 90% de N₂ e umidade saturada). A duração média é de 7 dias a partir da data da FIV, ou seja, no final do CIV o embrião está com 7 dias de idade. Ao atingir essa fase, o embrião é envasado em paletas e pela técnica de TE é depositado no útero de fêmeas receptoras.

Para atingir melhores resultados de concepção os embriões são transferidos em receptoras que ovularam, ou seja, apresentaram cio, 7 dias antes da data da TE, pois só assim é possível assegurar que o útero da receptora está pronto para receber um embrião de 7 dias de idade (NASCIMENTO, 2014). Um dos principais entraves para a disseminação da TE é a observação de cio. Para eliminar esse fator limitante foram desenvolvidos protocolos de tratamento hormonal que permitem a transferência de embrião em tempo fixo (TETF). Por essa técnica é possível fazer com que várias receptoras estejam aptas a receberem os embriões ao mesmo tempo (BARUSELLI et al., 2015).

1.3 – Manutenção da gestação

O reconhecimento e a manutenção da gestação estão relacionados a diversos sinais transmitidos do embrião para a mãe. Estes sinais são encarregados de inibir a luteólise do corpo lúteo (CL), e assim possibilitar manutenção da produção da progesterona (P4) (MACHADO et al., 2006). Em níveis adequados, a P4 viabiliza o desenvolvimento do embrião e promove a manutenção da gestação (FRADE, 2012). Mas, se, mesmo sem a luteólise, houver uma disfunção lútea, ou seja o CL não apresentar funcionamento adequado, a concentração plasmática de P4 será baixa, podendo causar a morte embrionária (FONSECA et al., 2001).

Uma das explicações para a disfunção lútea é a correlação inversamente proporcional que existe entre reprodução e produção (SARTORI et al., 2002).

Concentrações plasmáticas de P4, após a ovulação, em vacas de maior produção, tendem a ser mais baixas quando comparadas as vacas de produção inferior (VASCONCELOS et al., 1999). As concentrações de P4 circulantes representam um equilíbrio entre sua produção e sua metabolização, que são principalmente desencadeados pelo corpo lúteo (CL) e pelo fígado respectivamente. Se a produção de P4 aumenta em consequência do crescimento de tecido luteal e não há alteração do fluxo sanguíneo no fígado, então a P4 circulante aumentará. Por outro lado, se houver um aumento no fluxo sanguíneo hepático, haverá uma diminuição de P4 circulante mesmo que a produção de P4 se mantenha a mesma (WILTBANK, 2012).

DISKIN & MORRIS (2008) relataram que, embriões coletados 7 dias depois da fecundação, de vacas de média e alta produção de leite, eram de qualidade inferior quando comparados a embriões coletados de novilhas e vacas secas. De 41 a 67% do total de embriões coletados das vacas de maior produção eram anormais, enquanto que das novilhas e vacas secas, apenas de 17 a 28%. Existe correlação positiva entre as concentrações plasmáticas de P4 em bovinos e o desenvolvimento embrionário e as taxas de concepção até os 30 primeiros dias de gestação (FRADE, 2012).

DEMÉTRIO et al. (2007), mensuraram a produção de leite 7 dias após o estro e a correlacionaram com a possibilidade de manutenção da gestação durante os primeiros 28 dias de prenhez. Eles relataram uma associação inversa entre os fatores estudados, uma vez que vacas leiteiras de maior produção tinham menor probabilidade de manter a gestação até os 28 dias. A ligação negativa entre produção de leite e manutenção da gestação, se dá pelo fato de que vacas que produzem mais leite, comem mais e como resultado há aumento do fluxo sanguíneo no fígado, que faz com que a taxa de metabolização de P4 seja maior. A consequência da alta metabolização é a baixa concentração de P4 circulante (SANGSRITAVONG et al., 2002).

A P4 controla as mudanças no ambiente uterino e influencia positivamente o crescimento embrionário (GEISERT et al., 1992). Além disso, concentrações mais altas de P4, sejam elas fisiológicas (5 dias após a ovulação) ou estimuladas (suplementação), favorecem a secreção de proteínas para o fluido uterino, melhoram o reconhecimento materno da gestação por causa maior concentração de interferon-

tau no lúmen uterino e o embrião é maior aos 14 dias de gestação (GREEN et al., 2005; MANN et al., 2006; CLEMENTE et al., 2009; O'HARA et al., 2014). Os estudos mostram que os métodos mais comumente usados para suplementação de progesterona são, implantes intravaginais de P4 (WILTBANK et al., 2014; LARSON et al., 2007), indução de formação de um segundo corpo lúteo ou formação de corpo lúteo acessório (SANTOS et al., 2001; NASCIMENTO et al., 2013).

A suplementação de P4 para fêmeas bovinas, em um estudo realizado por GEISERT et al. (1988), aumentou a taxa de crescimento embrionário e também sua capacidade de produzir interferon-*tau*. Na literatura existem relatos de várias estratégias para aumentar a concentração plasmática de P4. Por exemplo, BARUSELLI et al. (2004) testaram a administração de 400 UI de eCG (gonadotrofina coriônica equina) em fêmeas zebuínas e constataram aumento das concentrações de P4 sete dias após a ovulação (4,31 vs. 2,22 ng/mL). CORIVEAU et al. (2004) encontraram taxas de sobrevivência embrionária maiores em receptoras de embrião que receberam hCG (gonadotrofina coriônica humana) no dia da transferência de embrião, ou seja de 7 a 8 depois do estro. LOPEZ-GATIUS et al. (2006), fizeram um estudo em que foi administrado GnRH (hormônio liberador de gonadotrofina) no dia da inseminação artificial (IA) e como resultado obtiveram aumento na taxa de concepção de vacas de leite de alta produção durante a estação quente do ano.

A P4 se faz necessária para o sucesso do estabelecimento e manutenção da gestação, mas nem todos os estudos mostram uma associação positiva entre maior concentração de P4 circulante e melhoria na fertilidade (PARR et al., 2012; MANN & LAMMING, 1999). Os efeitos positivos sobre a fertilidade, em decorrência do aumento na concentração de P4, talvez estejam relacionados não só apenas a concentração absoluta de P4, mas também a algum outro fator crítico na regulação da fertilidade (STRONGE et al., 2005).

1.4 – Hormônio liberador das gonadotrofinas (GnRH)

O hormônio liberador das gonadotrofinas (GnRH) é um decapeptídeo sintetizado pelo hipotálamo, que age sobre a hipófise e leva à liberação dos hormônios LH (hormônio luteinizante) e FSH (hormônio folículo-estimulante), que atuam na fisiologia

ovariana das fêmeas bovinas (SPINOSA et al., 2006). Existem diversas estratégias de uso do GnRH, cada estratégia visa um efeito específico.

Após a IA, o uso do GnRH, aumentou a secreção de P4, por causa do efeito luteotrópico (KERBLER et al., 1997; SANTOS et al., 2001), e/ou a induziu a formação do corpo lúteo acessório (CLa), que por sua vez, aumentou a concentração de P4 e potencialmente a taxa de concepção (SCHMITT et al., 1996; FONSECA et al., 2001; SANTOS et al., 2001). A taxa de concepção na TETF de embriões produzidos *in vitro* é positivamente influenciada pela manifestação do comportamento de estro e pelas concentrações de P4 no momento da transferência do embrião (FRADE, 2012). GARCIA-ISPIERTO et al. (2006) concluíram que vacas com mais de um CL tinham 32% menos chance de perder a gestação do que vacas com somente um corpo lúteo.

Resultados que contradizem os relatos acima foram encontrados em outros estudos. Um deles demonstrou que apesar de seu efeito positivo sobre a concentração de P4, a aplicação do GnRH não teve influência sobre a taxa de concepção da TETF (VASCONCELOS et al., 2011) com relação ao controle. Outro estudo, mostrou que a administração de buserelina (análogo do GnRH) aumentou o número de CLa, mas não foi capaz de aumentar as concentrações de P4 e a taxa de concepção (PINTO, 2013). COLAZO et al., (2009a) constatou que a aplicação de gonadorelina (análogo do GnRH) foi capaz de aumentar a concentração e o pico de LH, porém a concentração de P4 foi maior no grupo controle.

O uso do GnRH como ferramenta para melhorar os índices reprodutivos tem sido bastante estudado, porém os resultados são bastante controversos (HENRICKS et al., 1971; MANN e LAMMING, 1999; MANN et al., 2003; NOGUEIRA et al., 2004; McNEIL et al., 2006; STARBUCK et al., 2006; DEMÉTRIO et al., 2007) e ainda há muita inconsistência sobre o fato de que estímulos para aumentar a P4 sejam efetivos em aumentar as taxas de concepção (HOWARD et al., 2006). As variações nos resultados encontrados na literatura são reflexo das diversas estratégias metodológicas adotadas, como por exemplo, qual o análogo de GnRH foi utilizado, qual a dose e qual o momento da aplicação, e das individualidades de cada experimento (BINELLI et al., 2001; MACHADO, 2005; MARQUES, 2002). Mais estudos nessa área são necessários, principalmente estudos que contemplam as mais distintas situações, como por exemplo, diferentes fazendas e diferentes raças de

embriões e de receptoras. Só assim será possível traçar uma linha de consistência de resultados e efetivamente contribuir para a melhoria das taxas de concepção e perda gestacional da técnica de transferência de embrião em tempo fixo.

III – MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 – Local

Este trabalho foi realizado de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal, aprovado pela Comissão de Ética na Utilização de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Uberlândia (UFU) sob o número de protocolo 041/14.

O estudo foi realizado em 11 fazendas comerciais, na região de Uberlândia-MG, de julho de 2015 a julho de 2016. O clima, segundo a classificação de Köppen, é do tipo Aw, megatérmico, com verões quentes e chuvosos (de outubro a março) e invernos frios e secos (de abril a setembro) (ROSA et al., 1991). Em julho de 2015 a média de temperatura foi de 23,3°C e de umidade relativa do ar de 74,6%, agosto de 2015, 26,5°C e 54,6%, setembro 23,9°C e 69,9%, outubro 22,9°C e 79,6%, novembro 23,5°C e 73,4%, dezembro 21,1°C e 71,3%, janeiro de 2016 20,8°C e 63,6%, fevereiro 21,6°C e 56,5%, março 22,2°C e 40,6%, abril 25,8°C e 45,3%, maio 25,8°C e 45,3%, junho 25,8°C e 45,3% e julho 25,8°C e 45,3% (IGUFU, 2017).

3.2 – Doadoras e embriões

Foram utilizadas 144 doadoras de ovócitos e sêmen de 38 touros. As doadoras não foram submetidas a nenhum protocolo hormonal e seus ovócitos foram colhidos pelo método OPU (*ovum Pick-up*) no dia 10 do protocolo (Figura 01). Cada doadora tinha um intervalo de descanso de, pelo menos, 2 meses entre as aspirações.

Todos os embriões foram produzidos pelo método PIVE. Os embriões foram classificados pelos laboratórios por seu estágio de desenvolvimento (1 a 9) e por sua qualidade morfológica (1 a 4) (IETS, 2014). Para as TETF foram usados apenas embriões de qualidade morfológica grau 1 e nos estágios de desenvolvimento 3 (mórula), 4 (blastocisto inicial), 5 (blastocisto), 6 (blastocisto expandido), 7 (blastocisto em eclosão) ou 8 (blastocisto eclodido) (BÓ E MAPLETOFT, 2013). A raça dos embriões variou de raça Nelore, Girolando e Gir. Os embriões foram transferidos a fresco de acordo com a ordem em que estavam alocados na transportadora de embriões.

3.3 – Receptoras e tratamento

Para entrarem no programa TETF as receptoras não podiam apresentar nenhum sinal clínico de doença. Além disso, deveriam estar, com escore de condição corporal (ECC) entre 3 e 3,75, numa escala de 1 a 5 (KLOPČIČ et. al., 2011). No dia 18 da TETF (Figura 01), as receptoras foram submetidas a um exame de ultrassonografia transretal e foram consideradas aptas ao procedimento de TETF somente aquelas que apresentassem pelo menos um corpo lúteo (CL) em um dos ovários. Os embriões foram depositados no corno uterino ipsilateral ao ovário que continha o CL. Todas as transferências foram realizadas na ordem em que as receptoras foram colocadas na contenção. As avaliações de saúde, ECC e ovários foram realizadas pelo mesmo médico veterinário, assim como todas as inovulações e diagnósticos de gestação.

O protocolo hormonal utilizado para sincronização da ovulação das receptoras foi: D0: inserção do dispositivo intravaginal de progesterona novo (CIDR[®], Zoetis, São Paulo-SP) e aplicação intramuscular de 2,0 mg de benzoato de estradiol (Sincrodiol[®], Ourofino, Cravinhos-SP); D7: aplicação intramuscular de 0,526 mg de cloprostenol sódico (Sincrocio[®], Ourofino, Cravinhos-SP); D9—aplicação intramuscular de 0,526 mg de cloprostenol sódico (Sincrocio[®], Ourofino, Cravinhos-SP) + 1 mg de cipionato de estradiol (E.C.P. [®], Zoetis, São Paulo-SP) + retirada do dispositivo intravaginal; D18: TETF + aplicação intramuscular de 0,1 mg de gonadorelina (Fertagyl[®], MSD, Cruzeiro-SP) ou não (Figura 01).

As receptoras foram divididas em 2 grupos no dia da TETF. As 5 primeiras receberam análogo de GnRH (Fertagyl[®], MSD, Cruzeiro-SP): Grupo tratado (n = 624) e as 5 seguintes não recebiam nenhum tipo de aplicação: Grupo Controle (n = 687), e assim sucessivamente até o fim da TETF.

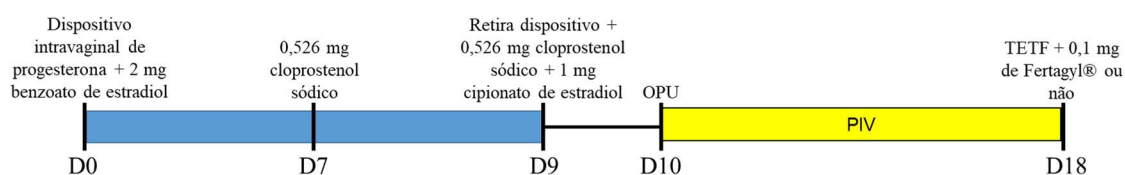


Figura 01 – Representação esquemática do protocolo hormonal utilizado para sincronizar a ovulação das receptoras de embrião e da cronologia das ações realizadas para a TETF

3.4 – Diagnósticos de gestação

O diagnóstico de gestação foi feito por exame de ultrassonografia transretal, 23 ± 5 dias após as TETF. Em torno de 30 ± 5 dias depois, os animais positivos no primeiro diagnóstico foram reexaminados para confirmar a gestação. A taxa de concepção aos 30 dias de gestação (DG30) foi calculada dividindo o número de animais gestantes na primeira avaliação pelo número total de TETF. A taxa de concepção aos 60 dias de gestação (DG60) foi calculada dividindo o número de animais gestantes na segunda avaliação pelo número total de TETF. Já a taxa de perda gestacional (PGest) foi calculada dividindo o número de perdas gestacionais entre o DG30 e o DG60 pelo número de animais gestantes no DG30, e o resultado dessa divisão foi multiplicado 100%.

3.5 – Avaliações

Foram coletados os seguintes dados: tratamento (aplicação ou não de 0,1 mg de gonadorelina no momento da inovulação na TETF), estação do ano da TETF, fazenda, laboratório, raça da receptora, categoria da receptora, estágio do embrião, raça do embrião, estruturas do ovário que continha o CL e qualidade do CL.

As estações das TETF foram avaliadas separadamente, mês a mês, durante todo o experimento. A composição racial das doadoras variou entre Nelore, Girolando e sem raça definida. As receptoras, foram divididas em 4 categorias: vacas em lactação, novilhas, vacas paridas e receptoras (fêmeas utilizadas exclusivamente como receptoras).

Os ovários foram avaliados no dia da TETF de acordo com suas estruturas e os CL foram avaliados de acordo com o tamanho de sua massa e sua ecogenicidade no exame de ultrassom. Assim, foi possível classificar os ovários em: ovário com CL de massa compacta e sem presença de folículo dominante, ovário com CL de massa com cavidade e sem presença de folículo dominante e ovário com CL de massa compacta ou com cavidade e presença de folículo dominante. Já a qualidade dos CL foi classificada em três graus diferentes. Grau 1: CL hiperecogênico e de tamanho de massa grande. Grau 2: CL hiperecogênico e de tamanho de massa médio ou pequeno, ou CL hipoecogênico, e tamanho de massa grande. Grau 3: CL hipoecogênico e tamanho de massa médio ou pequeno.

3.6 - Análises

Os dados com distribuição binomial foram avaliados por regressão logística multivariada, usando o procedimento GLIMMIX do SAS, versão 9.2 (SAS/STAT, SAS Institute Inc., Cary, NC). No modelo inicial foram avaliados os efeitos das seguintes variáveis: tratamento, estação do ano da TETF, categoria da receptora, fazenda, laboratório, raça da receptora, estágio do embrião, raça do embrião, qualidade do CL e estruturas do ovário, bem como as possíveis interações, sob o DG30, DG60 e a PGest. No modelo de regressão logística final foram mantidas as seguintes variáveis, tratamento, estação do ano, categoria da receptora e fazenda, as demais foram removidas por *backward elimination* baseando-se no critério de Wald para $P > 0,20$. Como não foram detectados efeitos das possíveis interações, elas também foram retiradas do modelo final. A significância estatística foi estabelecida em $P \leq 0,05$, e tendência estatística em $0,05 < P \leq 0,10$.

IV – RESULTADOS

As variáveis laboratório, raça da receptora, raça do embrião, estágio de desenvolvimento do embrião, estruturas do ovário e qualidade do CL não influenciaram e nem tendem a influenciar ($P \geq 0,1$) as variáveis DG30, DG60 e PGest (Tabela 01).

Tabela 01 – Efeito do laboratório de PIVE, raça da receptora, raça do embrião, estágio de desenvolvimento do embrião, estruturas do ovário e qualidade do CL na taxa de concepção aos 30 e aos 60 dias e na perda de gestação, em receptoras de embrião de várias categorias e em 11 fazendas distintas da região de Uberlândia – MG.

Grupos		Taxa de concepção aos 30 dias	Taxa de concepção aos 60 dias	Perda de gestação
Laboratório	1	45% (9/20)	45% (9/20)	0% (0/20)
	2	23% (3/13)	23% (3/13)	0% (0/13)
	3	43% (547/1278)	40% (517/1278)	5% (30/547)
Raça da receptora	Corte	43% (493/1148)	40% (463/1148)	6% (30/493)
	Girolando	44% (61/139)	44% (61/139)	0% (0/139)
	Nelore	21% (5/24)	21% (5/24)	0% (0/24)
Estádio de desenvolvimento do embrião	BE	41% (13/32)	38% (12/32)	8% (1/13)
	BI	34% (33/97)	34% (33/97)	0% (0/33)
	BL	38% (87/230)	36% (82/230)	6% (5/87)
	BN	43% (45/104)	39% (41/104)	9% (4/45)
	BX	45% (381/848)	43% (361/848)	5% (20/381)
Raça do embrião	Gir	46% (215/530)	38% (203/530)	6% (12/215)
	Girolando	43% (305/701)	29% (287/701)	6% (18/305)
	Nelore	55% (36/65)	55% (36/65)	0% (0/65)
Estrutura do ovário	CL cavitário	44% (82/184)	42% (78/184)	5% (4/82)
	CL	42% (436/1035)	40% (411/1035)	6% (25/436)
	CL + FOL	44% (41/92)	43% (40/92)	2% (1/41)
Qualidade do CL	1	41% (26/64)	41% (26/64)	0% (0/26)
	2	44% (203/457)	43% (197/457)	3% (6/203)
	3	42% (330/790)	39% (306/790)	7% (24/330)

A variável tratamento afetou tanto DG30 ($P = 0,03$), quanto DG60 ($P = 0,01$). Já na PGest foi detectada apenas tendência de efeito do tratamento ($P = 0,09$) (Tabela 02). Foi detectada também tendência da categoria da receptora afetar DG30 ($P = 0,06$) e DG60 ($P = 0,06$) (Tabela 03).

Tabela 02 – Efeito da aplicação de análogo de GnRH (Fertagyl®), no momento da inovulação na TETF, na taxa de concepção aos 30 e aos 60 dias e na perda de gestação, em receptoras de embrião de várias categorias e em 11 fazendas distintas da região de Uberlândia – MG.

Grupos	Taxa de concepção aos 30 dias	Taxa de concepção aos 60 dias	Perda de gestação
Controle	40% (247/624) ^A	37% (230/624) ^A	7% (17/247) ^C
Tratamento	45% (312/687) ^B	43% (299/687) ^B	4% (13/312) ^C
Valor de P	0,03	0,01	0,09

*Letras distintas na mesma coluna representam diferença estatística significativa entre os dados ($P < 0,05$).

Tabela 03 – Efeito da categoria da receptora de TETF na taxa de concepção aos 30 e aos 60 dias de gestação, em 11 fazendas distintas da região de Uberlândia – MG.

Grupos	Taxa de concepção aos 30 dias	Taxa de concepção aos 60 dias
Novilhas	45% (274/607) ^A	41% (252/607) ^A
Paridas	40% (39/98) ^A	38% (37/98) ^A
Receptoras	40% (207/518) ^A	39% (201/518) ^A
Vacas lactação	43% (30/69) ^A	43% (30/69) ^A
Vacas secas	47% (9/19) ^A	47% (9/19) ^A
Valor de P	0,06	0,06

*Letras distintas na mesma coluna representam diferença estatística significativa entre os dados ($P < 0,05$).

No verão foram avaliadas 373 TETF, no outono foram 248 avaliações, no inverno e na primavera, 288 e 402 avaliações, respectivamente (Figura 01).

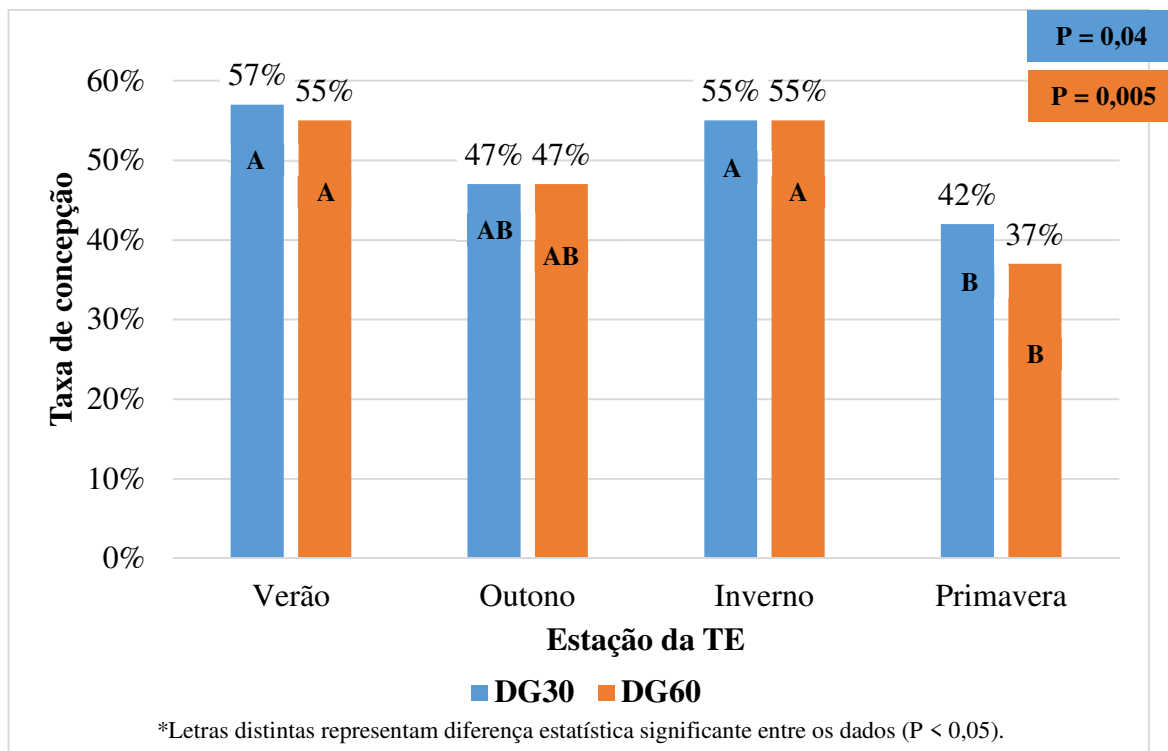


Figura 01 – Média de taxa de concepção aos 30 ($P = 0,04$) e aos 60 ($P = 0,005$) dias de gestação de acordo com a estação do ano em que foram realizadas as transferências de embriões.

As fazendas em que as TETF foram realizadas tiveram efeito tanto sobre a taxa de concepção aos 30 dias de gestação ($P < 0,0001$) quanto sobre a taxa de concepção aos 60 dias de gestação ($P < 0,0001$). As médias de taxa de concepção aos 30 dias e aos 60 dias de gestação estão representadas na Figura 02.

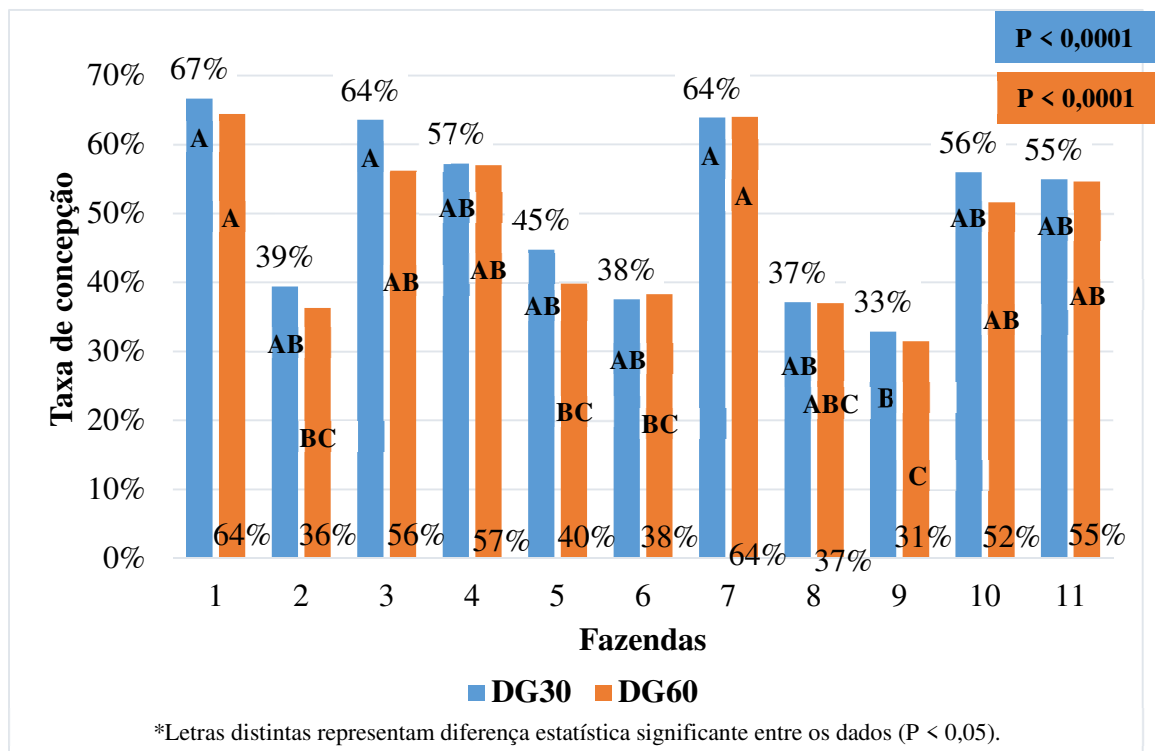


Figura 02 – Média de taxa de concepção aos 30 ($P < 0,0001$) e aos 60 ($P < 0,0001$) dias de gestação de acordo com as fazendas em que foram realizadas as transferências de embriões.

V – DISCUSSÃO

O tratamento aumentou a taxa de concepção aos 30 ($P = 0,03$) e aos 60 dias ($P = 0,01$) e tendeu a diminuir ($P = 0,09$) a perda de gestação. Animais que receberam análogo de GnRH (Fertagyl[®]), no dia da TETF, tiveram 5,8% e 6,6% a mais de taxa de concepção aos 30 e aos 60 dias de gestação, respectivamente. Além disso, fêmeas que receberam o tratamento tiveram 2,7% a menos de perda de gestação do que as que não receberam.

MACHADO et al. (2006) descreveram que a administração de GnRH e seus análogos, entre o dia 4 e 7 após o cio, estimulam a liberação de gonadotrofinas endógenas e, como efeito indireto, provocam a luteinização de folículos dominantes e como consequência tem-se o aumento da produção de P4. O incremento na produção de P4 é capaz de aumentar a taxa de crescimento embrionário e, assim aumentar sua capacidade de produzir interferon-tau. Dessa forma, fêmeas com concentração de P4 maiores, favorecem o bloqueio da luteólise e a reduzem a mortalidade embrionária precoce (GEISERT et al., 1988). MARQUES (2002) demonstrou que receptoras que receberam GnRH no dia da TETF (7 dias após o cio), tiveram taxa de concepção maiores.

Em contrapartida aos resultados obtidos e aos trabalhos acima citados, BINELLI et al. (2001); MACHADO (2005); MARQUES (2002), relataram que o uso de GnRH como agente luteotrófico apesar de aumentar a concentração de P4 nem sempre está associado a um incremento na taxa de concepção. VASCONCELOS et. al. (2014) não observaram diferença entre as taxas de concepção aos 30 e aos 60 dias de fêmeas tratadas ou não tratadas com análogo de GnRH no dia da TETF. MONTEIRO et. al. (2015), relataram ainda que receptoras suplementadas com P4 (com um dispositivo intravaginal de progesterona 4 dias antes da inovulação do embrião e retirada 10 dias depois ou no dia da inovulação), tiveram incremento nas concentrações de P4 mas reduziram a taxa de prenhez por transferência de embrião (P/TE).

As variáveis fazenda e estação da TETF também influenciaram a taxa de concepção aos 30 e aos 60 dias. A diferença, entre a maior e a menor taxa de concepção aos 30 e aos 60 dias, foi de 34% e 36%, respectivamente. Verão e inverno foram as estações com melhores resultados de taxas de concepção. Primavera foi a pior e o outono foi estatisticamente semelhante tanto a verão e inverno, quanto a primavera.

A interferência da variável fazenda pode ser consequência de diversos fatores individuais de cada propriedade, como por exemplo, o conforto térmico oferecido as receptoras e o histórico reprodutivo delas. FERRAZ et. al. (2016) demonstraram que todas as receptoras de embrião, tanto novilhas como vacas paridas, sofrem interferência do estresse térmico na taxa de concepção. Novilhas sobre THI (índice de temperatura e umidade) abaixo de 80 tiveram taxa de concepção de 43,9%, contra 37% das fêmeas sobre THI igual ou acima de 80. Já nas paridas, o efeito negativo do estresse térmico na taxa de concepção foi evidente em níveis de THI mais baixos, ou seja, vacas são mais sensíveis às variações de temperatura e umidade, quando comparadas às novilhas. Vacas com THI abaixo de 72 tiveram taxa de concepção de 36,8%, enquanto que as que estavam sobre THI acima de 72 e abaixo de 80, tiveram taxa de 32,5%. E as sobre THI igual ou maior que 80, foram semelhantes as com THI acima de 72, apresentaram taxa de concepção de 31,7%.

Com relação ao histórico reprodutivo, FERRAZ et al. (2016), relataram que receptoras que tiveram metrite no pós-parto, apresentaram taxa de concepção menor quando comparadas com vacas que não tiveram, assim como, receptoras que tiveram parto distócico apresentaram taxa de concepção inferior do que e as que tiveram parto normal. Apesar de que no presente estudo não foram avaliados os históricos reprodutivos das fêmeas utilizadas como receptoras, não se pode descartar o fato de que animais eram de diferentes propriedades, e submetidos a manejos diferentes (vacinas, desafios sanitários e nutrição) e em consequência disso podem apresentar diferentes históricos. Além disso, algumas fazendas usaram mais novilhas e outras mais vacas, e isso pode ter sido também uma das causas da discrepância dos resultados encontrados entre as propriedades.

A categoria das receptoras tendeu a influenciar a taxa de concepção aos 30 e 60 dias ($P = 0,06$). As diferenças encontradas também haviam sido detectadas por McMILLAN (1998). Ele avaliou a influência da receptora na taxa de concepção até os 60 dias de gestação e concluiu que o ambiente uterino é o fator de interferência dominante no desenvolvimento embrionário precoce, pois o ambiente favorável proporciona melhores condições para a implantação e para o crescimento embrionário inicial. Uma das diferenças do meio uterino, entre vacas e novilhas, é a concentração do fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-I), importante para o desenvolvimento do embrião. Novilhas no momento do estro e no início da fase lútea possuem altas concentrações de IGF-I, já as vacas têm menor concentração circulante de IGF-I (SWANGCHAN-UTHAI et al., 2011).

Era esperado que as variáveis estação do ano em que a TETF foi realizada e fazenda influenciassem as taxas de concepção nos diagnósticos de 30 e 60 dias. Com relação ao tratamento, não foi possível ter expectativas sobre o resultado, pois como já demonstrado acima, existe muita inconsistência. Certamente as divergências de resultados se devem as diferentes realidades em que os estudos foram realizados e aos diferentes análogos de GnRH utilizados.

A diversidade das amostragens do atual estudo aumenta a confiabilidade dos resultados e nas circunstâncias em que este foi desenvolvido, foi possível comprovar que, independentemente da fazenda, da estação da TETF, da categoria da receptora, da raça da receptora, da raça do embrião, do laboratório, do estágio do embrião, da qualidade do CL da receptora e das estruturas do ovário da receptora, a aplicação de 1 ml de gonadorelina (Fertagyl®), no momento da inovulação da TETF, incrementa, em média, 5,8% a taxa de concepção aos 30 dias ($P = 0,03$) e 6,6% a taxa de concepção aos 60 dias ($P = 0,01$).

VI – CONCLUSÕES

Conclui-se que a aplicação de gonadorelina (análogo de GnRH) no momento da inovulação em tempo fixo de embriões bovinos produzidos *in vitro* aumenta a taxa de concepção no diagnóstico de gestação aos 30 e aos 60 dias, e tende a reduzir a taxa de perda gestacional (PGest). A estação do ano e a fazenda em que as TETF foram realizadas influenciaram na taxa de concepção aos 30 dias aos 60 dias.

VII – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Andrade, G. A.; Fernandes, M. A.; Knychala, R. M.; Pereira Júnior, 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, p.66-69, 2012.

ANUALPEC. Anuário da pecuária brasileira. São Paulo: Instituto FNP, 2012.

Associação brasileira dos criadores de girolando. Evolução dos índices zootécnicos do rebanho Girolando (de 1989 a 2015). 2016.

Assumpção, M. E. O. D.; Haipeck, K.; Lima, A. L.; Mello, M. R. B.; Oliveira, L. J.; Oliveira, V. P.; Tavares, L. M. T.; Visintin, J. A. Capacitação espermática in vitro com heparina e cálcio ionóforo e sua correlação com a fertilidade em touros. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, São Paulo, v.39, p.149-156, 2002.

<https://doi.org/10.1590/S1413-95962002000300008>

BARUSELLI, P. S.; REIS, E. L.; CARVALHO, N. A. T.; CARVALHO, J. B. P. eCG increase ovulation rate and plasmatic progesterone concentration in Nelore (*Bos indicus*) heifers treated with progesterone releasing device. *Anais.. Belo Horizonte, MG*. 2004.

BARUSELLI, P. S.; VIEIRA, L. M.; BATISTA, R. M.; FERREIRA, R. M.; SALES, J. N. S.; GIMENES, L. U.; TORRES-JUNIOR, J. R. S.; MARTINS, C. M.; SÁ FILHO, M. F.; BÓ, G. A. Updates on embryo production strategies. In: XXIX Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões (SBTE). *Anais... Gramado, RS*. 2015. Disponível em: <
<http://itpack31.itarget.com.br/uploads/sbt/arquivos/ProceedingsSBTE%202015.pdf>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

Baruselli, P. S.; Marques, M. O.; Vieira, L. M.; Konrad, J. L.; Crudeli, G. A. Aplicación de biotecnologías para una mayor producción de terneros. *Revista veterinaria, Corrientes*, v. 26, n. 2, p. 154 – 159, 2015.

BOLS, P. E. J.; LEROY, J. L. M. R.; VANHOLDER, T.; SOOM, A. V. A comparison of a mechanical sector and a linear array transducer for ultrasound-guided transvaginal oocyte retrieval (OPU) in the cow. *Theriogenology*, Estados Unidos da América, v.62, p.906-914, 2004.

<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2003.12.016>

Bilodeau-Goeseels, S. Bovine oocyte meiotic inhibition before in vitro maturation and its value to in vitro production: does it improve developmental competence?

Reproduction in Domestic Animals, Alemanha, v. 47, n. 4, p. 687-693, 2012.

Binelli, M.; Thatcher, W. W.; Mattos, R.; Baruselli, P. S. Antiluteolytic strategies to improve fertility in cattle. *Theriogenology*, Estados Unidos da América, v. 52, p. 1451-1463, 2001.

BLONDIN, P. Status da produção de embriões no mundo. In: XXIX Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões. Anais... Gramado, RS. 2015.

Disponível em: <

<http://itpack31.itarget.com.br/uploads/sbt/arquivos/ProceedingsSBTE%202015.pdf>>.

Acesso em: 25 jan. 2017.

BÓ, G. A.; MAPLETOFT, R. J. Evaluation and classification of bovine embryos.

Animal Reproduction, Belo Horizonte, v.10, n.3, p.168-173, Jul./Sept. 2013.

Disponível em:

<[http://www.cbra.org.br/pages/publicacoes/animalreproduction/issues/download/v10n3/p344-348%20\(AR628\).pdf](http://www.cbra.org.br/pages/publicacoes/animalreproduction/issues/download/v10n3/p344-348%20(AR628).pdf)>. Acesso em: 26 mar. 2016.

Bueno, A. P.; Beltran, M. P. Produção in vitro de embriões bovinos. *Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária*, São Paulo, n.11, p.1-7, 2008.

BURNS, B. M.; FORDYCEB, G.; HOLROYDA, R.G. A review of factors that impact on the capacity of beef cattle females to conceive, maintain a pregnancy and wean a calf—Implications for reproductive efficiency in northern Australia. *Animal Reproduction Science*, Holanda, v. 122, p. 1-22, 2010.

<https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2010.04.010>

Carneiro, M. A.; Machdo, R.; Barbosa, R. T. Eficiência reprodutiva em vacas leiteiras. EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Circular técnica 64, p. 1 – 12, São Carlos, 2010.

Colazo, M. G.; Ree, T. O.; Emmanuel, D. G.; Ambrose, D. J. Plasma luteinizing hormone concentrations in cows given repeated treatments of three different doses of gonadotropin releasing hormone. *Theriogenology*, Estados Unidos da América, v. 71, n. 6, p. 984-992, 2009.

COMMITTEE ON BOVINE REPRODUCTIVE NOMENCLATURE, Recommendations for standardizing bovine reproductive terms. *Cornell, New York, Vet.* 62, p. 217–237, 1972.

CONAB. Companhia nacional de abastecimento. Leite e derivados. Conjuntura mensal. Março, 2016. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16_04_12_14_04_46_leite_marco_2016.pdf>. Acesso em: 20 de jan. 2017.

CAN. Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil. Brasil pode se tornar o maior produtor de carne bovina do mundo. Central de comunicação. Julho, 2016. Disponível em: <<http://www.cnabrazil.org.br/noticias/brasil-pode-se-tornar-o-maior-produtor-de-carne-bovina-do-mundo>>. Acesso em: 30 jan. 2017.

CLEMENTE, M.; DE LA FUENTE, J.; FAIR, T.; AL NAIB, A.; GUTIERREZ-ADAN, A.; ROCHE, J. F.; RIZOS, D.; LONERGAN, P. Progesterone and conceptus elongation in cattle: a direct effect on the embryo or an indirect effect via the endometrium? *Reproduction*, Inglaterra, v. 138, n. 3, p. 507-17, 2009.

<https://doi.org/10.1530/REP-09-0152>

Coriveau, A.; Lapointe, J. F.; Plante, H. The use of hCG in embryo transfer. In: XXIII World Buiatrics Congress, 2004, Quebec. Abstracts... Quebec: WSB, 2004, p.27.

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

Demetrio, D. G. SANTOS, R. M.; DEMETRIO, C. G.; VASCONCELOS, J. L. Factors affecting conception rates following artificial insemination or embryo transfer in lactating Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, Estados Unidos da América, v. 90, p. 5073-5082, 2007.

Diskin, M. G.; Morris, D. G. Embryonic and early foetal losses in cattle and other ruminants. *Reproduction in Domestic Animals*, Alemanha, v.43, n.2, p.260-267, 2008.

Dunne, L. D.; Diskin, M. G.; Sreenan, J. M. Embryo and foetal loss in beef heifers between day 14 of gestation and full term. *Animal Reproduction Science*, Holanda, v.58, n.1, p. 39 – 44, 2000.

EMBRAPA. Empresa brasileira de pesquisa agropecuária. Indicadores: Leite e Derivados. Ano 7, n. 58, set/2016. Disponível em: <http://www.cileite.com.br/sites/default/files/2016_09_Indicadores_leite.pdf>. Acesso em: 20 dez. 2016.

FAVERO, R. J. Methods of fertility enhancement and control of beef females. 1992. 213 p. Thesis (Ph. D.) – University of Illinois at Urbana – Champaign.

FERRAZ, P. A.; BURNLEY, C.; KARANJA, J.; VIEIRA-NETO, A.; SANTOS, J. E. P.; CHEBEL, R. C.; GALVÃO, K. N. Factors affecting the success of a large embryo transfer program in Holstein cattle in a commercial herd in the southeast region of the United States. *Theriogenology*, Estados Unidos da América, v. 86, n. 7, p. 1834-1841, 2016.

<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.05.032>

Fonseca, J. F.; Silva Filho, J. M.; Palhares, M. S.; Ruas, J. R. M.; Pinto Neto, A. Concentração plasmática de progesterona em novilhas receptoras submetidas à administração de rbST, GnRH ou hCG no quinto dia do ciclo estral. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.*, Belo Horizonte, v.53, p.451-458, 2001.

FRADE, M. C. Efeito da concentração pós-ovulatória de progesterona nas taxas de concepção de vacas zebuínas submetidas à IATF e novilhas cruzadas submetidas à

TETF. 2012. 90f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Curso Ciência Animal, Faculdade de Medicina Veterinária – UNESP, campus Araçatuba.

Gaines, J.D. Proceedings for annual meeting. Kansas City : Society for Theriogenology, 1994. Analysis of reproductive efficiency of dairy herds: p.86-107

Gandhi, A. P.; Lane, M.; Gardner, D. K.; Krisher, R. L. A single medium supports development of bovine embryos throughout maturation, fertilization and culture. Human Reproduction, Inglaterra, v.15, p.395-401, 2000.

Garcia-Ispuerto, I.; López-Gatiús, F.; Santolaria, P.; Yániz, J. L.; Nogareda, C.; López-Béjar, M.; De Rensis, F. Relationship between heat stress during the peri-implantation period and early fetal loss in dairy cattle. Theriogenology, Estados Unidos, v. 65, n. 4, p. 799-807, 2006.

Geisert, R. D.; Zavy, M. T.; Biggers, B. G.; Garret, J. E.; Wettemann, R. P. Characterization of the uterine environment during early conceptus expansion in the bovine. Animal Reproduction Science, Holanda, v.16, n.1, p.11- 25, 1988.

Geisert, R. D.; Short, E. C.; Zavy, M. C. Maternal recognition of pregnancy. Animal Reproduction Science, Holanda, v. 28, p. 287 – 298, 1992.

Gonçalves, P. B. D.; Barreta, M. B.; Sandri, L. R.; Ferreira, R. ANTONIAZZI, A. Q. Produção in vitro de embriões bovinos: o estado da arte. Revista Brasileira de Reprodução Animal, Belo Horizonte, v.31, p.212-217, 2007.

Green, M. P.; Hunter, M. G.; Mann, G. E. Relationships between maternal hormone secretion and embryo development on day 5 of pregnancy in dairy cows. Animal Reproduction Science, Holanda, v.88, p.179-189, 2005.

Henricks, D. M.; Lamond, D. R.; Hill, J. R.; Dickey, J. F. Plasma progesterone concentrations before mating and in early pregnancy in the beef heifers. Journal of Animal Science, Estados Unidos da América, v. 33, p. 450 – 454, 1971.

Hill, I. D. Reprodução com metas de precocidade marca o programa da Jacarezinho. Revista Pecuária de corte, p.19 – 26, 1998.

Howard, J. M.; Manzo, R.; Dalton, J. C.; Frago, F.; Ahmadzadeh, A. Conception rates and serum progesterone concentration in dairy cattle administered gonadotropin

releasing hormone 5 days after artificial insemination. *Animal Reproduction Science*, Holanda, v. 95, p. 224-233, 2006.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo Agropecuário, 2006.

IBGE1. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Projeção da população do Brasil e das Unidades da Federação. Indicadores IBGE, Brasília, 2017. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/apps/populacao/projecao/>>. Acesso em: 20 mar. 2017.

IBGE2. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Estatística da Produção Pecuária – Março 2017. Indicadores IBGE, Brasília, 2017. Disponível em: <ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Pecuaria/Fasciculo_Indicadores_IBGE/abate-leite-couro-ovos_201604caderno.pdf>. Acesso em: 20 mar. 2017.

IETS. International embryo transfer society. Statistics and data retrieval committee report. *Embryo Transfer Newsletter*, Champaign, v. 4, n. 2, 2014.

IGUFU - Instituto de Geografia da Universidade Federal de Uberlândia. Localizado em: Av. João Naves de Ávila, 2121 - Bloco 1H – Sala 1H 18A, Campus Santa Mônica - Uberlândia - MG - CEP 38400-902. Acesso em: 20 fev. 2017.

Iritani, A.; Niwa, K. Capacitation of bull spermatozoa and fertilization in vitro of cattle follicular oocytes matured in culture. *Journal of reproduction and fertility*, Inglaterra, v.50, p.119-121, 1977.

Kerbler, T.L.; Buhr, M.M.; Jordan, L.T.; Leslie, K. E.; Walton, J. S. Relationship between maternal plasma progesterone concentration and interferon-Tau synthesis by the conceptus in cattle. *Theriogenology*, Estados Unidos da América, v.47, p.703-714, 1997.

KLOPČIČ, M.; HAMOEN, A.; BEWLEY, J. Body condition scoring of dairy cows. University of Ljubljana Biotechnical Faculty, Slovenia, p.1-44, 2011. Disponível em: <https://rodica.bf.uni-lj.si/web/gov/pub/2011_Klopčic_et_al_Body_condition_of_dairy_cows.pdf>. Acesso em: 18 mai. 2017.

Larson S. F.; Butler, W. R.; Currie, W. B. Pregnancy rates in lactating dairy cattle following supplementation of progesterone after artificial insemination. *Animal Reproduction Science*, Holanda, v. 102, p. 172-9, 2007.

Lima, F. S.; De Vries, A.; Risco, C. A.; Santos, J. E. P.; Thatcher, W. W. Economic comparison of natural service and timed artificial insemination breeding programs in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, Estados Unidos da América, v. 93, p. 4404-4413, 2010.

Lonergan, P.; Monaghan, P.; Rizos, D.; Boland, M. P.; Gordon, I. Effect of follicle size on bovine oocyte quality and developmental competence following maturation, fertilization, and culture in vitro. *Molecular Reproduction and Development*, Estados Unidos da América, v.37, p.48-53, 1994.

LOPEZ-GATIUS, F.; SANTOLARIA, P.; MARTINO, A.; DELÉTANG, F.; DE RENSIS, F. The effects of GnRH treatment at the time of AI and 12 days later on reproductive performance of high producing dairy cows during the warm season in northeastern Spain. *Theriogenology*, Estados Unidos da América, v. 65, n. 4, p. 820-830, 2006.
<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.07.002>

MAPA. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Plano Mais Pecuária. Brasília, 2014. Disponível em: < <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/camaras-setoriais-tematicas/documentos/camaras-setoriais/leite-e-derivados/plano-mais-pecuaria.pdf>>. Acesso em: 15 mar. 2017.

MAPA1. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Informe econômico da política agrícola, ano 3, n. 4, Abril, 2016. Disponível em: < <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/politica-agricola/arquivos-de-estatisticas/edicao-n-04-2016.pdf/view>>. Acesso em: 10 jan. 2017.

MAPA2. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. PIB da agropecuária tem alta de 1,8% em 2015. Notícias. Março, 2016. Disponível: <<http://www.agricultura.gov.br/noticias/pib-da-agropecuaria-tem-alta-de-1-8-em-2015>>. Acesso em: 20 jan. 2017.

Machado, R. A remoção farmacológica do folículo dominante como estratégia anti-luteolítica em bovinos. 2005. 198 f. Tese (Doutorado em Reprodução Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo – USP, São Paulo, 2005.

MACHADO, R.; BARBOSA, R. T.; SILVA, J. C. B.; BERGAMASCHI, M. A. C. M.; BERTAN, C. M.; SARTI, L. L.; BINELLI, M. A redução da mortalidade embrionária - estratégia hormonal para otimizar a função luteínica em bovinos. EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Circular Técnica 51, São Carlos, p.1-11, 2006.

Mann, G. E.; Lamming, G. E. The influence of progesterone during early pregnancy in cattle. *Reproduction in Domestic Animals*, Alemanha, v. 34, p. 269 – 274, 1999.

Mann, G. E.; Green, M. P.; Sinclair, K. D.; Demmers, K. J.; Fray, M. D.; Gutierrez, C. G.; Garnsworthy, P. C.; Webb, R. Effects of circulating progesterone and insulin on early embryo development in beef heifers. *Animal Reproduction Science*, Holanda, v. 79, p.71 – 79, 2003.

Mann, G. E.; Fray, M. D.; Lamming, G. E. Effects of time of progesterone supplementation on embryo development and interferon-tau production in the cow. *The veterinary journal*, Inglaterra, v. 171, n. 3, p. 500-3, 2006.

McMILLAN, W. H. Statistical models predicting embryo survival to term in cattle after embryo transfer. *Theriogenology*, Estados Unidos da América, v. 50, p.1053–1070,1998. Disponível em: < [http://www.theriojournal.com/article/S0093-691X\(98\)00207-6/pdf](http://www.theriojournal.com/article/S0093-691X(98)00207-6/pdf)>. Acesso em: 15 abr. 2016. doi: 10.1016/S0093-691X(98)00207-6.

[https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(98\)00207-6](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(98)00207-6)

McNeil, R. E.; Diskin, M. G.; Sreenan, J. M.; Morris, D. G. Associations between milk progesterone on different days and with embryo survival during the early luteal phase in dairy cows. *Theriogenology*, Estados Unidos da América, v. 65, p. 1435-1441, 2006.

Marques, M. O. Ultra-sonografia ovariana, concentração plasmática de progesterona e taxa de concepção em novilhas receptoras de embriões submetidas a diferentes tratamentos no dia 7 do ciclo estral. 2002. 78 f. Dissertação (Mestrado em Reprodução Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo – USP, São Paulo, 2002.

Nascimento, A. B.; Souza, A. H.; Guenther, J. N.; Costa, F. P. D.; Sartori, R.; Wiltbank, M. C. Effects of 512 treatment with human chorionic gonadotrophin or intravaginal progesterone-releasing device after AI on circulating progesterone concentrations in lactating dairy cows. *Reproduction, fertility, and development*, Austrália, v. 25, p. 818-24, 2013.

NASCIMENTO, H. S. Co-cultivo de embriões bovinos com células-tronco adultas derivadas de tecido adiposo. 2014. 81f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia do Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

Neves, J. P.; Miranda, K. L.; Tortorella, R. D. Progresso científico em reprodução na primeira década do século XXI. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Piracicaba, v.39, p.414-421, 2010.

<https://doi.org/10.1590/S1516-35982010001300046>

Nogueira, M. F. G.; Melo, D. S.; Carvalho, L. M.; Fuck, E. J.; Trinca, L. A.; Barros, C. M. Do high progesterone concentrations decrease pregnancy rates in embryo transfer recipients synchronized with PGF2 α and eCG. *Theriogenology*, Estados Unidos da América, v. 61, p. 1283 – 1290, 2004.

O'HARA, L.; FORDE, N.; KELLY, A. K.; LONERGAN, P. Effect of bovine blastocyst size at embryo transfer on day 7 on conceptus length on day 14: Can supplementary progesterone rescue small embryos? *Theriogenology*, Estados Unidos da América, v. 81, p. 1123-8, 2014.

<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2014.01.041>

PARR, M. H.; MULLEN, M. P.; CROWE, M. A.; ROCHE, J. F.; LONERGAN, P.; EVANS, A. C. O.; DISKIN, M. G. Relationship between pregnancy per artificial insemination and early luteal concentrations of progesterone and establishment of repeatability estimates for these traits in Holstein-Friesian heifers. *Journal of Dairy Science*, Estados Unidos da América, v. 95, p. 2390-6, 2012.

<https://doi.org/10.3168/jds.2011-4498>

Perry, G. The 1997 Embryo Transfer Statistics from Around the World. *Embryo Transfer Newsletter*, Champaign, p. 1 – 11, 1998.

- Perry, G. 2015 Statistics of embryo collection and transfer in domestic farm animals. Embryo Transfer Newsletter, Champaign, p. 1 – 16, 2016.
- PINTO, T. L. C. Aplicação de agonistas de GnRH no momento da transferência de embriões produzidos in vitro em vacas holandesas. 2013. 58f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinária, Universidade Federal de Lavras.
- Ribeiro, E. S.; Galvão, K. N.; Thatcher, W. W.; Santos, J. E. P. Economic aspects of applying reproductive technologies to dairy herds. *Animal Reproduction*, Holanda, v. 9, p. 370-387, 2012.
- Rosa, R. et al., Abordagem preliminar das condições climáticas de Uberlândia (MG). *Sociedade & Natureza*, Uberlândia, v. 3, p. 91-108, 1991.
- RUMPF, R. Avanços metodológicos na produção in vitro de embriões. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Piracicaba v. 36, p. 229-233, 2007. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbz/v36s0/21.pdf>>. Acesso em: 30 jan. 2017.
- Sangsritavong, S.; Combs, D. K.; Sartori, R.; Armentano, L. E.; Wiltbank, M. C. High feed intake increases liver blood flow and metabolism of progesterone and estradiol-17beta in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, Estados Unidos da América, v. 85, n. 11, p. 2831-4282, 2002.
- Santos, J. E. P.; Thatcher, W. W.; Pool, L.; OVERTON. M. W. Effect of human chorionic gonadotrophin on luteal function and reproductive performance of high-producing lactating Holstein dairy cows. *Journal of Animal Science*, Estados Unidos da América, v. 79, p. 2881-2894, 2001.
- Silva, E.; Leitao, S.; Tenreiro, T.; Pomba, C.; Nunes, T.; Lopes Da Costa, L.; Mateus, L. Genomic and phenotypic characterization of *Escherichia coli* isolates recovered from the uterus of puerperal dairy cows. *Journal of Dairy Science*, Estados Unidos da América, v. 92, p. 6000-6010, 2009.
- REZENDE, E. V.; CAMPO, C. C.; SANTOS, R. M. Incidência da retenção de placenta e as consequências na produção de leite e na eficiência reprodutiva de vacas holandesas. *Acta Scientiae Veterinariae*, Rio Grande do Sul, v. 1170, 2013.

Sartori, R.; Sartor-Bergfelt, R.; Mertens, S. A.; Guenther, J. N.; Parrish, J. J.; Wiltbank, M. C. Fertilization and early embryonic development in Heifers and lactating cows in summer and lactating and dry cows in winter. *Journal of Dairy Science*, Estados Unidos da América, v. 85, n.11, p. 2803-2812, 2002.

Monteiro jr., P. L. J.; Nascimento, A. B.; Pontes, G. C. S.; Fernandes, G. O.; Melo, L. F.; Wiltbank, M. C.; Sartori, R. Progesterone supplementation post-ovulation: Effects on corpus luteum function and on fertility of dairy cows subjected to AI or ET. *Theriogenology*, Estados Unidos da América, v. 84, n. 7, p. 1215-24, 2015.

Sartori, R.; Prata, A. B.; Figueiredo, A. C. S.; Sanches, B. V.; Pontes, G. C. S.; Viana, J. H. M.; Pontes, J. H.; Vasconcelos, J. L. M.; Pereira, M. H. C.; Dode, M. A. N.; Monteiro jr., P.L.J.; Baruselli, P.S. Update and overview on assisted reproductive technologies (ARTs) in Brazil. *Animal Reproduction*, Holanda, v.13, n.3, p.300-312, 2016.

SAS Institute Inc. 2004. SAS/STAT. ®. 9.2 User's. Guide. Cary, NC: SAS Institute Inc. SAS/STAT. ®

Schmitt, E. J. P.; Barros, C. M.; Fields, M. J.; Diaz, T.; Kluge, J. M.; Thatcher, W. W. A cellular and endocrine characterization of the original and induced corpus luteum after administration of a gonadotrophin-releasing hormone agonist or human chorionic gonadotrophin on day five of the estrus cycle. *Journal of Animal Science*, Estados Unidos da América, v. 74, p. 1915-1929, 1996.

SILVA, L. A. Taxa de gestação e mortalidade embrionária em receptoras de embriões produzidos in vitro, após sincronização do estro com diferentes protocolos hormonais. 2010. 65f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Curso de pós-graduação em Ciências Animal, Universidade Federal de Minas Gerais.

Smetanina, I. G.; Tatarinova, L. V.; Krivokhardchennko, A. S. The effect of the composition of the culture media on bovine oocyte maturation and embryo development in vitro. *Ontogenez*, Rússia, v.31, p.139-143, 2000.

SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. Farmacologia aplicada a medicina veterinária. 4. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.

Starbuck, G. R.; Gutierrez, C. G.; Peters, A. R.; Mann, G. E. Timing of follicular phase events and the postovulatory progesterone rise following synchronization of oestrus in cows. *The Veterinary Journal, Inglaterra*, v. 172, p. 103-108, 2006.

Stronge, A. J. H.; Sreenan, J. M.; Diskin, M. G.; Mee, J. F.; Kenny, D. A.; Morris, D. G. Post-insemination milk progesterone concentration and embryo survival in dairy cows. *Theriogenology, Estados Unidos da América*, v. 64, p. 1212-24, 2005.

Swangchan-Uthai, T.; Walsh, S. W.; Alexander, S. L. H.; Cheng, Z.; Crowe, M. A.; Evans, A. C. O.; Wathes, D. C. Comparison of mRNA for IGFs and their binding proteins in the oviduct during the peri-oestrous period between dairy eifers and lactating cows. *Reproduction, Inglaterra*, v. 142, n. 1, p. 457-465, 2011.

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, Belo Horizonte*, v.32, p.100-109, 2008.

Vasconcelos, J. L.; Silcox, R. W.; Rosa, G. J.; Pursley, J. R.; Wiltbank, M. C. Synchronization rate, size of the ovulatory follicle, and pregnancy rate after synchronization of ovulation beginning on diferente days of the estrous cycle in lactating dairy cows. *Theriogenology, Estados Unidos da América*, v.52, p.1067-1078, 1999.

VASCONCELOS, J. L. M.; JARDINA, D. T. G.; SÁ FILHO, O. G.; ARAGON, F. L.; VERAS, M. B. Comparison of progesterone-based protocols with gonadotropin-releasing hormone or estradiol benzoate for timed artificial insemination or embryo transfer in lactating dairy cows. *Theriogenology, Estados Unidos da América*, v. 75, n. 6, p. 1153-1160, 2011.

<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2010.11.027>

VASCONCELOS, J. L. M.; MUNHOZ, A. K.; PEREIRA, M. H. C.; PEREIRA, F. R. Effect of GnRH administration at embryo transfer following a E2/P4 based protocol for FTET in Girolando heifers and cows. In: XXVIII Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões (SBTE). Anais... Natal, RN. 2014. Disponível em: < <http://revistas.bvs-vet.org.br/animreprod/article/view/26941>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

Yang, X.; Jiang, S.; Foote, R. H. Bovine oocyte development following different oocyte maturation and sperm capacitation procedures. *Molecular Reproduction and Development*, Estados Unidos da América, v.34, p.94-100, 1993.

Wiltbank, M. C.; Souza, A. H.; Carvalho, P. D.; Bender, R. W.; Nascimento, A. B. Improving fertility to timed artificial insemination by manipulation of circulating progesterone concentrations in lactating dairy cattle. *Journal of reproduction and fertility*, Austrália, v. 24, p. 238–243, 2012.

Wiltbank, M. C.; Souza, A. H.; Carvahlo, P. A.; Cunha, A. P.; Giordano, J. O.; Fricke, P. M.; et al. Physiological and practical effects of progesterone on reproduction in dairy cattle. *Animal*, Inglaterra, v. 8, n. 1, p. 70-81, 2014.