

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**  
**FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA**

**BRENDA MATOS FERNANDES**

**EFEITOS DO PERÍODO DO ANO E DA RAÇA DA DOADORA NA PRODUÇÃO *IN VITRO* DE EMBRIÕES BOVINOS DE CORTE E NA TAXA DE PREENHEZ POR TRANSFERÊNCIA**

**UBERLÂNDIA – MG**

**2023**

BRENDA MATOS FERNANDES

EFEITOS DO PERÍODO DO ANO E DA RAÇA DA DOADORA NA PRODUÇÃO *IN VITRO* DE EMBRIÕES BOVINOS DE CORTE E NA TAXA DE PREENHEZ POR TRANSFERÊNCIA

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Uberlândia como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Ciências Veterinárias.

Área de concentração: Produção Animal

Orientador: Profa. Dra. Ricarda Maria dos Santos

Linha de pesquisa: Biotécnicas e Eficiência Reprodutiva

UBERLÂNDIA – MG

2023

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU  
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

F363 2023	<p>Fernandes, Brenda Matos, 1992- Efeitos do período do ano e da raça da doadora na produção in vitro de embriões bovinos de corte e taxa de prenhez por transferência [recurso eletrônico] / Brenda Matos Fernandes. - 2023.</p> <p>Orientadora: Ricarda Maria dos Santos. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Pós-graduação em Ciências Veterinárias. Modo de acesso: Internet. Disponível em: <a href="http://doi.org/10.14393/ufu.di.2024.99">http://doi.org/10.14393/ufu.di.2024.99</a> Inclui bibliografia.</p> <p>1. Veterinária. I. Santos, Ricarda Maria dos, 1971-, (Orient.). II. Universidade Federal de Uberlândia. Pós- graduação em Ciências Veterinárias. III. Título.</p> <p style="text-align: right;">CDU: 619</p>
--------------	--

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:

Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091  
Nelson Marcos Ferreira - CRB6/3074



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**  
Secretaria da Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências  
Veterinárias

BR 050, Km 78, Campus Glória, Uberlândia-MG, CEP 38400-902  
Telefone: (34) 2512-6811 - [www.ppgcv.famev.ufu.br](http://www.ppgcv.famev.ufu.br) - [mesvet@ufu.br](mailto:mesvet@ufu.br)



**ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO**

Programa de Pós-Graduação em:	CIÊNCIAS VETERINÁRIAS				
Defesa de:	DISSERTAÇÃO DE MESTRADO ACADÊMICO PPGCVET Nº 10/2023				
Data:	18 DE AGOSTO DE 2023	Hora de início:	08:40	Hora de encerramento:	10:45
Matrícula do Discente:	12112MEV003				
Nome do Discente:	BRENDA MATOS FERNANDES				
Título do Trabalho:	Efeitos do período do ano e da raça da doadora na produção <i>in vitro</i> de embriões bovinos de corte e na taxa de prenhez por transferência.				
Área de concentração:	PRODUÇÃO ANIMAL				
Linha de pesquisa:	BIOTÉCNICAS E EFICIÊNCIA REPRODUTIVA				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	Fatores que afetam a eficiência reprodutiva dos rebanhos bovinos				

Reuniu-se por videoconferência, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, assim composta: Professores Doutores: Renata Lançoni (FAMEV/UFU); José Felipe Warmling Spricigo (UFG) e Ricarda Maria dos Santos (FAMEV/UFU), orientador(a) do(a) candidato(a).

Iniciando os trabalhos o(a) presidente da mesa, Dr(a). Ricarda Maria dos Santos, apresentou a Comissão Examinadora e o candidato(a), agradeceu a presença do público, e concedeu ao Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação do Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir o senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(às) examinadores(as), que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

Aprovada

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.

## RESUMO

A transferência de embriões é uma biotécnica reprodutiva amplamente utilizada em rebanhos bovinos no Brasil, e aproximadamente 98% dos embriões são produzidos *in vitro* (PIVE). Porém o sucesso da PIVE ainda é bastante variado, e vários fatores precisam ser coordenados para obter um bezerro vivo a partir de um embrião de PIVE. A qualidade do ovócito no início do processo é um dos fatores-chave, bem como a qualidade dos embriões, a seleção das receptoras e o ambiente onde os animais são manejados. O objetivo com este estudo foi avaliar a influência da raça da doadora (Nelore vs. Senepol) e do período do ano (seco vs. chuvoso) no momento da aspiração folicular (OPU) sobre o número de ovócitos coletados e embriões viáveis produzidos, bem como a taxa de prenhez por transferência de embrião (P/TE) das receptoras. Foram analisados dados de doadoras das raças Senepol (n = 198) e Nelore (n = 170) coletados durante o ano de 2021, em um laboratório comercial de PIVE, localizado no estado de Minas Gerais, Brasil. Os dados coletados foram número de ovócitos totais e viáveis, número de embriões viáveis produzidos, taxa de produção de embriões e P/TE das receptoras. As estações do ano foram divididas em seca e chuvosa. Os embriões foram transferidos frescos em receptoras sincronizadas. O diagnóstico de gestação das receptoras foi realizado 30 dias após o estro. As variáveis contínuas não atenderam os pressupostos de normalidade de acordo com o teste de Shapiro-Wilk, desta forma foram submetidos ao teste de Kruskal-Wallis e as variáveis binomiais foram analisadas por Qui-quadrado, ambas no software R (versão 4.3.2). As diferenças foram caracterizadas por  $P \leq 0,05$ . Foi observado efeito negativo da estação seca na quantidade de ovócitos totais e viáveis da raça Nelore ( $P < 0,05$ ), e as taxas de ovócitos viáveis foram 6,72% menores na raça Senepol e 3,99% menores em Neloques durante o período seco. A taxa de produção de embrião foi menor para as doadoras Senepol nos dois períodos do ano ( $P < 0,05$ ). E a raça Nelore apresentou menor taxa de produção de embrião no período chuvoso ( $P < 0,05$ ). Essas diferenças na taxa de produção de embrião resultaram na mesma produção de embrião viável entre as raças nas diferentes estações analisadas. A P/TE foi 13,68% pontos percentuais menor para embriões de doadoras Senepol durante o período seco, enquanto a P/TE de embriões de doadoras Nelore não foi afetada pela estação do ano. Em conclusão, a estação seca do ano influencia negativamente a produção ovócitos totais e viáveis na doadoras Nelore, enquanto a produção de ovócitos totais e viáveis das doadoras de Senepol permaneceu constante durante o ano. A produção de embriões das doadoras Nelore é influenciada negativamente pela estação chuvosa, embora permaneça mais alta do que a produção de embriões das doadoras

Senepol durante todo o ano, e a P/TE dos embriões das doadoras Senepol é reduzida durante a estação seca.

**Palavras-chaves:** Eficiência reprodutiva; Transferência de embriões; PIVE.

## ABSTRACT

Embryo transfer is a reproductive biotechnique widely used in cattle herds in Brazil, and approximately 98% of embryos are produced *in vitro* (IVP). However, the success of IVP is still quite diverse, and several factors need to be coordinated to obtain a live calf from an IVT embryo. The oocyte quality at the start of the process is one of the key factors, as well as the quality of the embryos, the recipients, and the environment where the animals are handled. The aim of this study was to evaluate the influence of the donor breed (Nelore *vs.* Senepol) and the time of year (Dry *vs.* Rainy) at the time of follicular aspiration (OPU) on the number of viable oocytes and embryos produced, as well as the pregnancy rate per embryo transfer (P/ET) of the recipients. Data from 368 Senepol and Nelore donors collected during 2021 at a commercial IVP laboratory located in the state of Minas Gerais, Brazil, was analyzed. Data collected included number of total and viable oocytes, number of viable embryos produced, embryo production rate and P/TE of the recipients. Seasons were divided into dry and rainy. The pregnancy diagnosis of the recipients was carried out 30 days after estrus. The data refused the normality assumptions based on Shapiro-Wilk's test and was then subjected to the Kruskal-Wallis's test. P/TE was analyzed by Chi-square using R software (version 4.3.2). Statistical differences were characterized by  $P \leq 0.05$ . A negative effect of the dry season was observed on the number of total and viable oocytes in the Nelore breed ( $P < 0.05$ ), and the viable oocyte rates were 6.72% lower in the Senepol breed and 3.99% lower Nelore during the dry season. The embryo production rate was lower for Senepol donors in both periods of the year ( $P < 0,05$ ). The Nelore breed had a lower embryo production rate in the rainy period ( $P < 0.05$ ). These differences in embryo production rate resulted in the same viable embryo production between the breeds in the different seasons analyzed. The P/TE was 13.68% percentage points lower for embryos from Senepol donors during the dry season, while the P/TE of embryos from Nelore donors was not affected by the season. In conclusion, the dry season negatively influences total and viable oocyte production in Nelore donors, while total and viable oocyte production in Senepol donors remained constant throughout the year. The embryo production of Nelore donors is negatively influenced by the rainy season, although it remains higher than the embryo production of Senepol donors throughout the year, and the P/TE of the embryos of Senepol donors is reduced during the dry season.

**Keywords:** Reproductive efficiency; Embryo transfer; IVP.

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>06</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>08</b>
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>11</b>
<b>4</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>13</b>
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>14</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>16</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>17</b>

## 1 INTRODUÇÃO

De acordo com os dados do Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada (Cepea) da Universidade de São Paulo (Esalq/USP), em parceria com a Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil (CNA), o setor pecuário brasileiro registrou um avanço de 2,11% no ano de 2022, configurando mais um ano de crescimento desde 2014. O PIB do agronegócio participou, durante o período avaliado, de 24,8% do PIB nacional, um número expressivo dentro da economia brasileira (CEPEA, 2022).

De acordo com o Comitê de Recuperação de Dados da Sociedade Internacional de Tecnologia de Embriões (International Embryo Technology Society - IETS) de 2021, mesmo diante dos desafios impostos pela pandemia COVID-19, as atividades de transferência de embriões (TE) têm apresentado um crescimento significativo em relação aos anos anteriores (IETS, 2022). No ano de 2021, mais de 1,5 milhões de embriões produzidos *in vitro* foram registrados em mais de 16 países na pecuária bovina, representando um aumento de 31,5% em comparação com os dados de 2020. O Brasil e a Argentina destacam-se consistentemente como dois dos principais países fora da América do Norte e Europa na produção *in vitro* de embriões (PIVE). Porém, existem diversas etapas que antecedem a PIVE e devem ser levadas em consideração como fatores de nutrição, manejo, eficiência na sincronização do estro e ovulação que podem ser decisivos para o sucesso da aplicação das biotécnicas reprodutivas nos rebanhos bovinos (BÓ & MAPLETOFT, 2019).

À medida que o sistema de produção de carne intensifica, o uso de biotécnicas associadas à reprodução tem aumentado, especialmente da PIVE para garantir que a genética de animais melhorados esteja presente nas progênes, assim como diminuir o intervalo entre gerações, através da associação de biotécnicas como o uso de sêmen sexado, e avaliações genômicas (MACHATKOVÁ et al., 2004).

A PIVE é um processo complexo que envolve várias etapas e, portanto, está sujeita a alguns desafios. Entre esses desafios, dois aspectos importantes são a questão racial e a sazonalidade da produção (MELLO et al., 2016). Além disso, há diversos fatores intrínsecos da técnica que podem afetar os resultados (HANSEN, 2020). Embora a PIVE, em conjunto com outras biotécnicas reprodutivas, tenha contribuído para a intensificação da produção, a taxa de produção de blastocistos a partir de ovócitos fertilizados tem apresentado uma variação entre 40% e 50% ao longo dos anos. A falta de homogeneidade da fonte de ovócitos é apontada como uma das principais causas para a limitação do sucesso da PIVE. Portanto, são necessárias

pesquisas adicionais para aprimorar as técnicas associadas, a fim de melhorar a capacidade de maturação e desenvolvimento dos ovócitos recuperados (VIANA, 2018).

Diversos estudos demonstram a influência do aumento dos níveis de cortisol em animais submetidos ao estresse por calor sobre a secreção de estradiol, atraso nas ondas de hormônio luteinizante (LH) e conseqüentemente na ovulação, além de reduzir a quantidade de corpos lúteos em animais submetidos a técnicas de superovulação para a produção de embriões *in vitro* (DOBSON et al., 2001; JU et al., 2005; BARBOSA et al., 2013).

A questão racial é um fator relevante na PIVE, uma vez que diferentes raças bovinas podem apresentar respostas variadas às técnicas de reprodução assistida. Diferenças na maturidade folicular, na qualidade dos ovócitos e na resposta ovariana podem influenciar os resultados da PIVE em diferentes raças (HANSEN, 2020).

De acordo com os dados da Associação Brasileira das Indústrias exportadoras de carne em 2022 a raça Nelore, amplamente reconhecida no setor do agronegócio no Brasil, atualmente lidera em termos de quantidade de animais criados no país. Por outro lado, a raça Senepol, introduzida no Brasil na década de 2000, já conquistou uma posição de destaque, figurando entre as cinco raças mais populares na produção de carne (ABIEC 2022). A adaptabilidade dessas raças ao clima tropical do Brasil é um dos fatores determinantes para a disseminação de animais Senepol e Nelore na produção de carne (MELLO et al., 2016).

Considerando as características fisiológicas e morfológicas de raças adaptadas ao clima tropical e a adaptabilidade de animais Nelore ao longo dos anos no sistema produtivo do país, a hipótese deste trabalho assume a maior resistência da raça Nelore perante os fatores estressantes durante o desenvolvimento folicular resultaria na produção de ovócitos de melhor qualidade e conseqüentemente maior eficiência na produção *in vitro* de embriões, assim como uma melhor prenhez por transferência de embriões quando comparada à animais da raça Senepol. Portanto, o objetivo com este estudo foi avaliar o efeito da raça da doadora (Nelore vs. Senepol) e do período do ano (seco vs. chuvoso) no momento da aspiração folicular (OPU) sobre o número de ovócitos e embriões viáveis produzidos, bem como a taxa de prenhez por transferência de embrião (P/TE) das receptoras.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

De acordo com dados da IETS em 2021, no Brasil, aproximadamente 85% dos embriões eram provenientes da produção *in vitro*. O número de embriões PIVE aumentou notavelmente durante os últimos anos, e as Américas do Norte e Sul foram responsáveis, no ano de 2021 por 88,1% de todos as TE em bovinos. Dentre as tendências para o ano de 2022 o crescimento foi mantido, Os Estados Unidos segue na liderança de PIVE e o Brasil segue liderando em transferências de embriões produzidos *in vitro* com 37% no ranking mundial, mesmo com menores números de embriões transferidos reportados (443 mil) quando comparados aos dados dos Estados Unidos que alcançaram 745 mil embriões transferidos reportados (IETS, 2023).

A adoção de biotécnicas na reprodução bovina tem sido impulsionada por grandes empresas brasileiras, levando à expansão dessas práticas em rebanhos bovinos na América Latina. No contexto brasileiro, a diversidade de raças, a demanda do mercado, o tamanho das unidades de reprodução e a disponibilidade de vacas receptoras têm desempenhado um papel fundamental no sucesso das pesquisas desenvolvidas e na aplicação comercial dessas biotécnicas ao longo dos anos. Essa situação tem posicionado o Brasil em destaque, reduzindo a competitividade em relação a outros países que não possuem rebanhos em quantidade suficiente (ROSETE FERNÁNDEZ et al., 2021).

O sucesso na aplicação da PIVE na reprodução animal está intrinsecamente ligado a vários fatores, sendo a qualidade dos ovócitos coletados um aspecto fundamental. A obtenção desses ovócitos durante o desenvolvimento folicular é um fator crucial para alcançar maiores taxas de sucesso (SIRARD et al., 1999). A dinâmica folicular é caracterizada por estágios de recrutamento, seleção e dominância dos folículos, que dependem da atuação de gonadotrofinas, como o hormônio folículo estimulante (FSH) e o hormônio luteinizante (LH). Esses hormônios desempenham um papel direto na fase de recrutamento, seleção e dominância folicular (GINTHER et al., 2003).

Ao coletar ovócitos para a produção de embriões *in vitro*, é crucial considerar os fatores que determinam a qualidade desses ovócitos, como o tamanho do folículo, o dia do ciclo estral e a influência do folículo dominante nos demais durante a onda folicular (HENDRIKSEN et al., 2000). Em técnicas de colheita de ovócitos, como a punção folicular transvaginal guiada por ultrassom (OPU), os folículos são coletados em diferentes fases do desenvolvimento, o que resulta em diferentes concentrações de hormônios, como estradiol e progesterona. Essas diferenças no desenvolvimento folicular podem afetar a competência dos ovócitos para a

produção *in vitro* de embriões (WIT et al., 2000). De acordo com Hendriksen et al. (2000), mais de 85% dos folículos ovarianos estão em atresia durante a aspiração folicular, que ocorre em fases aleatórias do ciclo estral, o que tem um impacto direto na qualidade do ovócito.

A formação do corpo lúteo (CL) desempenha um papel crucial na regulação do ciclo estral e na manutenção da gestação em bovinos. Após a ovulação, o desenvolvimento e a atividade do CL ocorrem ao longo de um período de 17 dias, e caso não haja fecundação, o CL começa a regredir (BARBOSA et al., 2013). A principal função do CL é secretar progesterona durante o ciclo estral, inibindo o pico de LH. Após a luteólise e a diminuição dos níveis de progesterona, ocorre um aumento na pulsatilidade de LH, o que mantém o crescimento do folículo pré-ovulatório. Em seguida, ocorre o pico de LH, que resulta na ovulação (MORAES et al., 2001).

Reis et al. (2006) afirmam que, ovócitos produzidos por folículos desenvolvidos durante a fase de maior concentração da progesterona apresentam melhor qualidade para produção de embriões. Segundo Schneider et al. (2005), existe uma concentração ideal de progesterona durante as fases do ciclo estral que influencia na qualidade dos ovócitos direta e indiretamente. Vacas que apresentaram CL na fase de desenvolvimento folicular comparadas com vacas que não apresentaram CL foram consideradas mais eficientes em relação ao número de ovócitos coletados, qualidade dos ovócitos, quantidade de ovócitos clivados, além da maior produção de embriões no dia 7 após a fecundação *in vitro* (REIS et al., 2006).

A aplicação de progesterona e estradiol exógenos promovem a sincronização da onda folicular em bovinos, com resultados observados em até 5 dias após o início do tratamento. De acordo com Schneider et al. (2005), vacas que receberam progesterona apresentaram um aumento na quantidade de folículos e de ovócitos, além de uma maior taxa de clivagem em comparação com vacas que não foram submetidas a esse tratamento.

Por outro lado, Ramos et al. (2010) não observaram diferença em relação ao número e qualidade de ovócitos recuperados, assim como ao número de embriões produzidos *in vitro* de vacas doadoras sincronizadas com progesterona e benzoato de estradiol. Vassena et al. (2003) observaram que ovócitos aspirados no período de regressão folicular inicial (dia 5 da emergência da onda) apresentaram melhores taxas de produção de blastocistos.

Considerando os aspectos fisiológicos dos ovários, há diferenças entre as subespécies *Bos taurus* e *Bos indicus* em relação ao número de ondas de crescimento folicular, ao número de estruturas recrutadas, à divergência, ao diâmetro folicular máximo e à persistência dos folículos dominantes, entre outras características (SARTORI et al., 2016). Essas particularidades são

importantes a serem consideradas ao empregar biotécnicas reprodutivas, como inseminação artificial (IA), protocolos hormonais para superovulação e transferência de embriões (TE) produzidos *in vivo*, e aspiração folicular guiada por ultrassonografia, ou OPU, associada à PIVE. Em animais taurinos é observado de 2 a 3 ondas de crescimento folicular a cada ciclo estral, enquanto em fêmeas zebuínas observa-se 3 a 4 ondas de crescimento folicular durante cada ciclo (WOLFENSON et al., 2004). A quantidade de folículos em cada onda de crescimento também é diferente, sendo que fêmeas zebuínas alcançam até 33,4 folículos enquanto a fêmea taurina produz cerca de 25,4 folículos (WOLFENSON et al., 2004; BARUSELLI et al., 2007).

Em relação ao diâmetro folicular, fêmeas zebuínas apresentam menor diâmetro folicular se comparadas a fêmeas taurinas, assim como o diâmetro do CL, que pode variar de 17 a 21mm e 20 a 30mm, respectivamente, conseqüentemente menor concentração de progesterona produzida por CL em fêmeas zebuínas (BARUSELLI et al., 2007).

Para a produção *in vitro* de embriões, a estimulação ovariana com gonadotrofinas antes da OPU ainda é amplamente discutida e diversas abordagens podem diferir de acordo com a espécie (*Bos taurus* ou *Bos indicus*) das doadoras. Independentemente do método de produção de embriões, as técnicas podem ser implementadas em rebanhos comerciais de produção de corte e leite, para melhoramento genético e aumento da fertilidade durante o período de estresse térmico nas épocas de verão, ou até mesmo, vacas repetidoras de cio (BÓ & MAPLETOFT, 2019).

Com o objetivo de garantir maior produtividade dos animais, promover um maior ganho de mérito genético no rebanho e conservar os recursos genéticos dos animais de produção, a PIVE tem sido amplamente utilizada em rebanhos bovinos de corte e leite em todo o mundo. Essa biotecnologia abrange diversas etapas, como a maturação de ovócitos *in vitro*, capacitação espermática, fertilização *in vitro*, cultura de zigotos e embriões durante as fases de pré-eclosão, de 7 a 8 dias após a fertilização (FERRÉ et al., 2020).

O estresse térmico tem sido considerado como um dos fatores limitantes na reprodução bovina. Animais mantidos em condições de altas temperaturas e umidade do ar apresentam alterações fisiológicas na tentativa de manter a homeostase (TROUT et al., 1998). Indiretamente, vacas submetidas ao estresse térmico sofrem alterações hormonais que comprometem o ambiente uterino, assim como efeitos diretos na qualidade dos ovócitos e embriões, resultando em perdas embrionárias e redução na eficiência reprodutiva (MIETKIEWSKA et al., 2022).

O crescimento dos folículos ovarianos é comprometido em vacas submetidas ao estresse térmico, causados pela redução de secreção de hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), que por sua vez, altera a produção e liberação de LH e FSH. Tais alterações comprometem o desenvolvimento dos ovócitos (MIETKIEWSKA et al., 2022). Loureiro et al. (2009) afirmam que ovócitos bovinos expostos ao estresse térmico, quando em estágio de desenvolvimento sofrem alteração nuclear e redução na maturação do citoplasma.

Durante o desenvolvimento embrionário, os embriões adquirem capacidade de ao estresse térmico (DE BARROS et al., 2018). Porém em condições de exposição prolongada, o aumento de anormalidades pode ser observado nos embriões. Park et al. (2007), ao avaliarem o desenvolvimento embrionário de vacas leiteiras expostas a estresse térmico antes da OPU, afirmaram que em temperaturas de 40 a 41°C há uma redução da taxa de produção de blastócitos, e as alterações embrionárias ocorrem de acordo com a duração da exposição e a severidade do fator estressor.

Além da produção *in vitro*, a transferência de embriões é uma das biotécnicas que tem sido utilizada para amenizar o efeito do estresse térmico na reprodução durante o verão. Estudos utilizando a TE em rebanhos leiteiros sugeriram o uso da criopreservação para evitar influências deletérias do estresse térmico sobre a qualidade e o número de embriões que foram coletados durante a OPU, os resultados encontrados, mesmo não sendo significativos, indicaram uma tendência de que as biotécnicas de PIV e TE quando realizadas em períodos de maiores temperaturas e umidade, sofrem influência negativa na quantidade e qualidade de embriões produzidos, transferidos e conseqüentemente baixas respostas nas taxas de concepção (SAKATANI et al., 2015; KAWANO et al., 2022).

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

Os dados analisados neste estudo foram fornecidos por uma empresa comercial de produção de embriões *in vitro*, localizada em Uberlândia, Minas Gerais, Brasil. A coleta de dados foi realizada por acesso às planilhas de Excel do banco de dados da produção de embriões pelo laboratório durante o ano de 2021.

Foram avaliados dados de 368 doadoras, sendo estas 198 da raça Senepol e 170 Nelore produzindo em total 21.758 ovócitos. Durante o período foram analisadas 2.124 transferências

de embriões provenientes da produção total de embriões de 4.740 (2.135 Senepol e 2.605 Nelore).

As aspirações foram realizadas em diferentes períodos do ano, e dessa forma, foram agrupadas em: Período seco (abril a setembro) e Período chuvoso (janeiro a março e outubro a dezembro). As médias de temperatura anual foram de 26 °C durante o período seco e 19 °C a 20 °C no período chuvoso, com precipitações concentradas nos meses de janeiro e dezembro com 309 mm e 292 mm respectivamente de acordo com o Instituto Nacional de Meteorologia do Brasil – INMET (2021). Foram consideradas variáveis resposta a produção de ovócitos totais e viáveis, taxa de ovócitos viáveis, a produção de embriões, taxa de produção de embriões e prenhez por TE das receptoras.

Os embriões foram transferidos a fresco em receptoras sincronizadas com protocolo de sincronização da ovulação a base de progesterona e estradiol. Após a ovulação sincronizada, no dia 07, as receptoras foram examinadas por palpação transretal e ultrassonografia para determinar presença e o tamanho do CL. Vacas com CL maior ou igual a 15 mm foram identificadas como potenciais receptoras. Os embriões produzidos foram transferidos para as receptoras, e foram depositados no terço cranial do corno uterino ipsilateral ao CL.

O diagnóstico de gestação foi realizado nas receptoras por exame de ultrassonografia realizada 30 dias após a data da ovulação sincronizada. Durante o exame foi avaliada a viabilidade do embrião, baseada no batimento cardíaco. As receptoras diagnosticadas como gestantes foram examinadas novamente após 60 dias do estro.

Os dados foram agrupados de acordo o período do ano no momento da aspiração folicular, sendo eles: Período seco (01/04/2021 - 30/09/2021) e período chuvoso (01/01/2021 - 31/03/2021 e 01/10/2021 - 31/12/2021).

Os dados contínuos não atenderam os pressupostos de normalidade de acordo com o teste de Shapiro-Wilk, desta forma foram submetidos ao teste de Kruskal-Wallis e os dados binomiais foram analisados pelo teste Qui-quadrado, ambos utilizando o software R, incluindo no modelo os efeitos da raça e estação do ano. As diferenças estatísticas foram definidas como  $P \leq 0,05$ .

#### 4 RESULTADOS

Quando se avaliou o efeito de raça dentro das estações do ano no momento da OPU, foi detectado que na estação chuvosa foi coletada a mesma quantidade de OT e OV das doadoras Nelore e Senepol, porém na estação seca foi coletado menor quantidade de OT e OV das doadoras Nelore em comparação as doadoras Senepol ( $27,10 \pm 14,90$  vs.  $40,22 \pm 24,10$ ; Tabela 1). E ao avaliar o efeito da estação do ano no momento da OPU de acordo com a raça da doadora, foi detectado menor obtenção de OT e OV na estação seca nas doadoras Nelore, efeito não detectado nas doadoras Senepol (Tabela 1).

Para a TOV foi observado efeito da raça da doadora apenas na estação chuvosa, com as doadoras Nelore apresentando maior TOV ( $74,01$  vs.  $71,81\%$ ) em relação as doadoras Senepol. Foi detectado que ambas as raças de doadoras apresentaram menor TOV na estação seca (Tabela 1).

**Tabela 1.** Média e desvio padrão do número de ovócitos totais e número de ovócitos viáveis e taxa de ovócitos viáveis de acordo a estação do ano no momento da aspiração folicular (chuvosa vs. seca) e a raça da doadora (Nelore vs. Senepol), Uberlândia, MG, 2022.

Estação do ano	Doadora Nelore		Doadora Senepol	
	Ovócitos Totais (OT)			
Chuvosa	$34,67 \pm 19,12^{aC}$		$39,02 \pm 21,57^{aC}$	
Seca	$27,10 \pm 14,90^{bD}$		$40,22 \pm 24,10^{aC}$	
	Ovócitos Viáveis (OV)			
Chuvosa	$26,22 \pm 15,59^{aC}$		$28,64 \pm 16,88^{aC}$	
Seca	$18,83 \pm 11,71^{bD}$		$27,50 \pm 16,38^{aC}$	
	Taxa de Ovócitos Viáveis (TOV)			
Chuvosa	$74,01\%^{aC}$		$71,81\%^{bC}$	
Seca	$67,29\%^{aD}$		$67,82\%^{aD}$	

<sup>a, b</sup> Valores com diferentes sobrescritos na mesma linha são diferentes.

<sup>c, d</sup> Valores com diferentes sobrescritos na mesma coluna são diferentes.

No que se refere à quantidade de EV produzidos, não foram identificados efeitos ( $P > 0,05$ ) da estação do ano nem da raça das doadoras (Tabela 2). Ao explorar o impacto da estação do ano no momento da OPU na TPE dentro de cada raça, observou-se uma variação significativa apenas para a raça Nelore. Durante o período chuvoso, as doadoras Nelore apresentaram TPE menor em relação a estação seca ( $31,94$  vs.  $37,74\%$ ). E quando se comparou a TPE entre as raças dentro das estações, verificou-se que as doadoras Senepol apresentaram TPE menor nas duas estações (Tabela 2).

Quanto a P/TE foi evidenciada uma redução significativa de  $13,68\%$  pontos percentuais

na P/TE para embriões oriundos de doadoras da raça Senepol aspiradas durante o período seco do ano e esse efeito não foi detectado para a raça Nelore. Também não foram detectados efeito da raça das doadoras de ovócitos sobre a P/TE dentro das estações estudadas (Tabela 2).

**Tabela 2.** Média e desvio padrão do número de embriões viáveis e taxa de produção de embriões e de prenhez por transferência de embriões de acordo a estação do ano no momento da aspiração folicular (chuvosa vs. seca) e a raça da doadora (Nelore vs. Senepol), Uberlândia, MG, 2022.

Estação do ano	Doadora Nelore	Doadora Senepol
	Embriões Viáveis (EV)	
Chuvosa	8,22 ± 6,83 <sup>aC</sup>	7,26 ± 6,55 <sup>aC</sup>
Seca	7,36 ± 5,92 <sup>aC</sup>	8,44 ± 7,34 <sup>aC</sup>
	Taxa de Produção de Embrião (TPE)	
Chuvosa	31,94% <sup>aD</sup>	26,15% <sup>bC</sup>
Seca	37,74% <sup>aC</sup>	31,40% <sup>bC</sup>
	Prenhez por Transferência de Embrião (P/TE)	
Chuvosa	37,90% <sup>aC</sup>	42,83% <sup>aC</sup>
Seca	35,20% <sup>aC</sup>	29,15% <sup>aD</sup>

<sup>a, b</sup> Valores com diferentes sobrescritos na mesma linha são diferentes.

<sup>c, d</sup> Valores com diferentes sobrescritos na mesma coluna são diferentes.

## 5 DISCUSSÃO

Nesse estudo foi avaliado o efeito da raça das doadoras (Nelore vs. Senepol) e do período do ano (Período chuvoso vs. Período seco) no momento da aspiração folicular sobre o número de ovócitos totais e viáveis coletados, embriões viáveis produzidos, taxa de produção de embriões e P/TE das receptoras. Em relação à coleta de OT e OV foram observados números semelhantes entre as raças Nelore e Senepol quando a OPU foi realizada no período chuvoso, e uma maior quantidade de OT e OV nas doadoras Senepol durante o período seco. Este foi um resultado inesperado, uma vez que as doadoras *Bos indicus* são conhecidas por apresentar maior população folicular, em comparação com as *Bos taurus* (PONTES et al., 2011; MARINHO et al., 2015). Porém, sabe-se que outros fatores podem alterar a performance das doadoras, como o manejo, protocolos hormonais e a quantidade e intervalo de OPU realizadas em uma mesma doadora (WATANABE et al., 2017), o menor número de ovócitos totais e viáveis coletados das doadoras Nelore no período seco pode ter sido devido ao manejo das doadoras, pois as doadoras da raça Senepol, geralmente recebem suplementação alimentar nas secas, o que é menos comum para as doadoras Nelore.

Guimarães et al. (2020) recuperaram maior quantidade de ovócitos de melhor qualidade por OPU de doadoras zebuínas, quando comparada à qualidade e quantidade de ovócitos

recuperados de doadoras taurinas (15,9 ovócitos/doadora vs. 11,4 ovócitos/doadora, respectivamente). Estes autores afirmam que a variação da qualidade de ovócitos recuperados entre raças de doadoras pode estar relacionada à população folicular de cada raça, assim como a quantidade de insulina produzida e a quantidade de fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-1), como também pela concentração de hormônio anti-mulleriano (AMH) produzido pelas células da granulosa, que atuam na regulação do desenvolvimento e crescimento dos folículos. Também devem ser consideradas as diferenças entre a dinâmica folicular, concentração de progesterona circulante e pulsatilidade de LH entre as raças zebuínas e taurinas (GUIMARÃES et al., 2020; SARTORI et al., 2016; BATISTA et al., 2014), uma vez que essas diferenças podem interferir no tempo de dominância folicular e consequentemente na qualidade dos ovócitos coletados, dependendo a fase da onda de crescimento folicular no qual a OPU ocorre.

A época do ano e a raça da doadora não influenciaram a quantidade de embriões viáveis produzidos por PIVE. Berling et al. (2022) observando os efeitos do estresse por calor na produção de embriões de vacas leiteiras de alta produção, afirmam que a qualidade dos ovócitos de doadoras *Bos Taurus* é afetada por altas temperaturas, o que compromete o desenvolvimento embrionário *in vitro*, porém esse efeito não foi observado nas doadoras Nelore e Senepol.

As doadoras da raça Nelore, apesar de produzirem menor número de OT e OV no período seco, apresentaram maior TPE na seca em relação a estação chuvosa, resultando em número de EV produzidos semelhante para a raça nos dois períodos do ano (Tabela 2).

Ao avaliar o efeito da raça na TPE, foi detectado que a TPE foi maior para as doadoras Nelore em comparação com as Senepol nas duas estações (Tabela 2). Este fato condiz com os resultados encontrados em estudos realizados em condições tropicais, onde os animais *Bos indicus* apresentaram maiores taxas de produção de embriões, comparado ao *Bos taurus* (PONTES et al., 2011; MARINHO et al., 2015).

Em relação a P/TE das receptoras, foi detectada neste estudo efeito do período do ano apenas para a raça Senepol. A P/TE para embriões produzidos a partir de ovócitos colhidos das doadoras Senepol durante o período chuvoso foi maior (Tabela 2). Dentro das estações do ano não foi detectado efeito de raças das doadoras de ovócitos na P/TE (Tabela 2). Diferente dos resultados encontrados, Watanabe et al. (2017) em uma análise retrospectiva de dados de vacas Nelore e Senepol avaliando resultados de PIVE e P/TE de receptoras, encontraram que no período chuvoso, a P/TE de doadoras Senepol foi maior se comparada com a P/TE de doadoras

Nelore, porém com maiores variações na quantidade de blastocistos produzidos ao longo do ano (13% a menos no período seco). Estes e demais autores afirmaram, que a maior variabilidade na quantidade dos blastocistos é devido à maior susceptibilidade de ovócitos de raças taurinas aos efeitos negativos do estresse por calor, enquanto a raça Nelore sofre menores variações na produção de blastocistos ao longo do ano (AL-KATANANI et al., 2002; FERREIRA et al., 2011; 2016).

Semelhante aos resultados do presente estudo para a raça Nelore, Jaguszeski et al. (2019) ao compararem a TE em diferentes estações do ano, observaram que embriões transferidos durante o período chuvoso resultaram em 44,5% de prenhez e embriões transferidos durante o período seco 45,72% de prenhez sugerindo que as receptoras não sofreram com as variações de temperatura e umidade, e a P/TE dessas receptoras não foi afetada pelo estresse térmico, em propriedades em que o manejo nutricional e sanitário era semelhante nas regiões do Acre e Rondônia.

## **6 CONCLUSÃO**

Conclui-se que a estação seca do ano influencia negativamente o número de ovócitos totais e de ovócitos viáveis coletados na raça Nelore, enquanto a quantidade de ovócitos totais e viáveis de doadoras Senepol se mantém constante ao longo do ano. A taxa de produção de embriões a partir de ovócitos de doadoras Nelore é menor no período chuvoso, porém mantém-se maior que a taxa produção de embriões a partir de ovócitos de doadoras Senepol ao longo do ano, enquanto a P/TE de embriões Senepol é reduzida durante período seco do ano.

## REFERÊNCIAS

- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS EXPORTADORAS DE CARNE INDUSTRIALIZADA - ABIEC. **Beef Report perfil da pecuária no Brasil 2022** (relatório anual). 2022. Available in: <Available in: <https://www.abiec.com.br/en/publicacoes/beef-report-2022-2/>>.
- AL-KATANANI, Y. M.; PAULA-LOPES, F. F.; HANSEN, P. J. Effect of season and exposure to heat stress on oocyte competence in Holstein cows. **Journal of dairy science**, v. 85, n. 2, p. 390–396, 2002.
- BARBOSA, C. P.; TONIOLLO, G. H.; GUIMARÃES, E. C. Produção *in vitro* de embriões de bovinos da raça nelore oriundos de ovócitos de ovários com e sem corpo lúteo. **Ciência Animal Brasileira / Brazilian Animal Science**, Goiânia, v. 14, n. 1, p. 81–90, 2013.
- BARUSELLI, P.S.; GIMENES, L.U.; SALES, J.N.S. Fisiologia reprodutiva de fêmeas taurinas e zebuínas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 31, n. 2, p. 205-211, abr/jun. 2007.
- BATISTA, E.O.S.; MACEDO, G.G.; SALA, R.V.; ORTOLAN, M.D.D.V.; SÁ FILHO, M.F.; DEL VALLE, T.A.; JESUS, E.F.; LOPES, R.N.V.R.; RENNÓ, F.P.; BAROSELLI, P.S. Plasma antimullerian hormone as a predictor of ovarian antral follicular population in *Bos indicus* (Nelore) and *Bos taurus* (Holstein) heifers. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 49, n. 3, p. 448-452, 2014.
- BERLING, F.; CASTRO, F. C. D.; OLIVEIRA, A. C. D. S. Influence of heat stress on *in vitro* oocyte and embryo production in high-yielding Holstein cows. **Ciência Animal Brasileira**, v. 23, 2022.
- BÓ G., & MAPLETOFT, R. Control of ovarian function for *in vivo* and *in vitro* embryo production. **Clinical Theriogenology**, v. 11, n. 3, p. 337-345, 2019.
- CEPEA; CNA. PIB do agronegócio brasileiro [online]. Disponível em: <https://www.cepea.esalq.usp.br/br/pib-do-agronegocio-brasileiro.aspx#:~:text=Considerando%2Dse%20os%20desempenhos%20da,pecu%C3%A1rio%20avan%C3%A7ou%20%2C11%25>. Acesso em: 25/05/2023.
- DE BARROS, F.R.O.; PAULA-LOPES, F.F. Cellular and epigenetic changes induced by heat stress in bovine preimplantation embryos. **Mol. Reprod. Dev**, v. 85, p. 810–820, 2018

DOBSON, H.; TEBBLE, J.E.; SMITH, R.F.; WARD, W.R. Is stress really all that important? **Theriogenology**, v.55, p.65-73, 2001.

FERRÉ, L.B.; KJELLAND, M.E.; STRØBECH, L.B.; HYTTEL, P.; MERMILLOD, P.; ROSS, P.J. Review: Recent advances in bovine *in vitro* embryo production: reproductive biotechnology history and methods. **Animal**. v. 14, n.99, p. 1-1004, 2020.

FERREIRA, R. M.; AYRES, H.; CHIARATTI, M. R.; FERRAZ, M. L.; ARAÚJO, A. B.; RODRIGUES, C. A.; WATANABE, Y. F.; VIREQUE, A. A.; JOAQUIM, D. C.; SMITH, L. C.; MEIRELLES, F. V.; BARUSELLI, P. S. The low fertility of repeat-breeder cows during summer heat stress is related to a low oocyte competence to develop into blastocysts. **Journal of dairy science**, v. 94, n. 5, p. 2383–2392, 2011.

GINTHER, O.J.; BEG, M.A.; DONADEU, F.X.; BERGFELT, D.R. Mechanism of follicle deviation in monovular farm species. **Animal Reproduction Science**, v. 78, n. 3-4, p. 239–257, Oct. 2003.

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

HANSEN, P. J. The incompletely fulfilled promise of embryo transfer in cattle—why aren't pregnancy rates greater and what can we do about it? **Journal of Animal Science**, v. 98, n. 11, 2020.

HENDRIKSEN, P. J. M.; VOS, P. L. A. M.; STEENWENG, W. N. M., BEVERS, M. M.; DIELEMAN, S. J. Bovine follicular development and its effects on the *in vitro* competence of oocytes. **Theriogenology**, v.53, n. 1, p. 11-20, 2000.

INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA DO BRASIL – INMET. Brasília - DF, 2021.

INTERNATIONAL EMBRYO TECHNOLOGY SOCIETY (IETS), Data Retrieval Committee. **Embryo Technology Newsletter**, v. 41, n. 4, 2023.

JAGUSZESKI, M. Z.; NETO, A. P.; OLIVEIRA, W.; CATTELAM, J.; GREGIANNI, H. A. G. Pregnancy rate of recipient cows after transfer of *in vitro*-produced Nellore embryos. **Revista Caatinga**. v.32, n. 4, 2019.

- JU, J.-C.; JIANG, S.; TSENG, J.-K.; PARKS, J.E., YANG, X. Heat shock reduces developmental and alters spindle configuration of bovine oocytes. **Theriogenology**, v. 64, n. 8, 2005.
- KAWANO, K.; SKAGUCHI, K.; MADALISTO, C.; YANAGAWA, Y.; KATAGIRI, S. Effect of heat exposure on the growth and developmental competence of bovine oocytes derived from early antral follicles. **Scientific Reports**. v. 12, n. 1, p. 8857. 2022.
- LOUREIRO, B.; BONILLA, L.; BLOCK, J.; FEAR, J.M.; BONILLA, A. Q.; HANSEN, P. J. Colonystimulating factor 2 (CSF-2) improves development and post-transfer survival of bovine embryos produced *in vitro*. **Endocrinology**, v. 150, p. 5046–5054. 2009.
- MACHATKOVÁ, M.; KRAUSOVÁ, K.; JOKESOVÁ, E.; TOMANEK, M. Developmental competence of bovine oocytes: effects of follicle size and the phase of follicular wave on *in vitro* embryo production. **Theriogenology**, v. 61, n. 3, p. 329-335, 2004
- MARINHO, L. S.; SANCHES, B. V.; ROSA, C. O.; TANNURA, J. H.; RIGO, A. G.; BASSO, A. C.; PONTES, J. H.; SENEDA, M. M. Pregnancy Rates to Fixed Embryo Transfer of Vitrified IVP *Bos indicus*, *Bos taurus* or *Bos indicus* × *Bos taurus* Embryos. **Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene**, v. 50, n. 5, p. 807–811, 2015.
- MELLO, R. R. C.; MELLO, M. R. B.; SOUSA, S. L. G.; FERREIRA, J. E. Parâmetros da produção *in vitro* de embriões da raça Sindi. **Pesq Agropec Bras**. v. 51, n. 10, p. 1773-1779, 2016.
- MIETKIEWSKA, K.; KORDOWITZKI, P.; PAREEK, C. S. Effects of Heat Stress on Bovine Oocytes and Early Embryonic Development – An Update. **Cells. MDPI**. v.11, n. 24, p. 4073. 2022.
- MORAES, J. C. F.; SOUZA, C. J. H.; GONSALVES, P. B. D. Controle do estro e da ovulação em bovinos e ovinos. In: Gonsalves PBD, Figueiredo JR, Freitas VJF. 51 **Biotécnicas Aplicadas à Reprodução Animal**, São Paulo: Livraria Varela, cap.3, p.25-55, 2001.
- PARK, J. S.; JEONG, Y. S.; SHIN, S. T.; LEE, K.-K.; KANG, Y.-K. Dynamic DNA methylation reprogramming: Active demethylation and immediate remethylation in the male pronucleus of bovine zygotes. **Dev. Dyn**, v. 236, p. 2523–2533, 2007.
- PONTES, J. H.; MELO STERZA, F. A.; BASSO, A. C.; FERREIRA, C. R.; SANCHES, B. V.; RUBIN, K. C.; SENEDA, M. M. Ovum pick up, *in vitro* embryo production, and pregnancy

rates from a large-scale commercial program using Nelore cattle (*Bos indicus*) donors. **Theriogenology**, v. 75, n. 9, p. 1640–1646, 2011.

RAMOS, A. F.; RUMPF, R.; CÂMARA, J. U.; MOLLO, M. R.; PIVATO, I.; MARQUES, A. P. Jr.; SARTORI, R. Effect of follicular wave synchronization on *in vitro* embryo production in heifers. **Animal Reproduction Science**, v. 117, n. 3-4, p. 201-207, Feb. 2010.

REIS, A.; METELO, R.; SANTOS, P.; SILVA, F. M. Efeito da estrutura ovárica e da idade de bovinos da raça Holstein Friesian na quantidade e qualidade de ovócitos e de embriões produzidos *in vitro*. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 43, n. 5, p. 629-636, 2006.

ROSETE FERNÁNDEZ, J. V.; ÁLVAREZ GALLARDO, H.; URBÁN DUARTE, D.; FRAGOSO ISLAS, A.; ASPRÓN PELAYO, M. A.; RÍOS UTRERA, Á.; TORRE SÁNCHEZ, J. F. D. L. Reproductive biotechnologies in beef cattle: five decades of research in Mexico. **Revista mexicana de ciencias pecuarias**, v. 12, p. 39-78, 2021.

SAKATANI, M.; YAMANAKA, K.; BALBOULA, A. Z.; TAKENOUCI, N.; TAKAHASHI, M. Heat stress during *in vitro* fertilization decreases fertilization success by disrupting anti-polyspermy systems of the oocytes. **Mol. Reprod. Dev.**, v. 82, p. 36-47, 2015.

SARTORI, R.; GIMENES, L. U.; MONTEIRO, P. L. J.; MELO, L. F.; BARUSELLI, P. S.; BASTOS, M. R. Metabolic and endocrine differences between *Bos taurus* and *Bos indicus* females that impact the interaction of nutrition with reproduction. **Theriogenology**, v.86, n.1, p.32-40, 2016.

SCHNEIDER, A.; PFEIFER, L. F. M.; RUMPF, R.; PIVATO, I.; DIONELO, J. L.; CORRÊA, M. N. Efeito da progesterona exógena em vacas doadoras de ovócitos sobre o desenvolvimento folicular e produção *in vitro* de embriões. **Acta Scientiae Veterinariae**, UFRJ, v. 33 ed. 1, 2005.

SIRARD, M. A.; PICARD, L.; DERY, M.; COENEN, K.; BLONDIN, P. The time interval between FSH administration and ovarian aspiration influences the development of cattle oocytes. **Theriogenology**, v. 51, n. 4, p. 699-708, Mar. 1999.

TROUT, J. P.; MCDOWELL, L. R.; HANSEN, P. J. Characteristics of the estrous cycle and antioxidant status of lactating Holstein cows exposed to heat stress. **J. Dairy Sci**, v. 81, p. 1244–1250, 1998.

VASSENA, R.; MAPLETOFT, R. J.; ALLODI, S.; SINGH, J.; ADAMS, G. P. Morphology and developmental competence of bovine oocytes relative to follicular status. **Theriogenology**, v. 60, n. 5, p. 923-932, Sep. 2003.

VIANA, J. H. M. **Statistics of embryo production and transfer in domestic farm animals, embryo industry on a new level: over one million embryos produced *in vitro***. In: IETS Data Retrieval Committee. Embryo Technology Newsletter, v. 36, n. 4, 2018.

WATANABE, Y. F.; DE SOUZA, A. H.; MINGOTI, R.D.; FERRAZ, J.B.S.; BARUSELLI, P.S. Number of oocytes retrieved per donor during OPU and its relationship with *in vitro* embryo production and field fertility following embryo transfer. **Animal Reproduction**, v. 14, n. 3, p. 635-644, 2017.

WIT, A. A. C.; WURTH, Y. A.; KRUIP, A. M. Effect of ovarian phase and follicle quality on morphology and developmental capacity of the bovine cumulus-oocyte complex. **Journal of Animal Science**, v. 78, n. 5, p. 1277-1283, May 2000.

WOLFENSON, D.; INBARA, G.; ROTH, Z.; KAUMB, M.; BLOCHA, A.; BRAW, T. R. Follicular dynamics and concentrations of steroids and gonadotropins in lactating cows and nulliparous heifers. **Theriogenology**, v. 62, n. 6, p. 1042-1055, Sep. 2004.