

PONTÍFICA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
ESCOLA DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E BIOLÓGICA
CURSO DE ZOOTECNIA

**ESTRATÉGIAS DE MELHORAMENTO GENÉTICO EM GADO DE
CORTE UTILIZANDO PRODUÇÃO *IN VITRO* DE EMBRIÕES**

Acadêmico: Larissa Linhares Gomes
Orientador: Prof. Dr. Otávio Cordeiro de Almeida



LARISSA LINHARES GOMES



ESTRATÉGIAS DE MELHORAMENTO GENÉTICO EM GADO DE CORTE UTILIZANDO PRODUÇÃO *IN VITRO DE EMBRIÕES*

Trabalho de conclusão de curso apresentado como requisito parcial para obtenção do grau de Zootecnista, junto Escola de Ciências Agrárias e Biológicas, da Pontifícia Universidade Católica de Goiás.

Orientador: Prof. Dr. Otávio Cordeiro de Almeida

Goiânia – Goiás

2021



LARISSA LINHARES GOMES



ESTRATÉGIAS DE MELHORAMENTO GENÉTICO EM GADO DE CORTE UTILIZANDO PRODUÇÃO *IN VITRO* DE EMBRIÕES

Trabalho de Conclusão de Curso apresentada à banca avaliadora em __/__/para conclusão da disciplina de TCC, no curso de Zootecnia, junto a Escola de Ciências Agrárias e Biológicas da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, sendo parte integrante para o título de Bacharel em Zootecnia.

Conceito final obtido pelo aluno: _____

Prof. Dr. Otávio Cordeiro de Almeida
(Orientador – PUC GO)

Prof.Dr. Gustavo Lage Costa
(Membro – PUC GO)

Prof.Dr. Antônio Viana Filho
(Membro – PUC GO)

Dedico este trabalho aos meus pais , que sempre estiveram ao meu lado e acreditam em mim. Todo meu esforço e dedicação são para eles!

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus e Nossa Senhora Aparecida, por ter ouvido minhas orações, ter me dado força e sabedoria para realizar a minha tão sonhada graduação.

Agradeço minha família por acreditarem em mim e me apoiarem em tudo!
Aos meus avós, João e Rita, por todos os ensinamentos, por todo amor e carinho!

Aos meus pais, Maria Divina e Antônio, sempre estiveram ao meu lado, me incentivando a nunca desistir dos meus sonhos, por todos os ensinamentos para eu ser uma pessoa do bem e por todo amor e cuidado.

Agradeço meu orientador Prof. Otávio Cordeiro de Almeida, por todos os ensinamentos, pela paciência e atenção por todos esses anos de graduação e principalmente no desenvolvimento deste trabalho

A todo corpo docente do curso de Zootecnia da PUC- Goiás, por todos os ensinamentos.

Aos meus grandes amigos que fiz durante a graduação, são pessoas incríveis, me proporcionando momentos divertidos e deixando minhas manhãs mais alegres. São amizades que vou levar para o resto da vida!

Agradeço as minhas amigas Lázara Carolinny, Alessa, Amanda e Thais que foram um presente que a faculdade me deu, uma amizade sincera e de muito companheirismo, pelos os conselhos e por todos ensinamentos. Obrigada por tudo meninas!

As minhas amigas, Isabella, Gabriela, Jordana e Naonny, por todos esses anos de amizade, lealdade e por todos ensinamentos. Agradeço a Deus pela nossa amizade linda! Obrigada por tudo meninas, vocês são para sempre!

“Para ser um campeão você tem que acreditar em si mesmo quando ninguém mais acredita” – Muhammad Ali

SUMÁRIO

	LISTA DE FIGURAS.....	vii
	LISTA DE TABELAS.....	ix
	RESUMO.....	x
1	INTRODUÇÃO.....	1
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	2
2.1	Anatomia e fisiologia do aparelho reprodutor da fêmea.....	2
2.2	Seleção de reprodutores para coleta e comercialização do sêmen.....	9
2.3	Seleção de matrizes.....	13
2.3.1	Seleção de fêmeas para coleta dos oócitos.....	13
2.3.2	Seleção de fêmeas receptoras.....	14
2.4	Protocolos para realização da fertilização <i>in vitro</i> (FIV).....	15
2.4.1	Aspiração folicular.....	17
2.4.2	Maturação ovocitária <i>in vitro</i> (MIV).....	18
2.4.3	Fertilização <i>In vitro</i> (FIV).....	20
2.4.4	Cultivo <i>In vitro</i> (CIV).....	21
2.4.5	Inovulação de embriões	22
2.5	Congelamento de embriões.....	23
2.6	Produção <i>in vitro</i> de embriões no ganho genético em bovinos de corte.....	24
3	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	26
4	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	27

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Representação esquemática do trato genital da fêmea bovina..	2
Figura 2	Representação esquemática do ovário.....	3
Figura 3	Representação ilustrativa das tubas uterinas.....	4
Figura 4	Representação ilustrativa do útero de uma fêmea bovina.....	5
Figura 5	Representação ilustrativa da cervix de uma fêmea bovina.....	5
Figura 6	Representação ilustrativa da vagina de uma fêmea bovina.....	6
Figura 7	Fluxograma bovino.....	7
Figura 8	Protocolo hormonal de fêmeas bovinas receptoras de transferência de embriões.....	16
Figura 9	Técnica de aspiração folicular para coleta de oócitos em animais <i>in vivo</i> por meio de ultrassonografia.....	17
Figura 10	Esquema demonstrativo de desenvolvimento do folículo dominante.....	19
Figura 11	Distribuição dos segmentos do sêmen nas diferentes camadas de Percoll.....	21

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Medidas em centímetros (média e desvio padrão), de peças anatômicas de pênis de touros da raça Nelore e Gir de 30 a 38 meses de idade.....	11
Tabela 2	Classificação andrológica por pontos para touros da subespécie <i>Bostaurus indicus</i> , baseada no perímetro escrotal e nas características físicas e morfológicas do sêmen.....	12
Tabela 3	Efeitos principais do grau de maturidade sexual da fêmea doadora sobre a taxa de recuperação e qualidade de CCOs....	14
Tabela 4	Taxas de prenhez e de perda embrionária com relação ao número de inovulações prévias realizadas nas receptoras de programa comercial de transferência de embriões.....	15
Tabela 5	Uso da quercetina na maturação <i>in vitro</i> e seu efeito na taxa de produção de blastocisto.....	19
Tabela 6	Efeito do local de inovulação sobre a taxa de prenhez em transferência de embriões frescos e vitrificados.....	23
Tabela 7	Número de embriões reidratados e não reidratados e suas respectivas taxas.....	24

RESUMO

Com o avanço do setor de bovinocultura de corte, profissionais da área vêm colocando em prática ferramentas que auxiliam na otimização e melhoria da eficiência reprodutiva do rebanho nacional, a fim de atender adequadamente a demanda. Desta forma, as biotécnicas de reprodução ganham força tendo em vista suas vantagens frente a manejos convencionais. A produção *in vitro* é implementada em muitas propriedades produtoras, por influenciar positivamente no ganho genético do animal, na redução do intervalo de gerações, assim como na garantia de qualidade genética do embrião a ser implantado. Como qualquer tecnologia, a mesma exige treinamento e capacitação adequados para que se obtenha o sucesso desejado. A produção *in vitro* de embriões possui como obstáculo, custo implícito nas etapas de todo o processo. Vários estudos são realizados com o intuito de analisar os fatores que interferem nos resultados da técnica

Palavras-chave: seleção das doadoras; seleção de receptoras; aspiração folicular

1- INTRODUÇÃO

Tratando-se de produção de carne bovina, o Brasil se enquadra como o segundo maior produtor, com um rebanho superior à 244 milhões de cabeças, sendo que o plantel de bovinos da Índia está em primeiro lugar. Em 2020 as exportações brasileiras de carne bovina *in natura* e processada atingiram o recorde de 2,016 milhões de toneladas. Segundo as informações da Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes (ABIEC) o crescimento foi de 8% comparado com o ano de 2019 (MENEZES., 2020).

O cenário mundial em relação a demanda produção de carne bovina para consumo humano atualmente exige do empresário rural grande esforço para a melhoria dos indicadores de eficiência reprodutiva, com vistas à melhoria da taxa de desfrute e conseqüentemente retorno econômico da atividade (FERREIRA., 2019).

Considerando que o Brasil possui grande capacidade de produção de carne devido ao clima tropical, e a vasta disponibilidade de pasto para a produção animal (LIMA., 2015). Os índices zootécnicos são ferramentas necessárias para tornar a pecuária mais eficiente e lucrativa. O rebanho brasileiro ainda apresenta índices reprodutivos abaixo do seu potencial, portanto para reverter esse quadro, a adoção de mão de obra qualificada, nutrição, sanidade e potencial genético do rebanho entram como pontos chaves no sistema (ALMEIDA., 2012).

Neste contexto, dentre as biotecnias reprodutivas disponíveis, a produção *in vitro* é uma das mais estudadas, tendo em vista seus inúmeros avanços tecnológicos aplicáveis já encontrados, de modo a fornecer condições vantajosas para o ganho genético do animal, permitindo a reposição de animais geneticamente superiores ao plantel, maximizando a quantidade de descendentes, acelerando o progresso genético dos rebanhos bovinos e diminuindo os intervalos de gerações entre os animais (MELO., 2016).

Por ser uma técnica extremamente promissora, as etapas para produção *in vitro* de embriões devem ser analisadas minuciosamente e planejadas de modo adequado.

Portanto esta revisão de literatura tem como objetivo descrever todo o processo para realização da produção *in vitro* e seus benefícios para a indústria da bovinocultura de corte.

2- REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Anatomia e fisiologia do aparelho reprodutor da fêmea bovina

A produção *in vitro* sendo uma das aplicações de biotécnicas da reprodução animal deve-se ter conhecimento da anatomia e da fisiologia da fêmea bovina. O aparelho reprodutor da fêmea bovina é composto pelos ovários, ovidutos, útero, cérvix, vagina, vestibulo da vagina e vulva (FIGURA 1) (SOARES *et al.*, 2018).

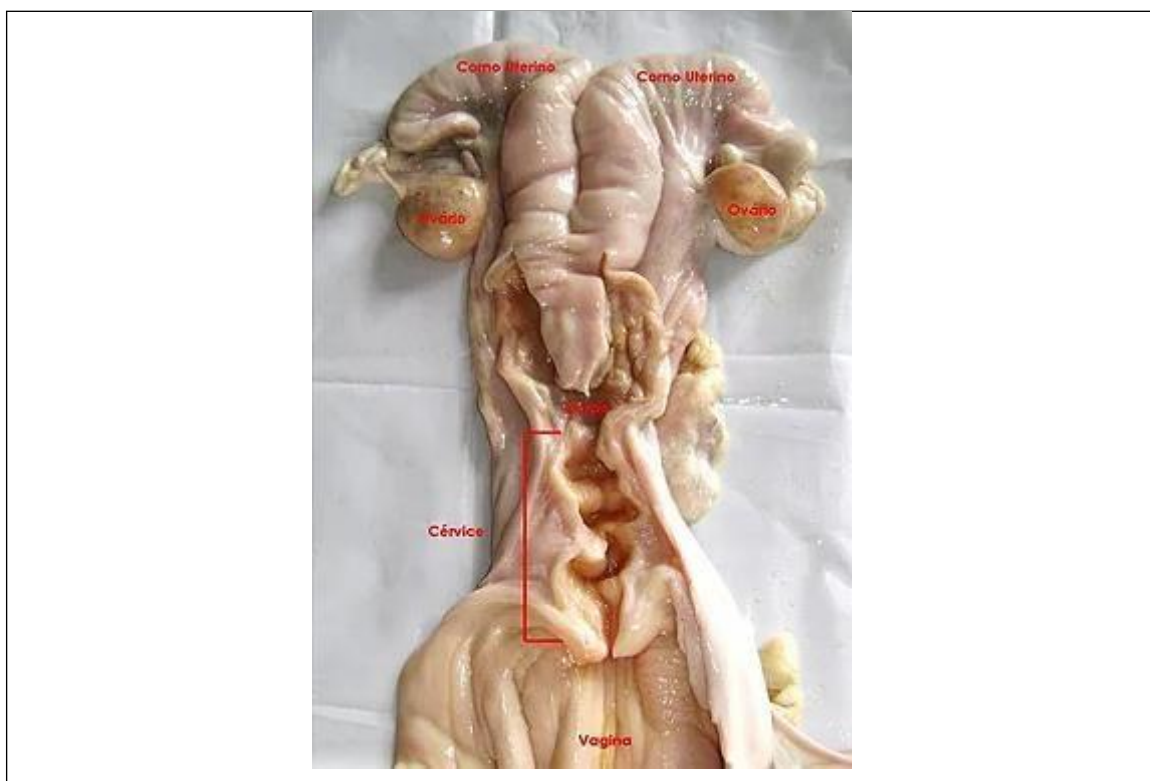


FIGURA 1- Representação esquemática do trato genital da fêmea bovina

FONTE: CORDEIRO *et al* (2018)

2.1.1 Ovários

Os ovários possuem uma zona medular (estroma), na qual se localiza nervos, vasos sanguíneos e linfáticos, e uma zona cortical (região parenquimatosa) na onde se desenvolvem os folículos ovarianos (FIGURA 2) (SENGER., 2012).

Este órgão varia suas dimensões conforme o período em que a fêmea se encontra, normalmente possuem formato elíptico, têm cerca de 1,5 a 5 cm de comprimento e seu diâmetro é entre 1 a 3 cm. Estes órgãos são sustentados pelo mesovário, e irrigados pela artéria ovariana. Desempenha função endócrina e exócrina (OTTE *et al.*, 2016).

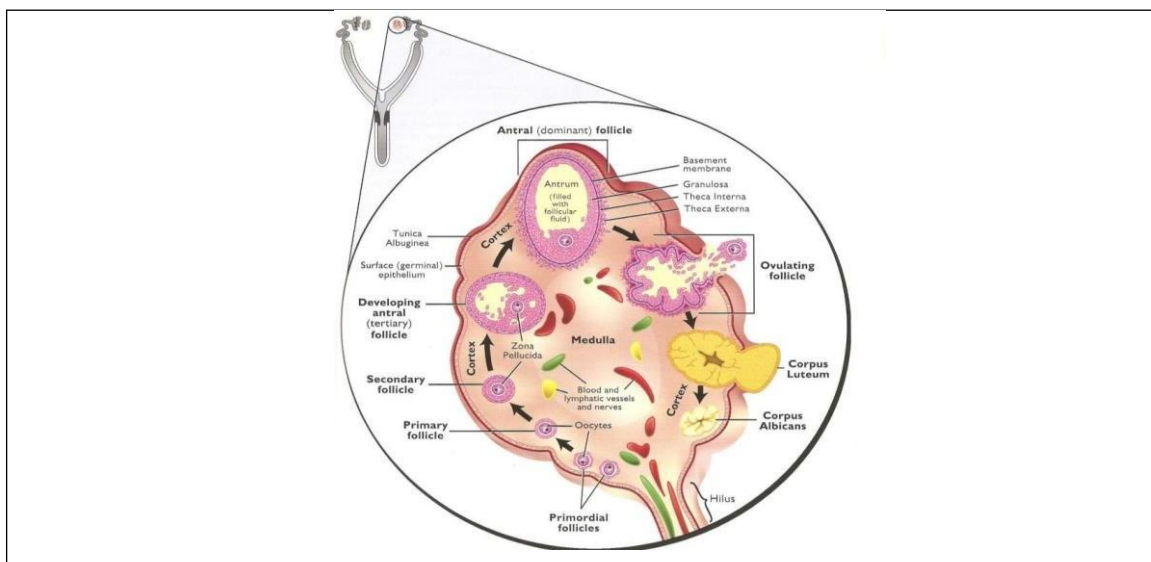


FIGURA 2- Representação esquemática do ovário

FONTE: DA SILVA. (2010)

2.1.2 Ovidutos

Segundo SOARES & JUNQUEIRA. (2018), os ovidutos ou também conhecido como tubas uterinas, possui 20 a 30 cm de comprimento e 2 a 3 mm de diâmetro, e estão diretamente ligadas com a anatomia dos ovários (FIGURA 3). Esse órgão é dividido em três estruturas funcionais:

- ✓ Infundíbulo – onde se localiza as fímbrias, com forma de franjas. Têm a função de captar os oócitos liberados pelo ovário.

- ✓ Ampola – onde ocorre o processo de fertilização.
- ✓ Istmo- é a estrutura que se liga ao corno uterino e capta os espermatozoides, realizando contrações para levá-los até a ampola.

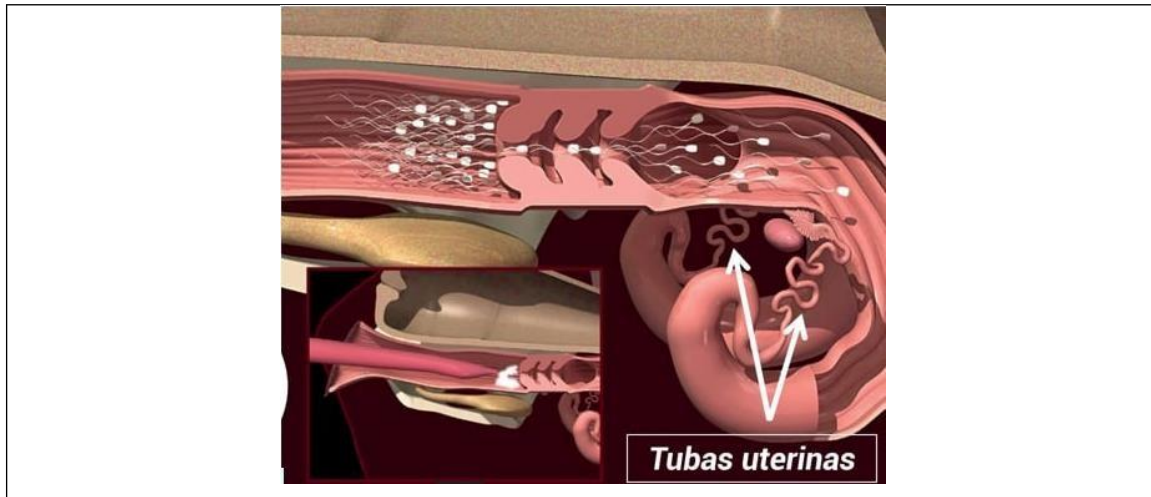


Figura 3 - Representação ilustrativa das tubas uterinas

Fonte: MORAES *et al.*, (2012)

2.1.3 Útero

O útero é uma cavidade musculomembranosa onde ocorre o desenvolvimento fetal (FIGURA 4). Apresenta três porções bem definidas: cornos uterinos, corpo uterino e colo uterino (conhecida como cérvix), e quando esticado tem formato de Y (SOARES *et al.*, 2018).

O tamanho do útero é variável, pois depende da idade da fêmea, quantidade de gestações e partições que a fêmea já teve, e do estado de desenvolvimento estrutural (escore). Estima-se, que um útero não gravídico, tem aproximadamente nos cornos 20 a 40 cm de comprimento e 1,2 a 4 cm de diâmetro (FRANDSON., 2016).



FIGURA 4- Representação ilustrativa do útero de uma fêmea bovina

FONTE: SENGER., (2012)

2.1.4 Cérvix

A cérvix é uma estrutura fibrosa que possui uma espessa parede, têm a função de uma “barreira” entre a vagina e o útero (FIGURA 5). Seu lúmen abre-se somente no cio ou no nascimento. Possui formato transverso sendo dividida geralmente, por quatro pregas, denominados anéis (SOARES *et al.*, 2019).

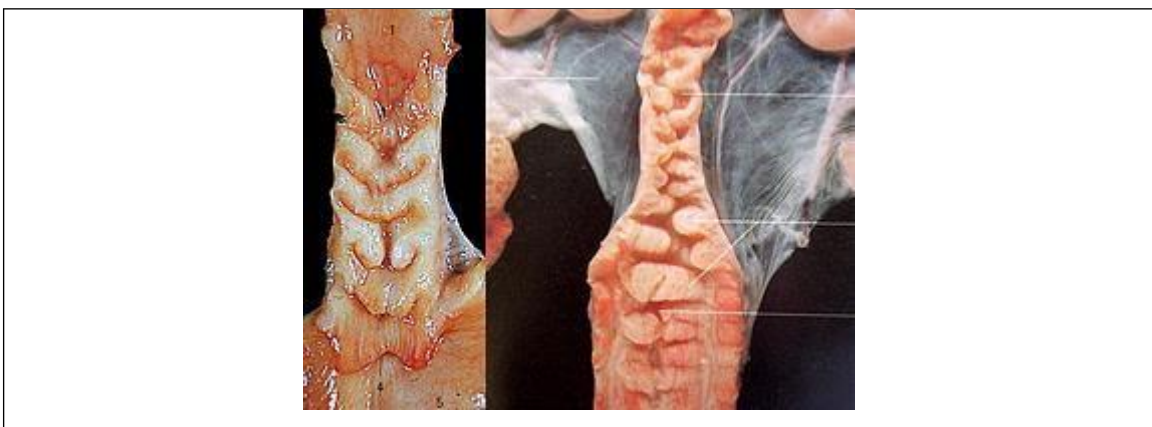


FIGURA 5 - Representação ilustrativa da cervix de uma fêmea bovina

FONTE: FRANDSON *et al.*, (2016)

2.1.5 Vagina

Está localizada entre o colo do útero e os lábios vulvares, com forma tubular e diferentes diâmetros internos em consequência do grande número de pregas. Apresenta um comprimento aproximado de 30 cm, apresentando sua porção cranial um formato de fundo de saco, na qual se encontra a porção vaginal da cérvix (entrada do colo) é denominada de fórnice vaginal (FIGURA 6). A vagina e óstio externo da cérvix respondem pelo fechamento externo do trato genital feminino através dos lábios vulvares (JUNIOR *et al.*, 2010).



FIGURA 6 - Representação ilustrativa da vagina de uma fêmea bovina

FONTE: FRANDSON *et al.*, (2016)

2.1.6 Vestíbulo da vagina

Outro componente do trato reprodutor das fêmeas bovinas é o vestíbulo da vagina. A junção entre a vagina e o vestíbulo é apontada pelo orifício uretral e comumente por uma saliência (o hímen vestigial). Há casos de vacas, que o hímen é tão proeminente que gera interferência na cópula. O vestíbulo mede aproximadamente 10 cm (MORAES., 2014).

2.1.7 Vulva

A vulva é composta por lábios vulvares. Ela compreende a abertura externa do trato reprodutivo. Os lábios vulvares se unem conjuntamente nos ângulos dorsal (arredondado) e ventral (agudo) (KÖNIG & LIEBICH, 2011).

Para o estabelecimento da atividade reprodutiva o eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal é responsável por desencadear uma série de eventos que influenciam na ciclicidade, determinando então os eventos endocrinológicos reprodutivos que caracterizarão as diferentes fases do ciclo estral (FIGURA 7) (MORAES., 2014).

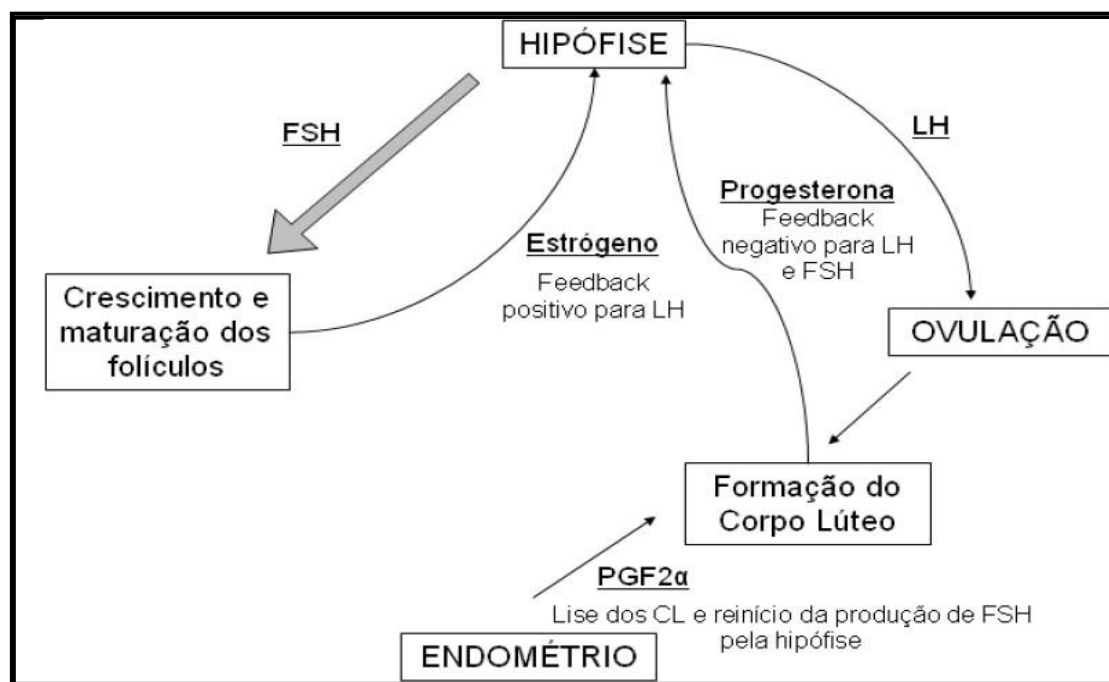


FIGURA 7 – Fluxograma bovino

FONTE: BARRIO (2014)

O hipotálamo produz e armazena o GnRH (hormônio liberador de gonadotrofina), que atua na hipófise anterior levando a liberação de FSH e LH (hormônios gonadotróficos folículo-estimulantes e luteinizante, respectivamente), os mesmos atuam diretamente no sistema reprodutivo. O FSH atua estimulando o desenvolvimento folicular e síntese de estrógeno pelas células da granulosa, enquanto o LH contribui para maturação final do folículo e ovulação (DAVIDSON & STABENFELDT., 2014).

A fêmea bovina é geralmente poliéstricas não sazonais, ou seja, com ciclos estrais regulares intervalados em 21 dias. Em condições fisiológicas normais o ciclo possui quatro fases proestro, estro, metaestro e diestro (BENITES & BARUSELLI, 2011).

Na fase folicular ocorre a regressão do corpo lúteo e estende-se até a ovulação. Durante esta fase existe a predominância de folículos em crescimento e produção de estradiol. O proestro pode durar de dois a três dias e nessa fase ocorrem alterações anatômicas (edema e hiperemia vulvar), relaxamento da cérvix (como preparação para acasalamento ou inseminação); ocorre também estímulo para secreção de muco que reveste a porção anterior do cérvix e comportamentais (fêmeas saltam umas sobre as outras, mas não permitem a monta). Alterações estas provocadas pelo alto nível de estrógeno produzido pelos folículos ovarianos (KÖNIG & LIEBICH., 2011).

Já no estro haverá manifestação de receptividade sexual, por consequência dos altos níveis de estrógeno sérico. As vacas em cio (estro) irão manifestar postura submissa para serem montadas pelo touro e/ou por outras vacas do rebanho, irão apresentar atividade aumentada, mugidos constantes, vulva edemaciada, mucosa vestibular e vaginal hiperêmica, secreção de muco vaginal de cor clara. A duração média do estro é 12 a 18 horas, sendo este valor variável, haja vista, que vários fatores podem influenciá-lo, como por exemplo, a raça (DIRKSEN., 2013).

Durante a fase denominada metaestro, que têm duração média de dois a três dias, ocorre a ovulação que é desencadeada em média 12 horas após o termino do estro. As células do folículo ovariano após a ovulação, irão se reorganizar e multiplicar, dando origem ao corpo lúteo, responsável principalmente, pela produção de progesterona. A fêmea neste estágio, não aceita mais ser montada e pode ser avaliado em alguns animais, secreção de muco sanguinolento (BENITES & BARUSELLI, 2011).

O diestro é conhecido como sendo o maior período do ciclo estral, sendo este estágio caracterizado pela intensa atividade do corpo lúteo, que secreta alta concentração de progesterona. A mucosa vaginal se apresenta rosada e não muito úmida, enquanto a cérvix se apresenta bloqueada pela formação de um tampão mucoso. Ao fim do diestro, as concentrações de progesterona decrescem

(devido a lise do corpo lúteo, mediada pela prostaglandina F2 α) levando ao início de um novo ciclo estral. Entretanto, caso haja presença de um conceito, a luteólise não ocorre e a gestação prossegue (SOARES., 2018).

2.2 Seleção de reprodutores para coleta e comercialização de sêmen

Animais de alto potencial genético são utilizados como reprodutores e seu material seminal possui grande valorização comercial. É importante frisar que touros selecionados para reprodução passam por inúmeras etapas que atestem sua real qualidade reprodutiva, porém além disto, específicas formalidades são extremamente necessárias, como: registro do animal no ministério e a certificação do animal na associação da raça, contendo atestado de pureza e índices zootécnicos – o teste com resultado negativo para brucelose e tuberculose também são outros pré-requisitos solicitados (SIMÕES., 2017).

Dentro das centrais de reprodução, inspeções sanitárias, avaliações das genitais e avaliações do potencial genético de cada animal, contando ainda com análises da *potentia coeundi* (diz respeito a capacidade de monta) e *potentia generandi* (diz respeito a capacidade fecundante) (ALFARO., 2011). Em sequência, obrigatoriamente os animais devem ser submetidos a um período de quarentena no qual são procedidos o exame andrológico e a coleta do material genético para diagnóstico de campilobacteriose, tricomonose, brucelose, diarreia viral bovina (BVD), leucose e rinotraqueíte infecciosa dos bovinos (IBR) (MENEGASSI, 2015).

É sabido que o exame andrológico faz-se primordial para seleção de touros pois caracteriza seu potencial reprodutivo, atendendo ao diagnóstico da saúde sexual, hereditária e reprodutiva. O respectivo exame não é somente proposto com o objetivo de selecionar reprodutores, mas é também indicado em casos de histórico de infertilidade do animal, por exemplo (PEÑA., 2011).

A identificação tanto de informações pessoais do proprietário como especificações do animal são fundamentais, a exemplo dessas últimas deve ter o nome do animal, raça, espécie, número de registro, brinco, tatuagem, data de nascimento, filiação, peso, foto do touro e seu histórico de saúde, relação das

últimas doenças que possam ter acometido o animal, em conjunto com a descrição do tratamento realizado. Considera-se de praxe o conhecimento da dieta deste animal, assim como a atividade sexual (participação em estação de monte, índice de prenhez) (NUNES, 2018).

Ainda dentre as avaliações realizadas nos machos bovinos reprodutores, ressalta-se a grande importância de conferir o perfeito funcionamento dos sistemas locomotor, respiratório, circulatório, digestivo e nervoso, pois os mesmos contribuem indiretamente para a qualidade reprodutiva do animal. Sendo que determinados comprometimentos nos aprumos, podem prejudicar o animal no ato da monta para coleta seminal ou mesmo problemas digestivos podem acarretar em redução da qualidade do material genético. Logo, tais fatores são indispensáveis de avaliar-se (ALFARO, 2011).

A análise do escore de condição corporal (ECC) é caracterizada como uma variável crucial na seleção de disseminadores seminais, pois o desempenho reprodutivo está associado com a condição corporal que é avaliada através de uma pontuação de escore corporal, permitindo que uma medida com alto grau de subjetividade torne-se quantificável. Na prática o animal pode ser classificado dentro da faixa entre 1 e 5, sendo que 1 representa um animal muito magro e 5 um animal obeso (FARIAS *et al.*, 2018).

Dentre os processos de avaliação do aparelho reprodutor, existem duas análises a serem realizadas: avaliação interna (transretal) e avaliação externa, onde na primeira, são examinadas (por meio de palpação ou ultrassom), as glândulas sexuais acessórias, sendo elas: ampolas dos ductos deferentes, glândulas vesiculares, próstata e bulbouretrais, estas últimas normalmente não são palpáveis. Dentre os parâmetros mensurados tem-se tamanho, consistência, simetria, sensibilidade e mobilidade. Quando utilizado o auxílio do ultrassom na avaliação interna, é possível investigar a ocorrência de alterações na vesícula, como fibrose. Na avaliação externa, é examinada presença de lesões, a temperatura, elasticidade da pele, ectoparasitas, espessura, sensibilidade e mobilidade, de toda a bolsa escrotal (MENEGASSI, 2015).

Não é possível utilizar dados padronizados para avaliar as condições morfológicas da bolsa escrotal de diferentes raças de touros, considerando que cada animal possui suas especificidades, no que tange a genética e também a idade do animal, sistema de criação. Ainda na mesma região, analisa-se todo o corpo do epidídimo (responsável pela produção espermática), verificando-se integridade, temperatura e volume. Nos cordões espermáticos é examinados volume, sensibilidade e torções e no prepúcio são examinados integridade da pele, mucosa e tecido subcutâneo, presença de feridas e ectoparasitas (MARIANO, 2015).

No que tange o aparelho reprodutor do macho bovino, a respeito da inadequação de utilização de padrões, nas análises morfológicas devido aos parâmetros de singularidade entre animais, como por exemplo genética, o trabalho realizado por MENDONÇA *et al* (2012) provou tais informações, utilizando 40 touros, 20 da raça Nelore e 20 da raça Gir, com idade de 30 a 38 meses e peso entre 382 e 468 Kg. O intuito foi de caracterizar e diferenciar alguns aspectos morfométricos do pênis e prepúcio de touros das raças Nelore e Gir. Dentre os resultados os autores encontraram que o comprimento médio do pênis e prepúcio de touros da raça Nelore foi de 71,96 cm e 52,4 cm, respectivamente e nos touros da raça Gir de 75,73 cm e 57 cm, respectivamente (TABELA 1). Os resultados contribuem para que sejam conhecidos padrões em distintas raças, a fim de correlaciona- los com outras medidas corporais necessárias para a seleção de reprodutores.

TABELA 1 - Medidas em centímetros (média e desvio padrão), de peças anatômicas de pênis de touros da raça Nelore e Gir de 30 a 38 meses de idade.

Raça	CP	GL	FS	PL	CDA	RCP
Nelore	71,9 ± 0,9 ^B	3,1 ± 0,1 ^B	31,6 ± 1,0 ^B	9,0 ± 0,3 ^B	30,6 ± 0,7 ^A	9,8 ± 0,8 ^B
Gir	75,8 ± 1,6 ^A	3,3 ± 0,1 ^A	34 ± 0,7 ^A	9,8 ± 0,3 ^A	30,6 ± 0,7 ^A	11,1 ± 0,4 ^A

CP - comprimento peniano, GL - comprimento da glândula, FS - comprimento da flexura sigmóide, PL - comprimento da parte livre, CDA - comprimento da curvatura distal ao ápice e RCP - comprimento da raiz à curvatura proximal. Médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente pelo teste t de Student ($p < 0,05$).

FONTE: MENDONÇA., (2012)

Ainda no contexto de avaliações para seleção de reprodutores, faz-se necessário que o touro passe pelo teste de libido. O teste é composto por análises que visam investigar a qualidade olfativa, reflexo de flehmen (ação do touro de levantar a cabeça e o lábio superior, quando em contato com uma fêmea na fase de estro). A avaliação de liberação de líquido seminal também é uma observação desejada dentro do teste de comportamento sexual, quando em contato com fêmeas que estão ou não no cio (GALVANI, 1998).

RONDA *et al.*, (2015) confirmam que há uma grande quantidade de trabalhos realizados com o intuito de avaliar reprodutores bovinos de alto potencial, utilizando como complemento ao exame andrológico, principalmente a classificação andrológica por pontos (CAP) e o comportamento sexual (como descrito anteriormente). A classificação andrológica por pontos permite associar fatores que são inerentes à reprodução como idade, puberdade, qualidade do sêmen, perímetro escrotal e componentes genéticos, por meio da pontuação e ranqueamento dos reprodutores dentro das categorias, excelente, muito bom, bom e questionáveis.

Ainda que já obtidas vantagens incontestáveis como, identificação de animais férteis e inférteis, permitindo otimização de recursos investidos -, a respeito da realização do exame andrológico, alguns produtores não adotam a prática, sendo assim FILHO *et al.* (2015) realizaram estudo com o objetivo de avaliar touros da raça Braford, em avaliação andrológica por pontos e determinar a eficiência do teste da libido em curral. Os autores utilizaram 36 indivíduos, com 21 meses de idade. A exemplo da avaliação andrológica por pontos, FILHO *et al.* (2015) utilizaram como base para seu estudo, os parâmetros indicados por FONSECA *et al.* (1997) (TABELA 2)

TABELA 2 – Classificação andrológica por pontos para touros da subespécie *Bos taurus indicus*, baseada no perímetro escrotal e nas características físicas e morfológicas do sêmen.

	Excelente	Muito bom	Bom	Questionável
Parâmetros	Classificação			
Motilidade espermática Vigor (0-5)	5	4 < 5	3 < 4	< 3
Motilidade progressiva (%)	75	60 - 75	30 < 60	< 30
Morfologia espermática				
Defeitos maiores (%)	5	> 5-10	> 10 - 20	> 20
Defeitos totais (%)	10	> 10 - 15	> 15 - 30	> 30

Fonte: Filho et al (2015)

Foi concluído que a classificação andrológica por pontos pode ser utilizada de forma complementar ao exame andrológico, auxiliando na seleção de touros do mesmo rebanho. Quanto ao teste de libido, foi estimado que o tempo de 15 minutos seria suficiente para ranquear os animais.

2.3 Seleção de matrizes

2.3.1 Seleção de fêmeas para coleta de oócitos

Dentre os requisitos exigidos para que uma fêmea seja escolhida como doadora de oócitos, enquadram-se aquelas que são capazes de um recrutamento de um maior número de folículos, sendo extremamente valorizadas, processo esse que ocorre de maneira natural. A realização da punção folicular não impossibilita as fêmeas que apresentem anomalias uterinas ou estejam gestantes, pois a condição prioritária é que seja possível manusear os ovários e que os mesmos contenham boa condição de ciclicidade. Entretanto, fêmeas que possuam desordens hormonais causadas por cisto ovarianos, por exemplo, não são doadoras aconselháveis, pois impactam negativamente sobre a qualidade dos gametas (PONTES *et al.*, 2011).

Tratando-se da qualidade dos gametas, é sabido que animais em diferentes estágios da vida reprodutiva, possuem distintos níveis de competência dos oócitos ao desenvolvimento. Além deste fator, variáveis como a raça da fêmea, efeito da nutrição, idade da doadora, efeito da estimulação hormonal, efeito do reprodutor, efeito do transporte e meios de cultivo são considerados determinantes para a qualidade oocitária (BECHER *et al.*, 2018).

Ainda que fêmeas pré-púberes forneçam oócitos com reduzida competência ao desenvolvimento no que se refere a taxa de clivagem e formação de blastocistos a inclusão das mesmas representa redução de intervalos de gerações, acelerando o melhoramento genético (LANDRY *et al.*, 2016).

CHAGAS *et al* (2014) realizaram estudo contendo 396 ovários, coletados de 198 fêmeas *Bos indicus* após o abate. No trabalho os autores propuseram estudar os fatores anatomofisiológicos que interferem na qualidade de oócitos bovinos. Os ovários foram separados por categorias, sendo distribuídos em nulípara vs múltipara. Dentre os resultados não foram observadas diferenças significativas na taxa de recuperação ou mesmo na qualidade dos oócitos de fêmeas nulíparas vs múltiparas, permitindo indicar que a categoria da doadora

não seria fator influenciador na qualidade de oócitos (TABELA 3).

TABELA 3 - Efeitos principais do grau de maturidade sexual da fêmea doadora sobre a taxa de recuperação e qualidade de CCOs.

Variável	Grau de maturidade sexual	
	Múltiparas no./ total (%)	Nulíparas no./ total (%)
Taxa recuperação	1329/3176 (41,8)	706/1764 (40,0)
Grau I	776/1329 (57,6)	393/706 (55,7)
Grau II	221/1329 (16,6)	136/706 (19,3)

Não houve diferença significativa entre nulíparas vs múltipara ($P > 0,05$).

FONTE: MENDONÇA., (2012).

Em suma, os fatores que estão ligados a fêmea doadora podem influenciar de maneira negativa ou positiva, sendo assim cabe ao profissional que selecionará a avaliação minuciosa do animal.

2.3.2 Seleção de fêmeas receptoras

Primeiramente, deve se considerar que a escolha de fêmeas que serão receptoras é um ponto que demanda extrema cautela haja vista que deve-se priorizar a utilização de animais do próprio rebanho, para que se tenha conhecimento e registro do seu histórico produtivo e reprodutivo. Com isto, inúmeros protocolos hormonais são utilizados com o objetivo de estimular a sincronia doadora-receptora, por meio da utilização de um ou mais hormônios (SOUZA., 2014).

Dos requisitos que as receptoras devem portar para que seja apta ao procedimento, estão: apresentar atividade cíclica regular; estarem a mais de 60 dias pós parto; livres de doenças e anomalias no trato reprodutivo. Além destes, sugere-se a adequação do porte da raça do embrião a ser transferido com a fêmea receptora (KAERCHER *et al.*, 2011).

SCANAVEZ *et al* (2011) avaliaram resultados de 1100 transferências de embriões $\frac{1}{2}$ Holandês/Gir ($n=139$) e $\frac{3}{4}$ Holandês/Gir, realizadas em novilhas receptoras $\frac{1}{2}$ Nelore/Simental sincronizadas. Os autores tiveram como objetivo de avaliar os diversos efeitos, dentre eles o número de inovulações prévias realizadas em cada receptora, sobre as taxas de prenhez e de perda de gestação em receptoras de embriões bovinos. Como mostrado na TABELA 4, não houve efeito do número de inovulações prévias das receptoras nas taxas de prenhez e de perda gestacional.

TABELA 4 - Taxas de prenhez e de perda embrionária com relação ao número de inovulações prévias realizadas nas receptoras de programa comercial de transferência de embriões.

Número de inovulações prévias	Taxa de prenhez % (n)	Taxa de perda de gestação % (n)
1	56,6 (322/569)	10,9 (35/322)
2	61,9 (180/292)	10,0 (18/180)
3	55,5 (61/110)	9,8 (6/61)
≥4	55,0 (71/129)	4,2 (3/71)
Valor P	0,615	0,322

FONTE:: SCANAVEZ et al (2011)

Está variável possui relevância pois evidencia a viabilidade de manutenção de novilhas receptoras em programas de transferência por pelo menos até quatro inovulações (prática de deposição dos embriões no estágio inicial de desenvolvimento do útero de fêmeas receptoras).

Na prática, no dia de realização do procedimento de fato é conduzida uma palpação transretal para avaliação do tamanho do corpo lúteo, assim tem-se conhecimento do estado reprodutivo da fêmea, sendo possível escolher adequadamente os procedimentos de manipulação e sincronização do ciclo estral (HONORATO., 2013).

2.4 Protocolos para realização de fertilização *in vitro* (FIV)

Um fator de grande importância na FIV diz respeito ao momento da inovulação propriamente dita, pois a fêmea receptora precisa estar na fase do ciclo estral compatível com a fase de desenvolvimento embrionário. Logo, levando em consideração que tais processos coincidam, faz-se uso de protocolos de inseminação de estro ou de ovulação. Contudo, deve-se lembrar que a detecção do corpo lúteo por palpação retal ou ultrassonografia e a observação do comportamento sexual das fêmeas são elementos indispensáveis para a utilização e eficiência dos protocolos (LUSTOSA et al., 2018).

Dentre as principais vantagens que giram em torno da utilização de protocolos, está o aproveitamento e/ou otimização de tempo demandado para o manejo, além disso a técnica permite que seja utilizado número reduzido de

animais. Nos estudos sobre transferência de embriões, é pretendido o desenvolvimento de protocolos de indução de ovulação múltipla a partir de uma nova geração de hormônios, para que seja feita a transferência de embriões em tempo fixo (TETF) (DA SILVA *et al.*, 2015).

A exemplo, em estudo realizado por MORAES *et al.* (2012) foram utilizadas 1.802 fêmeas bovinas receptoras, distribuídas em dois tratamentos, sendo 1) grupo controle, composto por animais que não receberam nenhum protocolo hormonal, sendo os embriões transferidos após observação do estro natural e 2) grupo TETF, as receptoras foram sincronizadas com protocolo hormonal iniciado em um dia aleatório do ciclo estral, com a inserção de um implante intravaginal com 1g de progestágeno e administração de 2mg de

benzoato de estradiol, sendo esse considerado o dia 0 (D0). No D8, o implante intravaginal foi removido, sendo administrados 0,15 mg de PGF2 α (D-cloprostenol), 0,5 mg de cipionato de estradiol e 300 UI de eCG (Gonadotrofina Coriônica Equina). A transferência de embriões foi realizada sete dias após a detecção do estro no grupo controle e no D17 no grupo TETF (FIGURA 8).

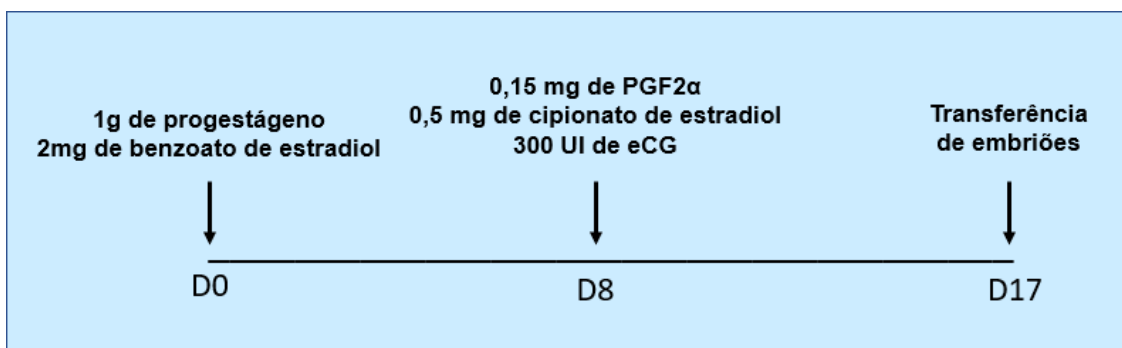


FIGURA 8 – Protocolo hormonal de fêmeas bovinas receptoras de transferência de embriões. FONTE : MORAES *et al.* (2012).

Em conclusão, devido a não diferença estatística detectada entre os tratamentos de MORAES *et al.* (2012), os dois métodos, com e sem o uso do protocolo hormonal mostraram a mesma eficácia em relação na avaliação da taxa de concepção (objetivo do trabalho) sendo, 30,1% e 32,7% respectivamente.

Diversos protocolos são investigados para melhor aplicabilidade, devido a variabilidade de respostas que cada fármaco presente nestes protocolos, proporciona a técnica (VIEIRA *et al.*, 2012).

2.4.1 Aspiração folicular

A aspiração folicular é o nome dado a uma das técnicas que objetiva a coleta de oócitos em animais *in vivo*, realizada com o auxílio de ultrassonografia, também pode ser conhecida como Ovum pick up (OPU). Dentre os outros métodos que eram feitos frequentemente antes do uso em grande expansão da OPU, estão a laparotomia ventral média (*in vivo*) e as técnicas *post mortem*, como punção folicular, slieng (DE SOUZA., 2019).

O aumento exponencial de realização da OPU se deu por apresentar vantagens que vão desde sua ação não invasiva até a possibilidade de utilização em qualquer fase do ciclo estral e não necessidade de pré estimulação com protocolos hormonais (PEIXER *et al.*, 2018).

Na prática, a coleta de oócitos em fêmeas bovinas é realizada pela punção folicular com uma agulha acoplada a uma sonda transvaginal, de forma que os folículos a serem puncionados são observados no aparelho de ultrassom (FIGURA 9). No método OPU, pretende-se aspirar de folículos oócitos com diâmetro de 2 a 8 mm (folículos menores que 2 mm são incapazes de recomençar a fase de meiose e maiores de 8 mm normalmente se encontram em estágio de atresia para a maturação, inviabilizando as duas formas) (BOLS *et al.*, 2012).



FIGURA 9 – Técnica de aspiração folicular para coleta de oócitos em animais *in vivo* por meio de ultrassonografia.

FONTE: Embrapa (2020).

Outro benefício da técnica de aspiração folicular que contribui para seu sucesso, é a oportunidade de uso em fêmeas inférteis devido a patologias no trato reprodutivo, geralmente estas fêmeas não mostram resultados positivos com o uso de outros tratamentos para coleta de embriões (SIRARD, 2017).

ZANIN. (2013) coletaram 7.335 oócitos coletados por aspiração folicular transvaginal, sendo avaliados produção total embriões e prenhez por fêmea, comparando-as entre as raças Girolando, Brangus e Nelore. Destes, 3.597 foram considerados viáveis (49%), produzindo 969 embriões (26.93%), destes foram transferidos 922 embriões. No comparativo entre raças, foi observada que a quantidade total de oócitos não variou entre as raças, porém foi notada variação individual de animais da mesma raça.

Em concordância, PONTES *et al.* (2010) afirmam que fêmeas da raça Nelore têm uma grande variabilidade individual em relação ao número de folículos e oócitos, entretanto, a média de oócitos aspirados por sessão das raças de origem européia não superam as zebuínas.

Fêmeas *Bos indicus* apresentam mais ondas foliculares ovarianas que as *Bos tauros*, além de maior tamanho de folículos (>5 mm por onda). Devido a essa maior eficiência em se recuperar oócitos oriundos de folículos <4 mm, uma maior quantidade de folículos menores são aspirados e por consequência um maior número de oócitos são recuperados em animais de raças *Bos indicus* (SANTOS *et al.*, 2011).

2.4.2 Maturação oocitária *in vitro* (MIV)

Todo o processo de maturação oocitária é caracterizada por uma sequência de eventos nucleares e citoplasmáticos. O procedimento sendo *in vitro*, permite o desenvolvimento dos oócitos fora do ambiente folicular (DEY *et al.*, 2012).

Na espécie bovina os oócitos iniciam seu crescimento e maturação durante o intervalo das ondas foliculares, entretanto um único oócito é ovulado enquanto que os demais sofrem atresia (FIGURA 10). A partir desta informação, foi vista a oportunidade de obtenção de uma grande quantidade de oócitos ainda imaturos dos ovários, a fim de cultivá-los artificialmente até sua fase madura (MELLO *et al.*, 2014).

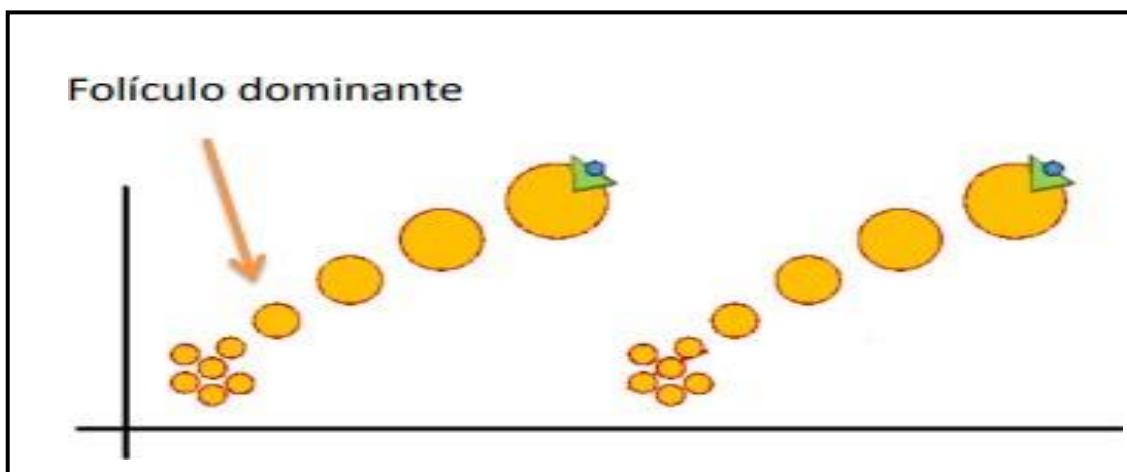


FIGURA10 – Esquema demonstrativo de desenvolvimento do folículo dominante.

FONTE: MELLO *et al* (2014).

O desenvolvimento dos oócitos depende de uma série de fatores como o meio de cultivo, temperatura, suplementação proteica e fatores de crescimento. Vários trabalhos vêm sendo realizados com o objetivo de melhoria de eficiência da técnica de MIV, por meio de modificações no meio de cultivo. Como exemplo, estuda-se sobre o melhor equilíbrio da presença de espécies reativas de oxigênio durante a produção de embriões *in vitro*, oriundas da tensão de O₂, exposição a luz e excesso de manipulação (YANG *et al.*, 2013).

Ainda neste contexto, no estudo de GUEMRA *et al.* (2013) foi investigado o uso da quercetina (flavonoide com ação antioxidante) durante a fase de maturação *in vitro* e o seu efeito sobre a taxa de produção de blastocisto. No experimento foram utilizados 512 oócitos. O desenvolvimento embrionário variou entre os tratamentos, o percentual de blastocisto (último estágio de desenvolvimento do oócito) foi superior ($P < 0,05$) entre os grupos tratados com 0,4, 2, 10 e 50 μM de quercetina (56,9, 59,5, 53,6 e 49,6%, respectivamente) em relação ao grupo controle (TABELA 5).

TABELA 5 - Uso da quercetina na maturação *in vitro* e seu efeito na taxa de produção de blastocisto.

Tratamentos	Oócitos Nº	Blastocisto Nº (% \pm dpm)
Quercetina 0,4 μM	295	168 (56,9 \pm 3,3)ab
Quercetina 2 μM	287	171 (59,5 \pm 1,9)a
Quercetina 10 μM	287	154 (53,6 \pm 4,9)bc
Quercetina 50 μM	294	146 (49,6 \pm 3,1)c
Controle	253	107 (42,3 \pm 4,2)d

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença ($P < 0,05$) entre tratamento.

FONTE: GUEMRA.*et al*

Tratando-se da fase pós maturação, ainda há necessidade de se controlar temperatura, pH, osmolaridade, tensão de CO₂ e O₂ e uso do soro e células somáticas. O período de maturação é concluído quando ocorre a extrusão do primeiro corpúsculo polar, a partir de então os oócitos estão prontos para a fecundação (SILVA et al., 2011).

2.4.3 Fertilização *in vitro* (FIV)

A fecundação é a etapa seguinte a maturação do processo de produção *in vitro* de embriões, é caracterizada pelo momento de fecundação (contato do segmento equatorial do espermatozóide e a membrana plasmática do oócito) dos oócitos pelos espermatozoides, gerando um zigoto que irá evoluir para o estágio de blastocisto (KASSESNS et al., 2015).

A FIV deve ser realizada por um período médio de 18 a 22 horas, 38,5°C de temperatura, atmosfera com 5% de CO₂ em ar e umidade a 95%. O dia da fertilização é considerado como o dia zero (D0) e a literatura cita a importância do meio de fecundação que permita a capacitação dos espermatozoides, sendo que o mais comum é o FERT-TALP (Tyrode-albumina-lactato-piruvato) (MENCHACA et al., 2016).

A técnica exige a utilização de sêmen congelado, sendo sexado ou não e o método mais comum para separação da fração espermática (após o sêmen ser descongelado) é por meio do gradiente Percoll. O Percoll é constituído por partículas de sílica coloidal cobertas com polivinilpirrolidona, preparado em diferentes concentrações para formar um gradiente necessário de separação espermática (FIGURA11). Entretanto, outros métodos também são utilizados, como o “*swim-up*” (MOURA, 2016).

Muito se fala dos fatores de impacto sobre a técnica de FIV, porém poucos estudos focam no fator touro doador, a fim de analisar sua fração de influência nos resultados. No trabalho de SERAFIM et al. foi avaliada a influência do touro doador de sêmen sexado sobre a taxa de formação de blastocistos e resultados de concepção de embriões produzidos *in vitro*. Foi observada grande variação na taxa de produção de embriões, que oscilou de 16,09% a 47,83%, com média de 31,97±8,57, havendo tendência de influência do touro/sêmen sexado sobre as taxas de formação de blastocistos (P=0.0659). É possível concluir que existe variação nas taxas de produção embrionária e na fertilidade de embriões

produzidos *in vitro*, também quando levado em consideração o touro doador do sêmen sexado.

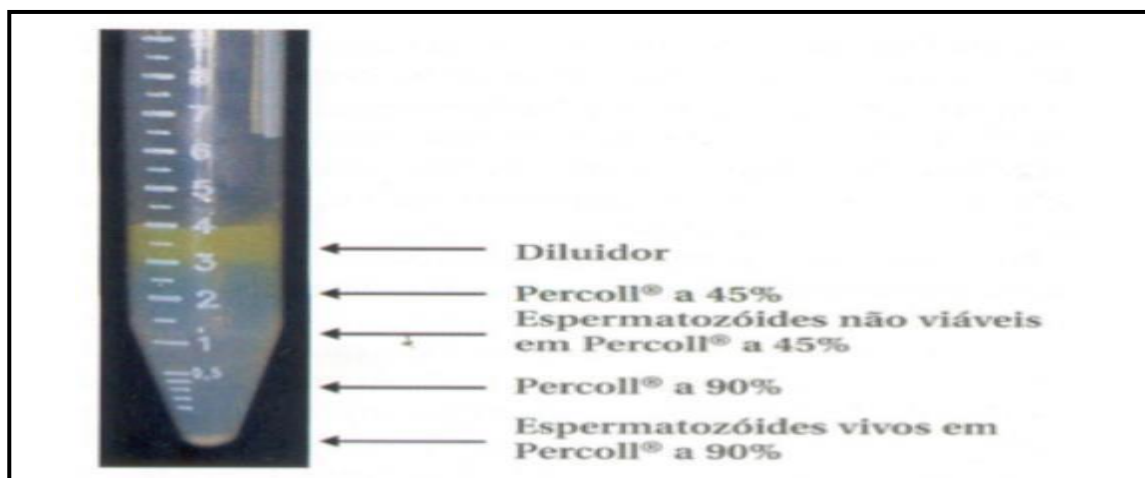


FIGURA 11: Distribuição dos segmentos do sêmen nas diferentes camadas de Percoll.

FONTE: Adaptado de PEIXER *et al* (2018)

Dentre os compostos presentes na FERT-TALP destaca-se a heparina, importante capacitador espermático que proporcionou um marco histórico para a fertilização *in vitro*, devido a sua aplicabilidade (PARRISH, 2014).

2.4.4 Cultivo *in vitro* (CIV)

A etapa da CIV é composta por uma sequência de eventos que vão desde a ativação do genoma embrionário, divisão celular, compactação dos blastômeros até o início da distinção embrionária com a formação do blastocele e rompimento da zona pelúcida (STROEBECH *et al.*, 2015).

Um dos pontos mais importantes na fase de CIV é que o ambiente *in vitro*, se assemelhe com o ambiente natural *in vivo* do útero e do oviduto da fêmea bovina em início da gestação, no que diz respeito à fluidos que fornecerão a nutrição celular necessária, além dos nutrientes, são considerados pH, níveis hormonais e taxa de oxigênio (FIGUEIREDO., 2010).

Na prática, após 24 horas da fecundação, os oócitos são desnudados com auxílio de uma pipeta e transferidos para o meio de cultivo *in vitro* (CIV), um meio comum utilizado pelos laboratórios para essa etapa é o meio Synthetic Oviductal Fluid (SOF), originado através de fluido do oviduto de fêmeas bovinas, que expressam taxas agradáveis sem o aparecimento de células somáticas. O tempo de variação de todo o processo de cultivo embrionário artificial é entre 7

a 9 dias dependendo de cada forma, técnica e meios utilizados pelos laboratórios em suas rotinas (WRENZYCKI, 2016).

Muitos estudos vêm sendo feitos, no que se refere ao meio de cultivo, no trabalho Chaves et al (2010) foram avaliados os aspectos relacionados aos sistemas de cultivo *in vitro* para desenvolvimento de oócitos imaturos oriundos de folículos pré-antrais. Verificaram que as diferenças entre o ambiente *in vivo* e *in vitro* é a quantidade de oxigênio, visto que no oviduto e no útero é menor do que a utilizada nos sistemas de cultivo embrionário *in vitro*, tendo enorme influência na realização e na qualidade dos embriões.

2.4.5 Inovulação de embriões

É sabido que a transferência de embriões trata-se de um processo de alto custo, que abrange vários pontos, dentre ele a aquisição e manutenção de fêmeas que serão receptoras. O cálculo feito para se determinar o número de receptoras necessárias para o procedimento é realizado baseando-se no número médio de embriões a serem produzidos por doadora (DANTAS, 2010).

Após a passagem de todas etapas anteriormente citadas, o momento inovulação propriamente dita (deposição do embrião no terço médio-final do corpo uterino ipsilateral ao corpo lúteo) deve ser feita por um profissional treinado e qualificado, sendo que o animal deve estar condito adequadamente em estação apropriada. De início, deve ser feita a administração de lidocaína via epidural para anestesia da fêmea (PENITENTE FILHO, 2011).

Após os primeiros passos, a limpeza da vulva e reto da receptora são de extrema importância para que se reduza a probabilidade de contaminações. Para transferência a fresco, o embrião deve sofrer três banhos consecutivos com meio de manutenção para lavagem. A palheta onde o embrião será colocado (BÓ *et al.*, 2010).

PESSOA *et al.* (2014) objetivaram analisar o efeito do local de inovulação e do tamanho do corpo lúteo sobre a taxa de prenhez em novilhas receptoras de embriões produzidos *in vitro*. Analisaram-se 524 transferências de embriões, sendo 371 oriundas de embriões frescos e 153 de embriões vitrificados em um programa de transferência em tempo fixo. Ao analisar os dados, foi notado que a taxa de prenhez nas transferências em tempo fixo com embriões bovinos frescos foi maior do que com embriões vitrificados ($P < 0,05$) (TABELA 6).

TABELA 6 - Efeito do local de inovulação sobre a taxa de prenhez em transferência de embriões frescos e vitrificados.

Local no corno uterino	Tipos de embrião	
	Vitrificados % (n/n)	Frescos % (n/n)
Ápice	35,4% (35/99)	53,5% (115/215)
Porção média	41,9% (18/43)	43,6% (54/124)
Base	20,0% (1/5)	42,9% (6/14)

Fonte: PESSOA et al (2014).

À respeito do trabalho, os autores não encontraram influencia do local de inovulação no corpo uterino e o tamanho do corpo lúteo sobre a taxa de prenhez. Tais estudos são significativos para o aprimoramento das técnicas reprodutivas a fim de otimiza-las.

2.5 Congelamento de embriões

A biotécnica de congelamento de embriões, possui grande aplicabilidade econômica e zootécnica. A técnica traz a oportunidade de armazenamento do material genético da fêmea doadora, para que se possa aproveitar os embriões remanescentes da transferência. É notada a diferença existente sobre a taxa de prenhez entre os embriões produzidos *in vivo* e aqueles produzidos *in vitro* (RODRIGUES, 2011)

O congelamento permite que o metabolismo celular do embrião entre em um estado de quiescência, de maneira que após o seu descongelamento, seja possível que o embrião volte ao seu desenvolvimento normal. Um dos principais obstáculos na técnica de congelamento gira em torno da formação de cristais de gela, sendo assim protocolos são utilizados para que o mesmo não ocorra. Tais protocolos primam pelo uso de crioprotetores, permeáveis ou de membrana (DODE *et al.*, 2013).

MACIEL *et al* (2012) testaram a viabilidade de embriões após o congelado, produzidos *in vitro* e congelados de forma lenta utilizando dois diferentes crioprotetores permeáveis, etilenoglicol (G1) e glicerol (G2). Como resultado, observaram que após o descongelamento os embriões bovinos produzidos *in vitro* e congelados de forma lenta em meio contendo etileno e glicerol apresentaram maior taxa de reidratação e eclosão comparados aos embriões congelados em meio contendo glicerol.(TABELA 7)

TABELA 7 - Número de embriões reidratados e não reidratados e suas respectivas taxas.

	Etileno	Glicerol
Embriões reidratados	17	26
Embriões reidratados (%)	25,7	19
Média de embriões reidratados	1,88	1,3
Embriões não reidratados	39	111
Embriões não reidratados (%)	69,6	81,2

FONTE: Adaptado de MACIEL *et al* (2012)

Além do fator crioprotetor influenciar a criopreservação, existem outros que podem comprometer a viabilidade da técnica, como o estágio do embrião, qualidade do mesmo e o sistema de cultivo, evidenciando que a junção adequada de todos estes fatores que poderá levar ao resultado reprodutivo satisfatório (SARAGUSTY E ARAV, 2011).

2.6 Produção *in vitro* de embriões no ganho genético em bovinos de corte

O melhoramento genético é de grande importância para a pecuária de corte, os criadores podem aumentar a eficiência de produção e a lucratividade de seus rebanhos, por meio de princípios genéticos. A criação de animais geneticamente superiores permite utilizar de maneira mais eficiente os recursos disponíveis.

A biotecnica produção *in vitro* de embriões (PIV), é uma ferramenta indiscutivelmente úteis à pecuária de corte, usadas de forma comercial. Auxiliam na identificação, seleção e principalmente na multiplicação mais rápida de animais de alto valor genético. Esse conjunto de técnicas vem contribuindo para a melhoria genética dos rebanhos, conseqüentemente incrementando os resultados dentro dos sistemas de produção, seja de carne ou leite, segundo MARSON *et al.*, (2003)

Autores como SUGIMOTO, (2012) esboçam que a técnica de PIVE pode aumentar o ganho genético quando considera-se a possibilidade de cruzamentos fatoriais com redução da taxa de consanguinidade, além de oportunidade de utilização de fêmeas pré-púberes.

O potencial da técnica PIVE aumentou grandemente com a possibilidade de se recuperar os ovócitos imaturos de vacas vivas (punção folicular), pois o

uso de ovócitos imaturos retirados de vacas recém-abatidas (oriundas de rebanhos comerciais) não fornece material genético superior (Packer e Paz, 2001). Dessa maneira, a utilização de ovócitos de vacas de alto potencial genético permite produzir embriões de alta qualidade, em maior quantidade.

A biotécnica reprodutiva de produção *in vitro* em bovinos de corte permite grandes e rápidos saltos no ganho genético. Neste contexto, o processo da FIV possibilita que um grande número de embriões seja produzido a partir de uma doadora, levando a redução do intervalo entre as coletas. Na FIV, ambos os indivíduos, macho e fêmea selecionados podem ser de alto valor genético. Fato este superior a técnica de inseminação artificial, na qual em sua grande maioria, somente o macho é geneticamente superior (SIRARD, 2017).

A técnica evita o descarte precoce de fêmeas geneticamente melhoradas, elevando o tempo de utilização das mesmas, proporcionando maior rendimento em número de sua progênie (PEREIRA *et al.*, 2010).

3- CONSIDERAÇÕES FINAIS

A técnica da produção *in vitro* de embriões esta diretamente relacionada com o avanço biotecnológico da bovinocultura de corte, profissionais da área juntamente com produtores vem colocando em pratica melhoria da eficiência reprodutiva do rebanho comercial , a fim de atender adequadamente a demanda. Desta forma , as biotécnicas de reprodução ganham força tendo em vista suas vantagens frente a manejo convencionais.

A produção *in vitro*, visa à obtenção de embriões viáveis de fêmeas que não estão mais aptas a produzirem descendentes pelas técnicas convencionais, como em vacas doadoras que apresentem infertilidades ou por distúrbios patológico do aparelho reprodutor feminino.

A PIVE, influencia positivamente no aumento do ganho genético do animal , na redução do intervalo de gerações e na qualidade genética do embrião ser a ser implando.

4 -REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALFARO, C.EP. Importância da avaliação andrológica na seleção de reprodutores a campo. *Rev Bras Reprod Anim*, v. 35, n. 2, p. 152-3, 2011.

ALMEIDA, A.K. de; MICHELS, I.L. O Brasil e a economia mundo: o caso da carne bovina. *Ensaio FEE*, v.33, p.207- 230, 2012.

BECHER, B.G; A.P. NETO; W.; OLIVEIRA.; M.; F.MOTA.; J.P.; FATORES QUE AFETAM A PRODUÇÃO IN VITRO DE EMBRIÕES (PIVE) EM BOVINOS. *ENCICLOPÉDIA BIOSFERA*, v. 15, n. 28, 2018.

BENITES, N. R.; BARUSELLI, P. S. Medicamentos empregados para sincronização do crescimento folicular e da ovulação para transferência de embriões. *Farmacologia aplicada à medicina veterinária*, v. 4, p. 343-361, 2011.

BELTRAME, R.T.; L.G. BARIONI; C.R.; QUIRINO; O.D.; DANTAS; Modelagem bioeconômica da transferência de embriões em bovinos. *Ci. Anim. Bras, Goiania*, v. 11, n. 1, p.32-41, 2010.

BOLS, P.E.J. Bols, E.P.A. Jorssen, I.G.F. Goovaerts, A. Langbeen, J.L.M.R. Leroy High throughput non-invasive oocyte quality assessment: the search continues. *Animal Reproduction (AR)*, v. 9, n. 3, p. 420-425, 2018.

Bó, G. A., Guerrero, D. C., Tríbulo, A., Tríbulo, H., Tríbulo, R., Rogan, D., & Mapletoft, R. J. New approaches to superovulation in the cow. *Reproduction, Fertility and Development*, 22(1), 106-112, 2009.

CBRA, Colégio Brasileiro de Reprodução Animal. Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal. 3 ed., Belo Horizonte: CBRA, 2013.

CHAGAS, V. M.; SILVA M.A.V.; MARTINS.J.H.; SANTOS; C.S.; JUNIOR.; J.R.S.T.; Fatores anatomofisiológicos que afetam a qualidade oocitária em bovinos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 34, p. 34-38, 2014.

CHAVES, R. N.; A. B. G.; M. H. T. ; J. R. Systems in vitro development of immature oocytes of mammals. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v. 34, n. 1, p. 37-49, 2010.

CARRER FILHO, . Avaliação andrológica por pontos e teste da libido em curral de touros jovens da raça Braford. *Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal: RBHSA*, v. 9, n. 2, p. 233-243, 2015.

COSTA, H.J.U.; Ganho genético e avaliação econômica de sistemas produtivos de gado de corte sob diferentes técnicas reprodutivas e com cruzamento industrial. 2018.

DAVIDSON, A. P.; STABENFELDT, G. H. Controle do desenvolvimento gonadal e dos gametas. *Tratado de fisiologia veterinária (Cunningham)*, p. 408-415, 2014.

DA SILVA, L.D.S.; BORGES, L.E.L.L.; MARTINS; L.A. ; LIMA .Aspectos comerciais da transferência de embriões e fertilização in vitro em bovinos-revisão. 2015.

DANTAS, K.S.A.; NUNES, C.C.C; J.F.;DANTAS, R.A.A.;SELEÇÃO DE RECEPTORAS EM UM PROGRAMA DE TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES (PIVE) EM BOVINOS NO NORDESTE DO BRASI. *Ciência Animal*, Fortaleza, n. 28, p.1- 14, 2018.

DE SOUZA,N.S; ABADE, C.C. Produção in vitro de embriões bovinos: etapas de produção e histórico no Brasil. *Ciência Veterinária UniFil*, v. 1, n. 3, p. 95-108, 2019.

DIRKSEN, G.; GRUNDER, H. D.; STOBBER, M. Rosenberger: Exame clínico dos bovinos. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro, 419p, 1993.

Dey, S. R., Deb, G. K., Ha, A. N., Lee, J. I., Bang, J. I., Lee, K. L., & Kong, I. K. Coculturing denuded oocytes during the in vitro maturation of bovine cumulus oocyte complexes exerts a synergistic effect on embryo development. *Theriogenology*, 77(6), 1064-1077,2012.

DODE, M. A. N.; LEME, L. O.; SPRICIGO, J. F. W. Criopreservação de embriões bovinos produzidos in vitro. *Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia-Artigo em periódico indexado (ALICE)*, 2013.

FARIAS, L.B; DE FREITAS,J.R.P; BRAUNER, C.C. AVALIAÇÃO DO EFEITO DO TOURO E DA CONDIÇÃO CORPORAL NA TAXA DE PREENHEZ DE VACAS SUBMETIDAS AO PROTOCOLO DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO. *Revista Científica Rural*, v. 20, n. 2, p. 305-313, 2018.

FERREIRA, M.D.P; VIEIRA FILHO, J.E.R; Inserção no mercado internacional e a produção de carnes no Brasil. 2019.

FRANDSON RD, W.L, Fails AD. Anatomia e fisiologia dos animais de fazenda. 7ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.413, 2016.

GALVANI, F. Desempenho Reprodutivo De Touros De Alta Libido Da Raça Nelore. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG. 69f. 1998.

Guemra, S., Monzani, P. S., Santos, E. S., Zanin, R., Ohashi, O. M., Miranda, M. S., & Adona, P. R. Maturação in vitro de oócitos bovinos em meios suplementados com quercetina e seu efeito sobre o desenvolvimento embrionário. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 65(6), 1616-1624,2013.

HONORATO,M.T.FERRO; R.A.C.; FERRO.; D.A.C; SANTOS.; K.J.C.; COSTA; M;A.; FILHO.; L.R.;Importância da escolha de receptoras em um programa de transferência de embriões em bovinos. *PUBVET*, v. 7, p. 1870-1980, 2013.

JUNIOR, A. N.; FILHO, M. Z.; REIS, R. B. Urologia fundamental. São Paulo: Planmark, cap.37, p.327-341, 2010

KASSENS, E.H.; D.S.W.; H. S; C.W.; D. T; K. S; M.H; Intrafollicular oocyte transfer (IFOT) of abattoir-derived and in vitro-matured oocytes results in viable blastocysts and birth of healthy calves. *Biology of reproduction*, v. 92, n. 6, p. 150, 1-14, 2015.

KAERCHER F.; SIQUEIRA M.; MERCADANTE, A.; FIGUEIREDO, T.; WEISS, R.R.; SIQUEIRA, F.; KOZICKI, L.E. Embryo transfer in no cycling Crioula and Quarter horse breeds treated with estradiol cypionate and long-acting progesterone, *Braz. arco. biol. tecno*. Vol 54 n6. Curitiba, novembro/dezembro,

2011.

KÖNIG, H. E; LIEBICH, H.G. Anatomia dos Animais Domésticos-: Texto e Atlas Colorido. Artmed Editora, 2016.

LANDRY, D. A.; BELLEFLEUR, A. M.; LABRECQUE, R.; GRAND, F. X.; VIGNEAULT, C.; et al. Effect of cow age on the in vitro developmental competence of oocytes obtained after FSH stimulation and coasting treatments. *Theriogenology*, v. 86, n. 5, p. 1240-1246, 2016.

Lima, R. P. D.. Crescimento das exportações de carne bovina brasileira entre 2005 e 2015: fatores econômicos, 2018.

Lustosa, A. A., Barboza, N. A., Barbosa, Y. G. D. S., Rodrigues, P. K. O., & Neto, F. D. C. R. M. Aspectos relevantes na produção comercial de embriões bovinos por meio da técnica biotecnológica de fertilização in vitro: Revisão. *PUBVET*, 12, 130, 2017.

Mariano, R. S. G., Tonetto, H. C., Frari, M. G., Saes, L. M., Tozzetti, D. S., Teixeira, P. P. M., & Vicente, W. R. R. Exame andrológico em bovinos—revisão de literatura. *Nucleus Animalium*, 7(1), 4-4, 2015.

MENEGASSI, Sílvio R.O; BARCELLOS, J.O.J. Aspectos Reprodutivos do Touro: Teoria e Prática. Guaíba: Agrolivros. 280p, 2015.

Mendonça, A. C., Cardoso, J. R., Moreira, P. C., Junqueira, D. D., Mendonça, F. D. P. X., Brito, M. S., Brito, L. A. B.. Caracterização morfométrica do pênis e prepúcio de touros das raças Nelore e Gir. *Bioscience Journal*, v28, n.6, 2012..

MENCHACA, A. N.B, P.C.S.N; F.C, M.C Advances and limitations of in vitro embryo production in sheep and goats. *Animal Reproduction (AR)*, v. 13, n. 3, p. 273-278, 2018.

MELLO, R.R.C. Aspectos da dinâmica folicular em bovinos. *Agropecuária científica no semiárido*, v. 10, n. 4, p. 01-06, 2015.

MELO, R. R. C.; FERREIRA, J. E.; SOUSA, S. L. G.; MELLO, M. R. B.; PALHANO, H. B. Produção in vitro (PIV) de embriões em bovinos. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, Belo Horizonte- MG, v.40, n.2, p. 58-64, 2016.

MENEZES, T.C; BACHA, C.J.C. Mudanças nos destinos das exportações brasileiras de carne bovina. *Revista de Política Agrícola*, v. 29, n. 2, p. 50, 2020.

MORAIS, M.E.O.; R.R.C.M.; J.E.F.; M.R.B.M.; Comparação de diferentes métodos de manejo reprodutivo em receptoras de embrião bovino sobre a taxa de concepção. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, v. 20, n. 2, 2013.

MOURA, A. A.; MEMILI, E. Aspectos funcionais do plasma seminal e proteínas espermáticas e seu potencial como marcadores moleculares da fertilidade. *Anais... Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões*, Foz do Iguaçu. 2016, v. 30, p. 88-96, 2016

NUNES, N.G.P.; Estudo comparativo de padrões raciais em exames andrológicos de bovinos. 2018. Dissertação de Mestrado.

OTTE, M.V; C.L.B.; L.F.C.; V.H.M.M.Q.S.; P.F.S; Cérvix em espiral em peça do sistema reprodutivo feminino de bovino. *REVISTA VETERINÁRIA EM FOCO*, v. 13, n. 2, 2016

PARRISH, J. J. Bovine In vitro fertilization: In vitro oocyte maturation and sperm capacitation with heparina. *Theriogenology*, v.81, p. 1-12, 2014..

PEIXER, P.F; SANTOS, K.J.G.S; SANTOS, A.P.P; BACKES, C; SANTOS, J.F.D; CASTRO, C.S. Produção in vitro de embriões bovinos. *Revista ESPACIOS*, [s.l.], v. 39, n. 16, 2018.

PEREIRA, E.S.; E.B.M.;I.Y.M.;P.G.P.;E.L.A.R.;A.P.P.; Novilhas leiteiras (Vol. 1). Fortaleza, Ceará: Graphiti Gráfica e Editora Ltda, 2010.

PENITENTE FILHO, J.M.; PRODUÇÃO DE EMBRIÕES BOVINOS IN VIVO E IN VITRO. 2011. 22 f. Monografia (Especialização) - Curso de Medicina Veterinária, UFV, Viçosa, 2011.

PESSOA, A. B. C. M.; PEREIRA, E. T. N.; MELO, M. I. V. Influência do local de inovulação e do tamanho de corpo lúteo sobre a taxa de prenhez em programa de transferência de embriões bovinos em tempo fixo. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, Belo Horizonte, v. 38, n. 4, p. 237-241, 2014.

PONTES, J. H. F.; MELO STERZA, F. A.; BASSO, A. C.; FERREIRA, C. R.; SANCHES, B. V.; RUBIN, K. C. P.; SENEDA, M. M. Ovum pick up, in vitro embryo production, and pregnancy rates from a large-scale commercial program using Nelore cattle (*Bos indicus*) donors. *Theriogenology*, v.75, n. 1640-1646, 2011. Disponível em < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21334055/>>

RONDA, J.B.R.; G.L.R.; J.O.J.; A.P.N.Q.; A.B.V.; Classificação andrológica por pontos e características andrológicas na avaliação reprodutiva de touros da raça Gir candidatos ao teste de progênie. *Ciência Animal Brasileira*, 2019. Disponível em < <https://www.scielo.br/pdf/cab/v20/1809-6891-cab-20-e-44670.pdf>>.

RODRIGUES, P.B.R.; Estudo de alguns aspectos da criopreservação de embriões bovinos da raça frísia holstein na rotina de uma unidade de transferência de embriões. 2011. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Técnica de Lisboa. Faculdade de Medicina Veterinária.

SCANAVEZ, A. L.; CAMPOS, C. C.; SANTOS, R. M. Taxa de prenhez e de perda de gestação em receptoras de embriões bovinos produzidos in vitro. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 65, n. 3, p. 722-728, 2013.

SANTOS, G. M; SANCHEZ, B. C.; BASTOS, C. V. Large-scale *in vitro* embryo production and pregnancy rates from cows using sexed sperm. *Theriogenology*, 2011.

SARAGUSTY J, ARAVA. Current progress in oocyte and embryo cryopreservation by slow freezing and vitrification. *Reproduction*, v.141, p.1-19, 2011.

SENGER, P.L. Pathways to pregnancy and parturition, p 381, 2012

SERAFIM, PR; GOMES, GM; GOMES, LPM; BORN, JLB; BORGES, MS; CRESPILO, AM. Sêmen bovino sexado: A produção in vitro de embriões pode ser influenciada pelo touro doador do material genético? . *Revista de Saúde*. 2018

SOARES, P.H.A.;JUNQUEIRA,F.S;. Particularidades reprodutivas da fêmea bovina: Revisão. PUBVET, v. 13, p. 148, 2018.

SOARES,G.G.;I.T.C;P.F.S;B.B.S;G.P.J.;G.S.X.;F.D.A.G.;Diferentes apresentações de duplicidade cervical identificadas em peças do aparelho reprodutor feminino de bovinos–Relato de 5 casos. Rev. Bras. Reprod. Anim, v. 43, n. 4, p. 824-828, 2019.

SOUZA,R.T.R.; Sincronização de receptoras no diestro para utilização em programa se transferência de embriões em equinos. 2014.

STROEBECH, L.; MAZZONE, G.; PEDERSEN, H. S.; FREUDE, K. K.; KADARMIDEEN, H. N.; CALLESEN, H.; HYTTEL, P. In vitro production of bovine embryos: revisiting oocyte development and application of systems biology. Anais... Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões, Gramado- RS, v. 29, p. 148-156. 2015

SILVA, G.M.; ARAÚJO, V.R.; DUARTE A.B.G. Papel dos antioxidantes no cultivo in vitro de células ovarianas. Rev. Bras. Reprod. Anim., v.35, p.315-326, 2011.

SIRARD, M.-A. The influence of in vitro fertilization and embryo culture on the embryo epigenetic constituents and the possible consequences in the bovine model. Journal of Developmental Origins of Health and Disease, v. 8, n. 4, p. 411-417, 2017.

SIMÕES, J. P. C. Exame andrológico de bovinos. DGV. DSPA. Acedido a, v. 11, 2017.

VIEIRA, R.J.; Biotécnicas aplicadas à reprodução bovina: generalidades. Ciência Animal, Fortaleza, v. 22, n. 1, p. 55-65, 2012.

Yang, W. C., Yang, L. G., Riaz, H., Tang, K. Q., Chen, L., & Li, S. J. (2013). Effects in cattle of genetic variation within the IGF1R gene on the superovulation performance and pregnancy rates after embryo transfer. Animal reproduction science, 143(1-4), 24-29,2013

WRENZYCKI, C. Sistemas de cultivo in vitro: quão longe estamos das condições ideais?. Anais... Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões, Foz do Iguaçu, v.30, p. 155-159. 2016

ZANIN, Renato. Eficiência da produção de embriões in vitro através de aspiração folicular transvaginal em bovinos das raças Girolando, Brangus e Nelore. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo



PUC
GOIÁS

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
PRÓ-REITORIA DE DESENVOLVIMENTO
INSTITUCIONAL
Av. Universitária, 1069 | Setor Universitário
Caixa Postal 86 | CEP 74605-010
Goiânia | Goiás | Brasil
Fone: (62) 3946 3081 ou 3089 | Fax: (62) 3946 3080
www.pucgoias.edu.br | prodir@pucgoias.edu.br

RESOLUÇÃO n°038/2020 – CEPE

ANEXO I

APÊNDICE ao TCC

Termo de autorização de publicação de produção acadêmica

O(A) estudante Laíssa Raimares Gomes
do Curso de Letras em Língua Portuguesa, matrícula 20152.0027.00415
telefone: 62.984574138 e-mail laissa.gomes96@hotmail.com, na
qualidade de titular dos direitos autorais, em consonância com a Lei n° 9.610/98 (Lei dos Direitos
do autor), autoriza a Pontifícia Universidade Católica de Goiás (PUC Goiás) a disponibilizar o
Trabalho de Conclusão de Curso intitulado
Estratégias de Melhoramento Genético em Ovelha
de Corte Utilizando Produção em Utero de Embriões,
gratuitamente, sem ressarcimento dos direitos autorais, por 5 (cinco) anos, conforme permissões
do documento, em meio eletrônico, na rede mundial de computadores, no formato especificado
(Texto (PDF); Imagem (GIF ou JPEG); Som (WAVE, MPEG, AIFF, SND); Vídeo (MPEG,
MWV, AVI, QT); outros, específicos da área; para fins de leitura e/ou impressão pela internet, a
título de divulgação da produção científica gerada nos cursos de graduação da PUC Goiás.

Goiânia, 18 de maio de 2021.

Assinatura do(s) autor(es): Laíssa Raimares

Nome completo do autor: Laíssa Raimares Gomes

Assinatura do professor-orientador: [Assinatura]

Nome completo do professor-orientador: Otavio Cordeiro de Almeida