

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ACRE**

**ANTÔNIA KAYLYANNE PINHEIRO**

**PARÂMETROS PRODUTIVOS E GENÉTICOS DA PRODUÇÃO *IN VITRO*  
DE EMBRIÕES EM BOVINOS NELORE NO ACRE**

**RIO BRANCO  
ACRE – BRASIL  
MARÇO – 2019**

ANTÔNIA KAYLYANNE PINHEIRO

PARÂMETROS PRODUTIVOS E GENÉTICOS DA PRODUÇÃO *IN VITRO* DE  
EMBRIÕES EM BOVINOS NELORE NO ACRE

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Acre, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Sanidade e Produção Animal Sustentável na Amazônia Ocidental, para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

RIO BRANCO  
ACRE – BRASIL  
MARÇO – 2019

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da UFAC

---

P654p Pinheiro, Antônia Kaylyanne, 1987-  
Parâmetros produtivos e genéticos da produção in vitro de embriões em  
bovinos nelores no Acre / Antônia Kaylyanne Pinheiro; orientador: Dr. José  
Marques Carneiro Junior. – 2019.

71 f. : il. ; 30 cm.

Mestrado (Dissertação) – Universidade Federal do Acre, Programa de  
Pós- Graduação em Sanidade e Produção Animal Sustentável na Amazônia  
Ocidental, Rio Branco, 2019.

Inclui referências bibliográficas.

1. Bovinos de corte. 2. Biotecnologia. 3. Herdabilidade. I. Carneiro Junior,  
José Marques (orientador). II. III. Título.

CDD: 660

---

Bibliotecária: Nádia Batista Vieira CRB-11º/882.

ANTÔNIA KAYLYANNE PINHEIRO

PARÂMETROS PRODUTIVOS E GENÉTICOS DA PRODUÇÃO *IN VITRO* DE  
EMBRIÕES EM BOVINOS NELORE NO ACRE

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Acre, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Sanidade e Produção Animal Sustentável na Amazônia Ocidental, para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

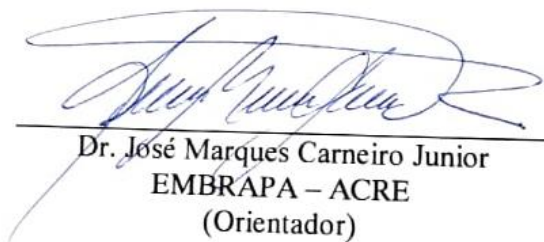
APROVADA: 26 de março de 2019.



Dr. Bruno Pena Carvalho  
EMBRAPA – ACRE



Dr. Jefferson Viana Alves Diniz  
Instituto Federal do Acre – IFAC



Dr. José Marques Carneiro Junior  
EMBRAPA – ACRE  
(Orientador)

Á minha mãe, Sônia Maria Braga Pinheiro.  
Ao meu pai, Francisco Geraldo Pinheiro.  
Aos meus Irmão, Francisco Clébio Pinheiro,  
Hildebrando Neto Pinheiro e  
Geraldo Filho Pinheiro.  
Á minha irmã, Maria Cleanne Pinheiro.

Dedico.

## AGRADECIMENTOS

À Deus por me guiar na realização dos meus objetivos e propósito de vida e pela força concedida para superar as dificuldades.

À Universidade Federal do Acre (UFAC) e ao Programa de Pós-graduação em Sanidade e Produção Animal Sustentável na Amazônia Ocidental (PPGESPA) pelas oportunidades oferecidas para realização deste curso.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo financiamento da bolsa de estudo para execução do projeto.

À Empresa *In vitro* Acre pela concessão dos dados, essenciais à realização desta pesquisa e principalmente aos profissionais Héltton Aparecido Garcia Gregianini e Jennifer Teodoro Ferreira Gregianini pelo apoio no desenvolvimento deste estudo.

Ao meu orientador Dr. José Marques Carneiro Junior que acreditou em meu potencial, pela oportunidade concedida, pelos ensinamentos, pela ajuda, pela motivação e pela sua honrosa amizade e de toda sua família.

Aos meus pais Francisco Geraldo Pinheiro e Sônia Maria Braga Pinheiro, a minha irmã Maria Cleanne Pinheiro e meus irmãos Francisco Clébio Pinheiro, Hildebrando Neto Pinheiro e Geraldo Filho Pinheiro pelos ensinamentos, pelo incentivo aos meus estudos e pelo apoio na minha formação profissional.

Ao meu colega Mauricio Santos Silva pela amizade, parcerias e pelas sugestões no transcorrer deste trabalho.

Aos membros da Banca Examinadora, Dr. Bruno Pena Carvalho e Dr. Jefferson Viana Alves Diniz, pelas valiosas contribuições para a melhoria deste trabalho.

À todos que de alguma forma contribuíram para realização deste trabalho, por proporcionarem momentos de experiência e de aprendizado.

*“Ninguém cruza nosso caminho por acaso e  
nós não entramos na vida de alguém sem  
nenhuma razão”.*

*Chico Xavier*

**CERTIFICADO DO COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – UFAC**

**Título do projeto:** Parâmetros da produção *in vitro* de embriões em bovinos de corte da raça Nelore no Acre.

**Processo número:** 23107.028606/2018-54

**Protocolo número:** 63/2018

**Responsável:** Profa. Dra. Soraia Figueiredo de Souza

**Data da aprovação:** 29/11/2018



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABCZ	Associação Brasileira de Criadores de Zebu
ABIEC	Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes
BLUE	<i>Best Linear Unbiased Estimator</i>
BLUP	<i>Best linear Unbiased Predictor</i>
DNA	Ácido desoxirribonucleico
FSH	Hormônio folículo-estimulante
IA	Inseminação artificial
IATF	Inseminação artificial em tempo fixo
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IETS	International Embryo Technology Society
LH	Hormônio luteinizante
MOET	<i>Multiple Ovulation and Embryo Transfer</i>
MTDFREML	Multiple Trait Derivative Free REML
OPU	<i>Ovum Pick Up</i>
PIVE	Produção <i>in vitro</i> de embriões
PO	Puro de Origem
REML	<i>Restricted Maximum Likelihood</i>
SAS	Statistical Analysis System
TE	Transferência de embriões

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Produção de embriões no Brasil *in vivo*, *in vitro* e total no período de 2000 a 2017.....7
- Figura 2. Protocolo hormonal utilizado pela empresa *In vitro* Acre para receptoras.....19
- Figura 3. Porcentagem de prenhez de embriões transferidos de acordo com o estágio de desenvolvimento embrionário: mórula (MO), blastocisto inicial (BI), blastocisto (BL), blastocisto expandido (BX), blastocisto em eclosão (BN) e blastocisto eclodido (BE).....28

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 – Médias ( $\bar{X}$ ), desvios padrão (DP), valores mínimos (Min.), valores máximos (Máx.) e percentuais (%) de produção de oócitos de acordo com qualidade morfológica.....25
- Tabela 2 – Médias ( $\bar{X}$ ), desvios padrão (DP), valores mínimos (Min.), valores máximos (Máx.) e porcentagens de embriões produzidos de acordo com o seu estágio embrionário: mórula (MO), blastocisto inicial (BI), blastocisto (BL), blastocisto expandido (BX), blastocisto em eclosão (BN) e blastocisto eclodido (BE).....26
- Tabela 3 – Médias ( $\bar{X}$ ), desvios padrão (DP), valores mínimos (Min.) e máximos (Máx.) para Porcentagem de Conversão de Oócitos/embriões ( $PC_{O/E}$ ), Porcentagem de Conversão de Embriões/prenhez ( $PC_{E/P}$ ), Porcentagem de Conversão de Oócitos/Prenhez ( $PC_{O/P}$ ), a Taxa de Clivagem ( $TX_{CLIV}$ ) e Taxa de Descarte ( $TX_{DESC}$ ).....29
- Tabela 4 – Número de aspiração folicular ( $N_{AF}$ ), médias ( $\bar{X}$ ) e desvios padrão (DP) de número total de oócitos ( $NT_{OOC}$ ) número total de embriões clivados ( $NT_{CLIV}$ ), número total de embriões produzidos ( $NT_{EMB}$ ) e número total de prenhez ( $NT_{PREN}$ ) por aspiração/vaca/fazenda.....31
- Tabela 5 – Número de aspiração folicular ( $N_{AF}$ ), médias ( $\bar{X}$ ) e desvios padrão (DP) de Número Total de Embriões Clivados ( $NT_{CLIV}$ ), Número Total de Embriões Produzidos ( $NT_{EMB}$ ) e Número Total de Prenhez ( $NT_{PREN}$ ) por aspiração/vaca/touro.....33
- Tabela 6 – Número de aspiração folicular ( $N_{AF}$ ), médias ( $\bar{X}$ ) e desvios padrão (DP) de Número Total de Oócitos ( $NT_{OOC}$ ) Número Total de Embriões Clivados ( $NT_{CLIV}$ ), Número Total de Embriões Produzidos ( $NT_{EMB}$ ) e Número Total de Prenhez ( $NT_{PREN}$ ) por aspiração/vaca/classe.....34
- Tabela 7 – Número de aspiração folicular ( $N_{AF}$ ), médias ( $\bar{X}$ ) e desvios padrão (DP) de Número Total de Oócitos ( $NT_{OOC}$ ) Número Total de Embriões Clivados ( $NT_{CLIV}$ ), Número Total de Embriões Produzidos ( $NT_{EMB}$ ) e Número Total de Prenhez ( $NT_{PREN}$ ) por aspiração/vaca/ano.....35
- Tabela 8 – Número de aspiração folicular ( $N_{AF}$ ), médias ( $\bar{X}$ ) e desvios padrão (DP) de número total de oócitos ( $NT_{OOC}$ ) número total de embriões clivados ( $NT_{CLIV}$ ), número total de embriões produzidos ( $NT_{EMB}$ ) e número total de prenhez ( $NT_{PREN}$ ) por aspiração/vaca/estação.....36
- Tabela 9 – Número de aspiração folicular ( $N_{AF}$ ), médias ( $\bar{X}$ ) e desvios padrão (DP) de Número Total de Embriões Clivados ( $NT_{CLIV}$ ), Número Total de Embriões Produzidos ( $NT_{EMB}$ ) e Número Total de Prenhez ( $NT_{PREN}$ ) por aspiração/vaca/sêmen.....38
- Tabela 10 – Número de aspiração folicular ( $N_{AF}$ ), médias ( $\bar{X}$ ) e desvios padrão (DP) de número total de oócitos ( $NT_{OOC}$ ) Número Total de Embriões Clivados

(NT <sub>CLIV</sub> ), Número Total de Embriões Produzidos (NT <sub>EMB</sub> ) e Número Total de Prenhez (NT <sub>PREN</sub> ) por aspiração/vaca para seleção de oócitos.....	39
Tabela 11 – Estimativas de Variância Genética Aditiva ( $\sigma_a^2$ ), Variância Ambiental ( $\sigma_e^2$ ), Variância Fenotípica ( $\sigma_p^2$ ) e Herdabilidade ( $h^2$ ) para as características de Número Total de Oócitos (NT <sub>OOC</sub> ), Número Total de Embriões Produzidos (NT <sub>EMB</sub> ), Número Total de Prenhez (NT <sub>PREN</sub> ), Taxa de Clivagem (TX <sub>CLIV</sub> ), Porcentagem de Conversão de Oócitos para Embriões (PC <sub>O/E</sub> ), Porcentagem de Conversão de Embriões para Prenhez (PC <sub>E/P</sub> ) e Porcentagem de Conversão de Oócitos para Prenhez (PC <sub>O/P</sub> ).....	41
Tabela 12 – Correlações fenotípicas (acima da diagonal) e genéticas (abaixo da diagonal) entre as características de Número Total de Oócitos (NT <sub>OOC</sub> ) Número Total de Embriões Clivados (NT <sub>CLIV</sub> ), Número Total de Embriões Produzidos (NT <sub>EMB</sub> ) e Número Total de Prenhez (NT <sub>PREN</sub> ).....	42

## RESUMO

PINHEIRO, Antônia Kaylyanne. Universidade Federal do Acre, março de 2019. **Parâmetros produtivos e genéticos da produção *in vitro* de embriões em bovinos Nelore no Acre.** Orientador: José Marques Carneiro Junior. No Acre, a partir do ano 2000, verifica-se aumento na demanda para produção *in vitro* de embriões. Contudo, diversos fatores ambientais e genéticos interferem na produção de oócitos, embriões e taxa de prenhez. O objetivo deste trabalho foi avaliar os parâmetros produtivos e genéticos da produção *in vitro* de embriões da raça Nelore no Acre. Foram utilizados dados de 1.292 sessões de aspirações foliculares realizadas em 571 doadoras, fornecidos pela empresa In Vitro Acre. Foram analisadas as variáveis: Número Total de Oócitos, Número Total de Embriões Clivados, Número Total de Embriões Produzidos e Número Total de Prenhez, e os Percentuais de Conversão de Oócitos para Embriões, Conversão de Embriões para Prenhez e Conversão de Oócitos para Prenhez. Foram calculados os parâmetros produtivos, os efeitos genéticos e não genéticos que influenciam na expressão de cada uma delas. Observou-se médias gerais para número de oócitos, embriões e prenhezes por aspiração/vaca de 30,05; 9,82 e 3,03; respectivamente. Para as taxa de Conversão de Oócito/Embrião; Embrião/Prenhez e Oócito/Prenhez obtiveram-se valores de 34,19; 38,39 e 10,68%, respectivamente. Os efeitos não genéticos significativos foram: efeito de fazenda, touro, idade da doadora, ano e tipo de sêmen para todas as variáveis avaliadas e efeito de estação do ano para as variáveis Número Total de Embriões Clivados e Número Total de Prenhez. Observou-se herdabilidade de magnitude baixa a média, indicando variabilidade genética para as variáveis relacionadas à produção de oócitos, embriões e prenhezes. As correlações fenotípicas e genéticas estimadas entre as variáveis Número Total de Oócitos, Embriões e Prenhezes foram positivas e de alta magnitude indicando que a seleção para aumento na produção de oócitos resulta em aumento na produção de embriões e nas taxas de prenhezes. Conclui-se que há variabilidade genética justificando a seleção de doadoras para produção de oócitos, embriões e prenhezes e que atenção deve ser dada a melhoria dos efeitos ambientais para aumentar a eficiência da produção *in vitro* de embriões.

**Palavras chaves:** Bovinos de corte, Biotecnologias, Efeitos Fixos, Herdabilidade; Correlações.

## ABSTRACT

PINHEIRO, Antônia Kaylyanne. Universidade Federal do Acre. March, 2019. **Productive and genetic parameters of the *in vitro* production of embryos in Nelore cattle in Acre.** Advisor: José Marques Carneiro Junior. In Acre, from the year 2000, there is an increase in the demand for *in vitro* production of embryos. However, several environmental and genetic factors interfere in the production of oocytes, embryos and pregnancy rate. The objective of this work was to evaluate the productive and genetic parameters of the *in vitro* production of Nelore embryos in Acre. Data from 1,292 follicular aspiration sessions were used in 571 donors, provided by In Vitro Acre company. The following variables were analyzed: Total Oocytes, Total Number of Clotted Embryos, Total Number of Produced Embryos and Total Number of Pregnancy, and the Percentages of Oocyte Conversion for Embryos, Conversion of Embryos for Pregnancy and Conversion of Oocytes for Pregnancy. The productive parameters and the genetic and non-genetic effects that influence the expression of each of them were calculated. Overall averages were observed for number of oocytes, embryos and pregnancy per suction/cows of 30.05; 9.82 and 3.03; respectively. For the rates of Oocyte / Embryo Conversion; Embryo / Pregnancy and Oocyte / Pregnancy, the values were 34.19; 38.39 and 10.68%, respectively. The non-genetic significant effects were: farm effect, bull, donor age, year and type of semen for all variables evaluated and season of the year effect for the variables Total Number of Clotted Embryos and Total Number of Pregnancy. Heritability of low to medium magnitude was observed, indicating genetic variability for the variables related to the production of oocytes, embryos and pregnancy. The estimated phenotypic and genetic correlations among the variables Total Number of Oocytes, Embryos and Pregnancy were positive and of high magnitude, indicating that the selection for increase of oocyte production results in an increase of embryo production and in pregnancy rates. It is concluded that there is genetic variability justifying the selection of donors for oocyte, embryo and pregnancy production and that attention should be given to improving environmental effects to increase the efficiency of *in vitro* embryo production.

**Keywords:** Cutting Cattle, Biotechnology, Fixed Effects, Heritability; Correlations.

## SUMÁRIO

	págs.
LISTA DE FIGURAS	
LISTA DE TABELAS	
RESUMO	
ABSTRACT	
1 INTRODUÇÃO .....	1
2 REVISÃO DA LITERATURA .....	3
2.1 Pecuária de corte no Brasil .....	3
2.2 Pecuária de corte no Acre .....	4
2.3 Melhoramento Genético Animal .....	5
2.4 Biotecnologias reprodutivas em bovinos .....	5
2.5 Produção <i>in vitro</i> de embriões.....	7
2.6 Técnica da produção <i>in vitro</i> de embriões bovinos .....	8
2.7 Efeitos não genético na Produção <i>In vitro</i> de Embriões .....	9
2.7.1 Efeito de fazenda.....	9
2.7.2 Efeito de touro .....	10
2.7.3 Efeito da idade da doadora .....	11
2.7.4 Efeito de estação do ano e de ano .....	12
2.7.5 Efeito do tipo de sêmen (sexado e convencional).....	13
2.7.6 Efeito do técnico para seleção de oócitos e fertilização <i>in vitro</i> .....	14
2.8 Fatores genéticos na produção <i>in vitro</i> de embriões .....	14
2.8.1 Parâmetros genéticos.....	15
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	17
3.1 Estrutura dos dados.....	17
3.2 Procedimentos da técnica de produção <i>in vitro</i> de embriões .....	17
3.3 Análises Estatísticas .....	19
3.3.1 Estimação dos Parâmetros Produtivos .....	19
3.3.2 Estimação dos Parâmetros Genéticos.....	20
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	25
4.1 Parâmetros produtivos da produção <i>in vitro</i> de embriões.....	25
4.2 Parâmetros Genéticos: avaliação dos efeitos não genéticos .....	31
4.2.1 Efeito de fazenda.....	31
4.2.2 Efeito de Touro .....	32
4.2.3 Efeito de idade da doadora .....	33
4.2.4 Efeito de ano .....	35
4.2.5 Efeito de estação do ano .....	36
4.2.6 Efeito do tipo de sêmen .....	37
4.2.7 Efeito de técnico para seleção de oócitos e fertilização <i>in vitro</i> .....	39
4.3 Parâmetros Genéticos: componentes de variância e herdabilidade .....	40
4.3.1 Efeitos genéticos da doadora .....	40
4.4 Correlações fenotípicas e genéticas na produção <i>in vitro</i> de embriões .....	42

5 CONCLUSÃO.....	44
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	45



## 1 INTRODUÇÃO

A pecuária de corte é uma das atividades produtivas mais importantes para o agronegócio brasileiro, registrando importantes avanços quantitativos e qualitativos, que se mantêm como setor de grande capacidade empregadora e de geração de renda. Recentemente tem-se verificado tendência de verticalização da produção com a adoção de tecnologias relacionadas à melhoria da qualidade do pasto, manejo sanitário e nutricional, bem como ferramentas de melhoria da qualidade genética dos animais (EUCLIDES FILHO, 2009; ARTMANN, 2014).

Neste contexto, o melhoramento genético aliado ao uso de tecnologias pode contribuir para o aumento do potencial genético dos animais nos sistemas de produção (RODRIGUES; RODRIGUES, 2009). Diante disto, a utilização e o desenvolvimento das biotecnologias reprodutivas como a inseminação artificial (IA), a transferência de embriões (TE) e a produção *in vitro* de embriões (PIVE) são importantes ferramentas para o avanço do melhoramento genético dos rebanhos, pois possibilita a disseminação de genética superior de touros e matrizes (BERTOLINI; BERTOLINI, 2009; NEVES; MIRANDA; TORTORELLA, 2010; VIEIRA, 2012; CHOUDHARY et al., 2016).

A partir de 1949 foi observado crescente uso das biotecnologias reprodutivas com a finalidade de acelerar a disseminação de animais geneticamente superiores (BARBOSA; MACHADO, 2008; RODRIGUES; RODRIGUES, 2009; NEVES; MIRANDA; TORTORELLA, 2010; SEVERO, 2015). As limitações relativas ao progresso genético da monta natural contribuíram para impulsionar a pesquisa no desenvolvimento e aplicação de biotecnologias reprodutivas (SOUSA et al., 2012). Assim, o uso da inseminação artificial em tempo fixo (IATF), a transferência de embriões e a produção *in vitro* de embriões tem contribuído para redução do intervalo de gerações e conseqüentemente acelerar o progresso genético dos rebanhos (VIANA et al., 2010; VIEIRA, 2012; MELLO et al., 2016c; CHOUDHARY et al., 2016).

A inseminação artificial foi a primeira biotecnologia reprodutiva a ser utilizada, propiciando melhor aproveitamento do material genético do macho. A seleção de touros com melhor desempenho passou a ser explorado e incrementado aos programas de melhoramento genético com maior intensidade (SEVERO, 2015).

Apesar dos grandes avanços promovidos pela inseminação artificial, o baixo número de descendentes e o longo intervalo de gerações da espécie bovina dificultam o processo de seleção na população (VIEIRA, 2012). Desta forma, surgiu a necessidade de aprimorar técnicas reprodutivas para potencializar o aproveitamento do material genético da fêmea (MELLO et al., 2016a). A partir disto, a PIVE foi gradativamente incorporada aos programas de melhoramento genético e se tornou umas das técnicas mais eficazes para difusão concomitante do material genético de fêmeas e machos (GONÇALVES et al., 2007; RUMPF, 2007; LOIOLA et al., 2014; MELLO et al., 2016b).

O uso rotineiro desta biotecnologia reprodutiva ainda apresenta dificuldades técnicas, alto custo financeiro e baixo número de embriões viáveis para transferência (SCANAVEZ; CAMPOS; SANTOS, 2013). Um dos motivos desta baixa produção de embriões está relacionado a fatores que influenciam a conversão de oócitos, dentre eles, os fatores ambientais, as condições de cultivo da PIVE, as condições fisiológicas da doadora, o efeito de touro e os fatores genéticos relacionados a produção de oócitos e embriões (PEIXOTO et al., 2006; NETO et al., 2014; MELLO et al., 2016a). Recentemente no Acre, verificou-se aumento na demanda da biotecnologia reprodutiva PIVE. A disseminação genética predominante no Estado é a raça Nelore, dos setenta mil nascimentos de animais zebuínos registrados nos últimos 14 anos, 91% são animais da raça Nelore (ABCZ, 2018).

Neste contexto, torna-se importante o estudo de características relacionadas à produção de oócitos e embriões e à estimação de parâmetros genéticos para estas características na raça Nelore do Acre. O objetivo deste trabalho foi avaliar os parâmetros produtivos e genéticos da produção *in vitro* de embriões em bovinos Nelore no Acre.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 Pecuária de corte no Brasil

A pecuária faz parte dos principais segmentos de produção econômica do país, em 2017 o produto interno bruto correspondeu a 31% do setor do agronegócio brasileiro (ABIEC, 2018). A modernização da cadeia produtiva da pecuária brasileira ocorreu de forma rápida e intensa, conquistando posição de destaque no cenário mundial (CARVALHO; ZEN, 2017). Atualmente o país apresenta o maior rebanho comercial do mundo, com cerca de 222 milhões de cabeças (BRASIL, 2018b), criados em uma área de aproximadamente 164 milhões hectares (SANTOS et al., 2018). Aproximadamente 80% do rebanho é formado por animais de raças zebuínas (*Bos indicus*), que são animais rústicos e bem adaptados ao ambiente tropical. Dentre as raças zebuínas destaca-se a Nelore, com 90% desta parcela (ABIEC, 2016).

A pecuária de corte no Brasil é caracterizada pela criação de animais a pasto, a partir do sistema extensivo e intensivo (FERRAZ; FELÍCIO, 2010). Segundo Barbosa et al. (2015) o sistema predominante no país é o sistema extensivo, onde depende principalmente do suprimento de nutrientes dos pastos, restringindo a suplementação alimentar ao fornecimento de sal comum e/ou suplemento mineral aos animais. Já os sistemas intensivos no Brasil, são caracterizados pela utilização de gramíneas e leguminosas de alta qualidade e produtividade, manejo e adubação de pastagens, realização de lotação rotacional e boas práticas de produção nutricional (LATAWIEC ET AL., 2014).

Apesar do país ocupar posição de destaque no mercado mundial de carne bovina, vários aspectos precisam ser melhorados, dentre eles os índices reprodutivos (CAMPOS et al., 2013). Segundo Mello et al. (2014) a otimização da eficiência reprodutiva contribui para melhoria do desempenho produtivo e lucratividade dos rebanhos. Contudo, a pecuária brasileira apresenta baixos índices reprodutivos, que são caracterizados por longo intervalo de partos que variam de 14 a 21 meses, idade a primeira cria acima de 24 meses, taxa de natalidade em torno de 60 a 65%,

resultando em baixos índices de prenhez nos rebanhos (CORRÊA et al., 2000; MCMANUS et al., 2002; BARUSELLI et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2006; SOUZA et al., 2012).

Neste sentido, as biotecnologias aplicadas a reprodução animal associado ao manejo adequado do rebanho, vem sendo implementadas aos programas de melhoramento genético, com finalidade de melhorar os índices reprodutivos e aumentar a qualidade e quantidade de bezerros com genética e fenótipo superiores (TORRES JUNIOR et al., 2009).

## **2.2 Pecuária de corte no Acre**

No Acre, a pecuária é a atividade com maior expressão econômica do setor agropecuário, representando 40% do valor bruto da produção e possui a cadeia produtiva mais consolidada (BARBOSA et al., 2015). A importância econômica e social da atividade no Estado está relacionada principalmente a geração de emprego, garantia de renda gerada pelos produtos agropecuários e oferta suficiente para o mercado interno, proporcionando economia de importação (BITENCOURT, 2008).

Nos últimos anos, a pecuária de corte desenvolvida no Acre vem passando por avanços significativos, onde apresentou crescimento acentuado no período entre 1999 a 2005, passando de aproximadamente 929 mil para 2,3 milhões de cabeças. Em 2006 o efetivo de rebanho era 2,4 milhões, já em 2016 esse número chegou a cerca de 2,9 milhões de cabeças (IBGE, 2017). Atualmente o estado possui o quarto maior rebanho da região Norte, estimado de 3,1 milhões de cabeças (BRASIL, 2018a). Contudo, a maior parte das propriedades ainda trabalha com sistemas tradicionais com baixos índices zootécnicos e baixa produtividade (BARBOSA et al., 2015).

O sistema de criação predominante na pecuária da região é o extensivo, representando cerca de 90% das propriedades. O tipo de pastagem que apresentam maior difusão nesse sistema são as gramíneas do gênero *Brachiaria brizantha*, *Brachiaria decumbens*, *Brachiaria humidicula* e *Panicum maximum* (VALENTIM e ANDRADE, 2005). Apesar da atividade ainda apresentar baixos índices tecnológicos, a mesma tem potencial de crescimento e representa um dos principais sistemas de desenvolvimento na economia na região e conservação dos ecossistemas locais (BARBOSA et al., 2015).

### **2.3 Melhoramento Genético Animal**

O melhoramento genético animal no Brasil é desenvolvido por pesquisadores de conhecimento na área que variam desde trabalhos clássicos como estimativa de variâncias e componentes genéticos, como modelagem estatística e genética molecular aplicada ao melhoramento genético animal (LÔBO et al.,2010).

O objetivo do melhoramento genético é alterar a proporção de certos genes que possam favorecer a expressão de características de interesse dentro do ambiente onde o animal está inserido. Segundo Coutinho, Rosário e Jorge (2010) a partir do século XX, ocorreu demanda crescente por animais que apresentam melhor desempenho e adaptação às diversas condições ambientais. Para atingir este objetivo, existem duas ferramentas básicas no melhoramento genético, a seleção e o cruzamento. Os ganhos com seleção só são possíveis de serem alcançados na presença de variabilidade genética, onde a combinação de genótipos superiores pode ser realizada para o estabelecimento da próxima geração (LÔBO et al., 2007).

Segundo Oliveira Alves et al. (1999) o processo seletivo é viável a partir de quatro princípios: medição com menor erro possíveis das características a serem melhoradas, identificação com precisão dos animais melhoradores, acasalamento direcionado destes animais para que deixem maior número de filhos em relação à média da população e uso de estratégias em que o fluxo de genes seja sempre no sentido de animais de maior mérito genético para os de menor. Contudo, o melhoramento voltado para bovinos de corte é um processo lento e o intervalo entre uma geração a outra constitui em um ciclo longo, dificultando o processo de seleção nos rebanhos. Diante disto, as biotecnologias reprodutivas têm sido amplamente utilizadas para acelerar o melhoramento e a rápida difusão de genética superior (NEVES; MIRANDA; TORTORELLA, 2010).

### **2.4 Biotecnologias reprodutivas em bovinos**

A aplicação das biotecnologias de reprodução animal vem contribuindo de forma decisiva para o avanço genético nos rebanhos, pois possibilitou que a disseminação de genética superior crescesse significativamente (BLONDIN, 2015). O efeito básico das tecnologias reprodutivas é o aumento do potencial reprodutivo,

significando que menos pais são necessários para produzir determinado número de filhos, comparados com a reprodução natural. Isto resulta em maior intensidade de seleção e possível aumento do mérito genético dos filhos (NICHOLAS, 1996).

Segundo Bertolini e Bertolini (2009), os avanços biológicos e tecnológicos proporcionaram o desenvolvimento de quatro gerações de biotecnologias de reprodução assistida para humanos e animais. A primeira geração - inclui: Inseminação artificial, criopreservação de gametas e embriões; a segunda geração compreendeu: superovulação e transferência de embriões; a terceira geração apresentou a sexagem espermática e embrionária, a recuperação de oócitos e a fertilização *in vitro*; e a 4ª geração resultou a clonagem por transferência nuclear de células embrionárias ou somáticas, a transgenia e a biologia de células-tronco.

A inseminação artificial foi a primeira biotecnologia reprodutiva utilizada para massificar a utilização de reprodutores geneticamente superiores e nos dias atuais é uma técnica bem estabelecida que tem sido implantada nos programas de melhoramento genético (BARBOSA; MACHADO, 2008; SOUSA et al., 2012). A inseminação artificial teve papel importante para disseminação de animais em larga escala, contudo, o longo intervalo de geração dificulta o processo de seleção dos animais. Neste sentido, surgiu a necessidade de aprimorar técnicas de aproveitamento do material genético da vaca com a finalidade de melhorar eficiência reprodutiva.

As fêmeas bovinas, na puberdade, possuem em seus ovários cerca de 70.000 oócitos capazes de serem fecundados. Entretanto, pelas vias naturais, podem ser gerados apenas 0,01% de poucos produtos viáveis, totalizando em média dez descendentes em sua vida reprodutiva (BOLS et al., 1997). Para melhor aproveitamento destes gametas, ao longo dos anos, diversos métodos e protocolos foram testados. A biotecnologia reprodutiva muito utilizada desde 1970 para este fim foi à transferência de embriões (RUFINO et al., 2006). Inicialmente era realizada por procedimentos cirúrgicos e depois foi adaptada por uma técnica não invasiva (SENEDA et al., 2002). A outra biotecnologia reprodutiva que ganhou impulso para aproveitamento do material genético da vaca foi à PIVE (MELLO et al., 2016c). Com o uso da ultrassonografia possibilitou recuperação de oócitos de animais vivos e tornou-se um procedimento rápido e eficaz (LIMA et al., 2014; MELLO et al., 2016c).

Dentre estas biotecnologias a PIVE tem sido fortemente utilizada para multiplicação de animais geneticamente superiores e tem sido uma opção para formação de rebanhos puros (LIMA et al., 2014; MELLO et al., 2016b).

## 2.5 Produção *in vitro* de embriões

A produção *in vitro* de embriões merece destaque, pois o crescimento no uso desta biotecnologia é expressivo (Figura 1) no Brasil (RUMPF, 2007; SILVA et al., 2015; MELLO et al., 2016a; SANTOS et al., 2017).

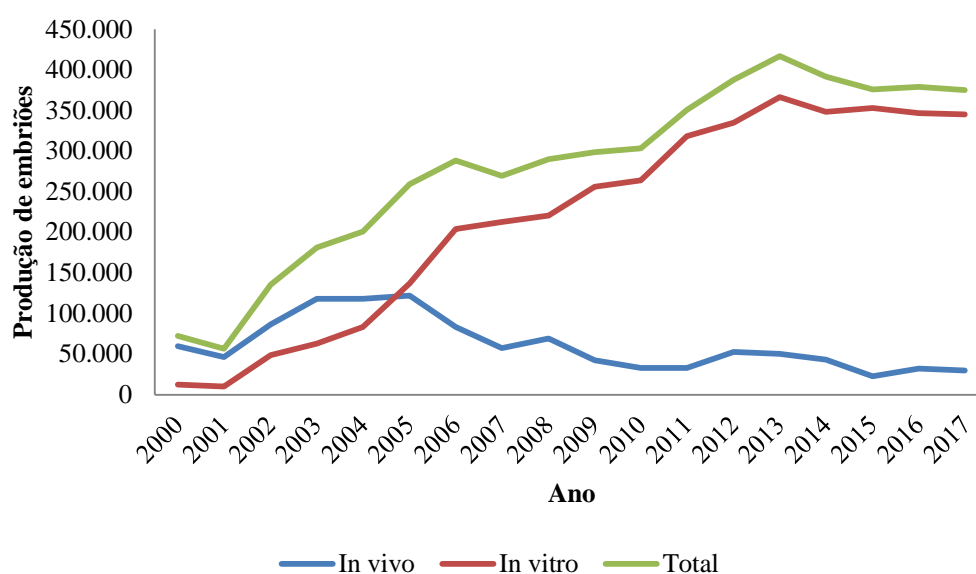


Figura 1. Produção de embriões no Brasil *in vivo*, *in vitro* e total no período de 2000 a 2017. Fonte. VIANA et al., 2010; 2017

A expansão da PIVE no Brasil foi impulsionada principalmente pela difusão de raças de cortes zebuínas, em especial a raça Nelore, pois além de sua grande adaptabilidade ao ambiente, estas raças apresentam bons índices de produção de oócitos quando comparados aos animais taurinos (ANDRADE et al., 2012; NOGUEIRA; MINGOTI; NICACIO, 2013).

Outro fator importante na PIVE é o melhoramento genético do rebanho, pois possibilita os acasalamentos dirigidos entre reprodutores e matrizes superiores, formando um rebanho de alto padrão genético. Segundo Rumpf (2007); Scanavez, Campos e Santos (2013) a multiplicação do potencial genético da fêmea aumenta em

média, 36 crias por ano oriundas de uma única doadora. Além disso, permite a utilização de bezerras jovens, vacas no início da gestação e vacas de alto potencial genético com problemas de infertilidade causados por acidente ou doenças de origem não genética.

## **2.6 Técnica da produção *in vitro* de embriões bovinos**

A PIVE, de modo geral, pode ser dividida em duas etapas principais, sendo elas, a obtenção dos oócitos da doadora e a etapa laboratorial que esta subdividida em maturação, fecundação e cultivo embrionário (VARAGO; MENDONÇA; LAGARES, 2008).

A coleta dos oócitos é realizada a partir da técnica de aspiração folicular ovariana guiada por ultrassonografia (*Ovum Pick Up* – OPU) (ANDRADE et al., 2012; BARBOSA; TONIOLLO; GUIMARÃES, 2013). Após recuperação dos oócitos, os mesmos são classificados de acordo com a qualidade intracelular e a quantidade de células do *cumulus oophorus* (GONÇALVES et al., 2008).

A maturação *in vitro* é a fase que os oócitos passam por uma série de transformações e adquirem competência para serem fecundados (DODE et al., 2000; GOTTARDI; MINGOTI, 2009; WALTERO et al., 2013). Após isto ocorre a fertilização *in vitro* pela fecundação de espermatozoides capacitados com oócitos maduros, gerando zigotos, aptos ao desenvolvimento embrionário (VARAGO; MENDONÇA; LAGARES, 2008; MELLO et al., 2016c). O cultivo *in vitro* corresponde ao período a partir do desenvolvimento embrionário até o estágio de blastocisto (BRUM et al., 2006; GONÇALVES et al., 2007). Geralmente no sétimo dia de cultivo, os embriões são classificados de acordo com o seu estágio de desenvolvimento embrionário e a sua qualidade morfológica conforme critérios da Sociedade Internacional de Embriões (IETS), podendo assim ser transferidos para receptoras previamente sincronizadas ou criopreservados (IETS, 1998).

A seleção das receptoras é uma etapa muito importante, sendo necessária a seleção de vacas com boa fertilidade, com bom escore corporal, que apresenteaios regulares e com boa habilidade materna (ANDRADE et., 2012). A sincronização da receptora é realizada simultaneamente com a técnica de PIVE, a qual necessita de protocolo hormonal específico para manipulação do ciclo estral das receptoras. Os métodos disponíveis para o tratamento de receptoras de embriões incluem, a indução



de estro com o uso das prostaglandinas ou seus análogos sintéticos, além dos hormônios para a sincronização da ovulação (LUSTOSA et al., 2018).

A etapa que precede a PIVE é a inovulação de embriões. Neste procedimento os embriões aptos ao desenvolvimento são transferidos para a receptora, onde completará o período de gestação (GOTTARDI; MINGOTI, 2009; LIMA et al., 2014). Todas as etapas da PIVE apresentam grande impacto no resultado final da técnica, neste sentido, é importante utilizar métodos adequados para aumentar a eficiência. Além disso, há aspectos relacionados às variações individuais entre doadoras, como idade e época e efeitos genético de touros e tipo de sêmen que interferem nos resultados da PIVE (ALENCAR COELHO et al., 1998; PEIXOTO et al., 2006; GAMA FILHO et al., 2007; LOIOLA et al., 2014).

## **2.7 Efeitos não genético na produção *in vitro* de embriões**

### **2.7.1 Efeito de fazenda**

As atividades de cada fazenda são desenvolvidas de acordo com os objetivos e critérios preestabelecidos por cada produtor e que variam de acordo com o sistema de criação (ALENCAR; BARBOSA, 2009). Os principais efeitos de fazenda que afetam a PIVE estão relacionados à nutrição, sanidade e potencial genético dos animais que são inerentes de cada fazenda (MELLO et al., 2016b).

Para que ocorra a reprodução, o animal requer condições corporais adequadas, como boa saúde e alimentação. As necessidades energéticas do animal seguem ordem prioritária, primeiramente a manutenção, lactação, ganho de peso e condição corporal e por último a reprodução (DUARTE JÚNIOR et al., 2013). Dessa forma, a deficiência nutricional afeta a reprodução, resultando em baixos índices reprodutivos, atrasos na idade à puberdade, longo período de anestro e redução nas taxas de prenhez (DIAS et al., 2010).

Também existem efeitos de aspectos relacionados ao padrão genético dos animais entre fazendas. Existem animais de processos seletivos que são mais produtivos e mais adaptados ao ambiente, onde conduzem a melhores resultados de produção de oócitos e embriões (ROSA et al., 2013). Segundo Seneda et al. (2002) a produção de oócitos depende de diversos fatores como a fisiologia do animal,

diversas patologias, idade, manejo nutricional, estação do ano, temperatura e fatores genéticos.

Outro fator importante é o manejo sanitário do rebanho e das biotécnicas ligadas à reprodução. Segundo Magajevski, Girio e Meireles (2007) as mortalidades embrionária e fetal têm um grande impacto na rentabilidade de qualquer sistema de produção animal. Diversas doenças reprodutivas causam infertilidade, abortos e falhas na concepção. Fazendas que realizam protocolos sanitários, incluindo vacinação para as principais doenças reprodutivas, como: IBR, BVD, brucelose e leptospirose tendem a ter melhores resultados (JUNQUEIRA et al., 2006; DINIZ, 2016).

### **2.7.2 Efeito de touro**

Os touros são os maiores responsáveis pelo progresso genético no rebanho, isso devido à facilidade de disseminação do material genético (ROSA et al., 2016). Diante disso, vários estudos têm dado ênfase a aspectos relacionados ao touro no melhoramento genético animal, bem como para características reprodutivas. Ao selecionar o touro destinado à reprodução, além contemplar o mérito genético é importante ter fertilidade comprovada (TORRES JÚNIOR et al., 2009). Existe grande variação individual na fertilidade dos touros submetidos à fertilização *in vitro*, no qual, alguns touros são mais sensíveis ao processo de capacitação espermática (ARAÚJO et al., 2013; SIMÕES et al., 2014). Esse efeito pode estar relacionado ao processo de congelamento do sêmen que comumente causa danos aos espermatozoides (SILVA; GUERRA, 2011).

Na literatura, vários estudos demonstram os efeitos individuais de touros nos resultados da PIVE bovinos. Mello et al. (2016a) ao estudarem os parâmetros de produção *in vitro* com animais da raça Sindi encontraram efeito do touro sobre as taxas de blastocistos. Serafim et al. (2018) em estudo sobre a influência do touro doador de sêmen sexado na PIVE, verificaram que no processo de sexagem alguns touros são mais sensíveis e respondem menos que outros.

Em outro estudo ao comparar a PIVE utilizando sêmen de diferentes touros, distribuídos em três grupos genéticos, foi observada diferença significativa entre touros e entre grupos genéticos (WATANABE; OLIVEIRA FILHO, 2000). Da mesma forma, Zhan, Lu e Seidel (2003) demonstraram variação entre touros nas taxas de

clivagem e no desenvolvimento dos embriões produzidos *in vitro*. Neste sentido, a seleção de touros para produção de embriões é muito importante para se obter bons resultados nos índices reprodutivos, pois as características do sêmen e qualidade dos oócitos são dois fatores determinantes em todo processo de fertilização *in vitro* de embriões (MARQUES et al., 2000).

### **2.7.3 Efeito da idade da doadora**

Na fase embrionária, a fêmea bovina apresenta várias células germinativas que se multiplicam para formação de milhões de oócitos. Ao nascimento ocorre redução destes oócitos e ao chegar à puberdade, possui menos de 20% dos folículos primordiais presentes no nascimento (NEVES; MARQUES JR, 2008). Na fase adulta, após atingir o máximo do desempenho reprodutivo e após múltiplas gestações, ocorre declínio na produção destes oócitos em decorrência da idade (VIANA; BOLS, 2005; MELLO et al., 2016a).

A redução da eficiência reprodutiva se manifesta pela diminuição das células germinativas, perda completa da fertilidade e diminuição abrupta na circulação dos hormônios esteroides gonadais (MALHI et al., 2006). Isso ocorre devido às altas concentrações plasmáticas de FSH e LH que aumentam o estímulo de desenvolvimento folicular, causando perda acelerada dos folículos (MELLO et al 2016b). Dessa forma, vacas mais velhas tendem a produzir menor número de oócitos e com baixo percentual de desenvolvimento, além da baixa qualidade devido ao menor número de camadas de células do cumulus, gerando oócitos com menor capacidade de desenvolvimento (NEVES; MARQUES JR, 2008).

Alguns trabalhos têm demonstrado efeito da idade da doadora em parâmetros da PIVE. SU et al. (2012) ao avaliar este efeito sobre a competência e desenvolvimento de oócitos bovinos, encontraram melhores resultados em vacas jovens. Da mesma forma, Rizos et al., 2005 obtiveram diferença significativa no potencial de desenvolvimento de oócitos recuperados entre novilhas e vacas. Peixoto et al. (2006), observaram maior produção de embriões viáveis em doadoras entre sete e oito anos de idade.

No entanto, na literatura há casos específicos, onde melhores níveis de qualidades dos oócitos são observados em vacas e não novilhas. Galli et al. (2003) relatam melhores taxas de clivagem e maior número de embriões congeláveis e

transferíveis em vacas quando comparada a novilhas. Mello et al. (2016a) ao avaliar doadoras da raça Sindi entre dois e 24 anos, verificaram que não houve efeito significativo para as taxas de clivagem e de blastocistos entre doadoras mais novas e mais velhas. Contudo, a maioria dos autores tem identificado o fator idade de doadora como efeito importante a ser isolado (PEIXOTO et al., 2004; KONIG et al., 2007; MERTON et al., 2009; PEREZ et al., 2015).

#### **2.7.4 Efeito de estação do ano e de ano**

Na PIVE, os principais efeitos de estação e as variações de ano, estão relacionados tanto aos parâmetros nutricionais, quanto aos climáticos (MELLO et al., 2016b). No Brasil, os sistemas de criação de bovinos estão situados principalmente nas regiões tropicais, onde favorecem a produção de animais zebuínos devido a sua adaptabilidade a ambientes adversos. Desta forma, é importante conhecer a tolerância destes animais em relação ao estresse ambiental na PIVE (AZEVEDO et al., 2005; GAMA et al., 2007).

Outro fator causador de estresse e que interfere nos resultados da PIVE é a disponibilidade e qualidade dos alimentos, que ocorre principalmente em sistemas de produção onde os animais são manejados a pasto (AMEIDA et al., 2007). Neste sentido, as condições ambientais são um dos principais aspectos que afetam o comportamento dos animais e interferem diretamente nos índices reprodutivos.

Na literatura, trabalhos relatam a influência de estação do ano nos resultados da PIVE. Gama Filho et al. (2007) ao avaliar os efeitos da sazonalidade sobre a dinâmica folicular ovariana e analisar a influência de temperaturas elevadas no desenvolvimento embrionário inicial em novilhas da raça Guzará, encontraram influência de efeito de época, onde temperaturas elevadas comprometeram a qualidade dos oócitos e a capacidade de desenvolvimento dos embriões. Fernandes et al. (2001), observaram efeito de sazonalidade na PIVE em doadoras Nelore, onde a estação chuvosa conduziu a maiores índices de concepção.

Neves et al. (2016) avaliando doadoras Nelore, constataram diferença significativa na porcentagem de produção de embriões de acordo com a estação do ano, onde o período mais quente conduziu a menor taxa de embriões (35%) em relação ao período mais ameno (55%). Peixoto et al. (2007) ao avaliar efeitos na taxa

de prenhez de doadoras zebuínas entre os anos de 1992 a 1999 obtiveram efeito significativo para efeito de ano e estação do ano.

### **2.7.5 Efeito do tipo de sêmen (sexado e convencional)**

O sêmen sexado é uma biotecnologia comercialmente disponível no mercado com capacidade de agregar valor à pecuária (RATH et al., 2009). A utilização de sêmen sexado permite aumentar o impacto na eficiência reprodutiva e produzir número desejado de machos ou fêmeas de acordo com o interesse do produtor (MOCÉ, GRAHAM, SHENK, 2006). Além disso, possibilita a seleção de fêmeas, produzindo novilhas de reposição de alto potencial genético (MOCÉ et al., 2006).

A separação dos espermatozoides para a produção de machos (cromossomo Y) ou fêmeas (cromossomo X) é possível devido à diferença no conteúdo de DNA dessas células (BARUSELLI et al., 2007). Em bovinos, esta diferença no conteúdo de DNA foi quantificada em 3,8% (GARNER et al., 1983). Com base nesta diferença, dois métodos foram desenvolvidos para a seleção do sexo dos espermatozoides: a citometria de fluxo e a centrifugação em gradiente de densidade (LIMA et al., 2011; VILLADIEGO et al., 2018). A precisão do resultado esperado no sexo dos bezerros é alta, sendo anunciado um valor acima de 85% pelas empresas processadoras de sêmen (MEIRELLES et al., 2008).

Em relação à fertilidade do sêmen sexado, mesmo depois de ordenar e congelar, ainda é altamente variável (RATH et al., 2009). Adicional a isso, os bezerros resultantes de sêmen sexado não diferem dos bezerros oriundos de sêmen convencional, incluindo o tempo de gestação, peso ao nascer, taxa de mortalidade e ganho de peso (TUBMAN et al., 2004).

Entretanto, o processo de classificação resulta em danos aos espermatozoides e elimina algumas características estruturais, pois os mesmos são expostos a produtos químicos (MOCÉ, GRAHAM, SHENK, 2006). Os danos causados na membrana plasmática das células espermáticas que podem prejudicar o processo de criopreservação (SILVA; GUERRA, 2011). Mesmo submetidos a este processo de classificação a sua capacidade de gerar embrião continua, porém, alguns trabalhos relatam desvantagem entre o tipo de sêmen sexado e convencional (CARVALHO et al., 2010).

Nascimento et al. (2015) avaliaram a taxa de produção de blastocisto *in vitro* utilizando sêmen sexado e convencional. Estes autores verificaram que o sêmen sexado foi menos eficiente na produção de blastocistos quando comparado ao sêmen convencional. Também Mello et al. (2016a) ao avaliar doadoras da raça Sindi, verificaram influência sobre as taxas de clivagem e blastocistos, sendo que o sêmen convencional apresentou os melhores resultados.

Blondin et al. (2009) avaliando efeito de sêmen sexado e convencional em touros Holandeses, obtiveram efeito significativo entre sêmen sexado e convencional nas taxas de blastocistos, onde sêmen convencional conduziu a maiores taxas de blastocistos em relação ao sêmen sexado

### **2.7.6 Efeito do técnico para seleção de oócitos e fertilização *in vitro***

Atualmente os procedimentos para a PIVE estão relativamente bem definidos e apresentam resultados satisfatórios (VARAGO; MENDONÇA; LAGARES, 2008). Os meios de cultivo e os métodos empregados são bastante similares, apenas com algumas variações entre os laboratórios e entre indivíduos do próprio laboratório (GARCIA; AVELINO; VANTINI, 2012). Contudo, há relatos que a habilidade do técnico interfere nos resultados da PIVE. Segundo Van Wagtendonk de Leeuw (2006) a experiência do operador tem efeito significativo sobre o número e a qualidade dos oócitos colhidos.

Como visto estes efeitos não genéticos, de modo geral, interferem na produção de oócitos e conseqüentemente de embriões. Desta forma, justificando a necessidade de verificação de significância estatística na variação fenotípica destas características, e inserção em modelos estatísticos que tenham por objetivo a estimativa da variação genética.

### **2.8 Fatores genéticos na produção *in vitro* de embriões**

Apesar da evolução da técnica da PIVE, pouca atenção foi dada aos fatores genéticos ligados a produção *in vitro* de embriões (PEREZ et al., 2015). De modo geral, as características reprodutivas em bovinas possuem baixa herdabilidade, limitando a eficiência da seleção em programas de melhoramento genético

(ALENCAR, 2010). O mesmo se espera para características relacionadas à biotécnicas reprodutivas, pelo fato de compartilharem processos biológicos similares. Tonhati et al. (1999) estimou herdabilidade de 0,03 para embriões transferíveis na raça Holandesa e reporta valores similares que variam de 0 a 0,10, indicando que a variação genética é praticamente inexistente. Estes resultados sugerem que a melhoria está relacionada principalmente, a fatores ambientais como: manejo, nutrição, sanidade e tecnologias.

Entretanto, outros trabalhos indicam que existe variação genética aditiva para as características relacionadas à produção de oócitos e embriões, onde permite seleção, resultando em diminuição dos custos e aumento da produção. Merton et al. (2009) estimou herdabilidade de 0,09 a 0,25 para número de oócitos, 0,21 para número de embriões clivados e 0,07 para número de embriões com sete dias em vacas Holandesas. Peixoto et al. (2004) estimou herdabilidade para característica de embriões transferíveis em Nelore entre 0,20 a 0,65 e Perez et al. (2015), em animais da raça Guzerá, estimou herdabilidade de 0,08 a 0,23 para número de oócitos, 0,17 para número de embriões clivados e 0,15 para embriões produzidos.

Estas características relacionadas às biotécnicas reprodutivas por possuírem processos biológicos complexos muitos autores sugerem mais estudos sobre parâmetros genéticos para melhores resultados na PIVE (PEREZ et al., 2015; MERTON et al., 2009a; PEIXOTO et al., 2004).

### **2.8.1 Parâmetros genéticos**

Os parâmetros genéticos são definidos pelos componentes de variância que são específicos das populações e das condições ambientais, que quando exploradas podem sofrer variações de acordo com o processo de seleção e as alterações de manejo (FALCONER; MACKAY, 1996). Constituem importante ferramenta utilizada na obtenção de predições das respostas direta (herdabilidades) e correlacionada à seleção (correlações entre características), do valor genético dos animais e na elaboração do índice de seleção (LIRA et al., 2008).

A herdabilidade ( $h^2$ ) consiste na proporção da variância fenotípica atribuída ao efeito aditivo dos genes, no sentido restrito consiste na razão entre a variação genética aditiva e a variação fenotípica. Já as correlações ocorrem entre duas

características, e de modo geral são categorizadas como: variância genética ( $\sigma_a^2$ ), fenotípica ( $\sigma_p^2$ ) e ambiental ( $a_e^2$ ) (FALCONER, 1987).

As correlações fenotípicas podem ter origem genética ou ambiental, entretanto, somente os de origem genética podem ser transmitidos entre as gerações (SANTOS et al., 2005). As correlações ambientais são observadas quando duas características são influenciadas pelos mesmos efeitos de origem ambiental. Já as correlações genéticas, em geral, são devido ao fenômeno de pleiotropismo, onde os mesmos genes podem afetar duas ou mais características simultaneamente (FALCONER, 1987).

A obtenção dos valores genéticos requer a utilização de métodos estatísticos capazes de identificar e isolar os efeitos genéticos e não genéticos, a partir de informações fenotípicas obtidas em campo (HENDERSON 1963; PEREIRA, 1999). Uma das dificuldades na aplicação destes métodos é a necessidade prévia do conhecimento dos componentes de variância genético e ambiental (HENDERSON, 1984). A solução prática tem sido a utilização de métodos de estimação capazes de fornecer informações precisas sobre estes componentes (LOPES, 2000). No melhoramento animal o método mais utilizado para estimação dos componentes de variância é o REML (*Restricted Maximum Likelihood*) (OLIVEIRA, et al., 2000; PEREIRA; 2011).

A metodologia de modelos mistos realiza simultaneamente as operações de estimação dos efeitos fixos, por quadrados mínimos generalizados, pelo método BLUE (*Best Linear Unbiased Estimator*) e de predição de valores genéticos pelo método BLUP (*Best linear Unbiased Predictor*) (RESENDE et al., 1996). A partir de 1990, com a evolução computacional este método se tornou acessível para avaliação genética pelos programas de melhoramento genético (RESENDE; ROSAPEREZ, 1999).



## **3 MATERIAL E MÉTODOS**

### **3.1 Estrutura dos dados**

Este trabalho foi desenvolvido a partir de dados de produção de oócitos e embriões de doadoras bovinas da raça Nelore entre os anos de 2015 a 2018. Os dados foram fornecidos pela empresa especializada em produção *in vitro* de embriões bovinos (Laboratório *In vitro* – Acre) localizada em Rio Branco - Acre.

Foram utilizadas informações referentes a 1.292 sessões de aspirações foliculares realizadas em 571 fêmeas bovinas da raça Nelore distribuídas em dez fazendas no Estado do Acre. O procedimento de aspiração folicular foi realizado pelo mesmo técnico para todas as fazendas. Todos os animais utilizados nos acasalamentos da PIVE são de animais de categoria PO, com cadastro na Associação Brasileira de Criadores de Zebu (ABCZ).

### **3.2 Procedimentos da técnica de produção *in vitro* de embriões**

Os oócitos foram coletados por meio da técnica de aspiração folicular por via transvaginal guiada por ultrassonografia (*Ovum Pick-up* – OPU). Estes oócitos foram classificados em quatro graus de acordo com a qualidade intracelular e a quantidade de células do cumulus conforme Gonçalves et al. (2008):

Grau I – apresenta células do cumulus compacta, com mais de três camadas e possui ooplasma granulado, preenchendo a zona pelúcida;

Grau II – apresenta células do cumulus compacta, com menos três camadas e possui ooplasma com granações distribuídas heterogeneamente;

Grau III – apresenta células do cumulus expandido e o ooplasma encontra-se contraído com espaço entre a membrana celular e a zona pelúcida;

Grau IV – os oócitos são totalmente descobertos ou parte deles, pelas células do cumulus e o citoplasma possui cor e granulações anormais.

Após seleção dos oócitos, os mesmos foram encaminhados para o laboratório para maturação *in vitro* e mantidos em uma incubadora com temperatura de 38,5°C, com atmosfera de 5% de CO<sub>2</sub>, por um período entre 20 a 22 horas.

Para fertilização *in vitro* foi utilizado sêmen sexado e convencional obtidos de centrais de comercialização de sêmen, sendo a escolha do touro de acordo com os critérios de seleção do criador. O protocolo utilizado baseou-se na técnica de centrifugação através do gradiente descontínuo de percoll. A concentração espermática foi de 5 x 10<sup>6</sup> espermatozoides /mL. A incubação do espermatozoide e oócitos foram realizadas em estufa de cultivo intracelular, com atmosfera de 5% de CO<sub>2</sub> e temperatura 38,5°C, por um período de 18 a 21 horas.

Para cultivo *in vitro*, foi retirado as células do cúmulo dos zigotos e os mesmos foram mantidos em incubadora com temperatura de 38,5°C e com atmosfera de 5% de CO<sub>2</sub>. No dia três (D3), após fertilização *in vitro*, foi realizada a avaliação da clivagem e dia sete (D7) após fertilização *in vitro* foi realizado a classificação dos embriões de acordo com o seu estágio de desenvolvimento conforme manual da Sociedade Internacional de Embriões (IETS, 1998) com exceção do estágio de Blastocisto em eclosão (BN) que é metodologia do próprio laboratório:

Estádio 1: Mórula (MO) – estrutura com blastômeros ainda evidentes;

Estádio 2: Blastocisto Inicial (BI) – estrutura que dá início a uma pequena cavidade denominada blastocele;

Estádio 3: Blastocisto (BL) – estrutura onde o blastocele aumenta de tamanho e ocupa maior parte da zona pelúcida;

Estádio 4: Blastocisto Expandido (BX) – estrutura do blastocele aumenta de tamanho e ocorre uma redução na espessura da zona pelúcida

Estádio 5: Blastocisto em Eclosão (BN) – Estrutura em início de rompimento da zona pelúcida;

Estádio 6: Blastocisto Eclodido (BE) – Estrutura com zona pelúcida rompida e embrião entra em contato direto com os tecidos maternos.

Simultaneamente aos procedimentos anteriores da técnica de PIVE ocorreu a preparação das receptoras para inovulação utilizando o protocolo conforme esquema representativo na figura 2.

O protocolo foi iniciado no dia zero (D0) com a inserção do dispositivo intravaginal com 1 g de progesterona (P<sub>4</sub>, CRONIPRES<sup>®</sup>, Biogénesis Bagó) e aplicação de 2 mL de benzoato de estradiol (BE, BIOESTROGEN<sup>®</sup>, Biogénesis Bagó). No dia oito (D8) foi retirado o implante, aplicando 2 mL de prostaglandina (PGF<sub>2</sub> α, CRONIBEN<sup>®</sup>, Biogénesis Bagó), 300UI (1,5 mL) de gonadotrofina coriônica equina (eCG, ECEGON<sup>®</sup>, Biogénesis Bagó) e 2 mL de cipionato de estradiol (CI, CRONI-CIP<sup>®</sup>, Biogénesis Bagó). No dia dezessete (D17) foi realizada a transferência dos embriões.

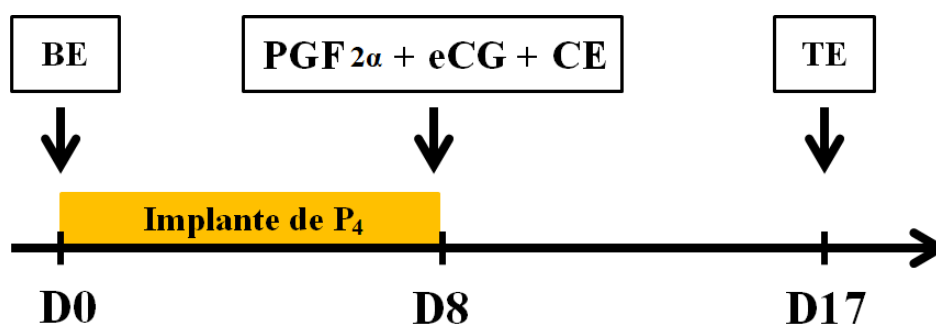


Figura 2. Protocolo hormonal utilizado pela empresa *In vitro* Acre para sincronização das receptoras.

O diagnóstico de gestação foi realizado em 30 e 60 dias após a inovulação. Em todas as fases foram anotadas as informações em banco de dados inerentes a cada etapa do processo.

### 3.3 Análises estatísticas

#### 3.3.1 Estimação dos parâmetros produtivos

Os percentuais e as análises estatísticas descritiva das variáveis de produção e oócitos e embriões foram realizadas utilizando o programa estatístico *Statistical Analysis System* (SAS INSTITUTE, 2002) por meio do procedimento PROC MEANS. Foram avaliadas as seguintes variáveis:

Variáveis de oócitos: Oócitos de Grau I, Oócitos de Grau II, Oócitos de Grau III e Oócitos de Grau IV.

Variáveis de embriões: Mórula (MO), Blastocisto Inicial (BI), Blastocisto (BL), Blastocisto Expandido (BX), Blastocisto em Eclosão (BN) e Blastocisto Eclodido (BE).

### 3.3.2 Estimação dos parâmetros genéticos

Foram analisadas as seguintes variáveis relacionadas à produção de oócitos e embriões: Número Total de Oócitos ( $NT_{OOC}$ ), Número Total de Embriões Clivados ( $NT_{CLIV}$ ), Número Total de Embriões Produzidos ( $NT_{EMB}$ ) e Número Total de Prenhez ( $NT_{PREN}$ ), e os Percentuais de Conversão de Oócitos para Embriões ( $PC_{O/E}$ ), Conversão de Embriões para Prenhez ( $PC_{E/P}$ ), Conversão de Oócitos para Prenhez ( $PC_{O/P}$ ) e Taxa de clivagem ( $TX_{CLIV}$ ).

Para as variáveis relacionadas ao Número Total de Oócitos ( $NT_{OOC}$ ) foi considerado a soma de oócitos aspirados de Grau I, Grau II, Grau III e Grau IV; para a variável Número Total de Embriões Clivados ( $NT_{CLIV}$ ) foi considerado o total de embriões clivados em relação aos oócitos viáveis, para a variável Número Total de Embriões ( $NT_{EMB}$ ) foi considerado o total de embriões produzidos em relação aos embriões clivados e para a variável Número Total de Prenhez ( $NT_{PREN}$ ) foi considerado o total de prenhez em relação aos embriões produzidos.

A variável de Porcentagem de Conversão de Oócitos para Embriões ( $PC_{O/E}$ ) foi calculada a partir da seguinte equação:

$$PC_{O/E} = \frac{NT_{EMB}}{NT_{OOC}} \times 100 \quad (1)$$

Onde:

$PC_{O/E}$  = Porcentagem de conversão de oócitos para embriões;

$NT_{EMB}$  = Número Total de Embriões Produzidos;

$NT_{OOC}$  = Número Total de Oócitos.

E a variável de Porcentagem de Conversão de Embriões para Prenhez ( $PC_{E/P}$ ) foi calculada a partir da seguinte equação:

$$PC_{E/P} = \frac{NT_{PREN}}{NT_{EMB}} \times 100 \quad (2)$$

Onde:

$PC_{E/P}$  = Porcentagem de Conversão de Embriões para Prenhez;

$NT_{PREN}$  = Número Total de Prenhez;

$NT_{EMB}$  = Número Total de Embriões Produzidos.

A variável porcentagem de conversão de Oócitos para Prenhez ( $PC_{O/P}$ ) foi calculada a partir da seguinte equação:

$$PC_{O/P} = \frac{NT_{PREN}}{NT_{OOC}} \times 100 \quad (3)$$

Onde:

$PC_{O/P}$  = Porcentagem de Conversão de Oócitos para Prenhez;

$NT_{PREN}$  = Número Total de Prenhez;

$NT_{OOC}$  = Número Total de Oócitos.

A variável Taxa de Clivagem ( $TX_{CLIV}$ ) foi calculada a partir da seguinte equação:

$$TX_{CLIV} = \frac{NT_{CLIV}}{NT_{OOC}} \times 100 \quad (4)$$

Onde:

$TX_{CLIV}$  = Taxa de Clivagem;

$NT_{CLIV}$  = Número Total de Embriões Clivados;

$NT_{OOC}$  = Número Total de Oócitos.

E a variável Taxa de Descarte ( $TX_{DESC}$ ) foi calculada a partir da diferença entre o Número Total de Embriões Produzidos e o Número Total de Embriões Transferidos.

Inicialmente, para estas características, foi realizada análise estatística descritiva para obtenção de médias e desvios padrão. Em seguida, utilizou-se o método de Quadrados Mínimos Generalizados por meio do procedimento PROC GLM do programa *Statistical Analysis System* (SAS INSTITUTE, 2002) com intuito de verificar a significância dos efeitos não genéticos (efeitos fixos) que afetam a produção de oócitos e embriões. A normalidade dos dados foi analisada pelo teste de Shapiro-Wilk ao nível de 5% de significância.

Foram avaliados os seguintes efeitos fixos:

1. **Efeito de fazenda:** a avaliação de efeito fixo de fazenda engloba todas as variáveis relacionadas ao manejo específico da fazenda.
2. **Idade da doadora:** na avaliação do efeito fixo de idade da doadora, foi considerada a idade da doadora no ano da aspiração, foi caracterizado em oito classes, sendo: classe 1 – doadoras até dois anos, classe 2 – doadoras maiores que dois e até três anos, classe 3 – doadoras maiores que três e até cinco anos, classe 4 – doadoras maiores que cinco e até sete anos, classe 5 – doadoras maiores que sete e até nove anos, classe 6 – doadoras maiores que nove e até onze anos, classe 7 – doadoras maiores que onze e até treze anos, classe 8 – doadoras acima de 13 anos.
3. **Efeito de ano:** para avaliação do efeito fixo de ano foi considerado a produção *in vitro* de oócitos e embriões entre os anos de 2015 a 2018.
4. **Efeito de estação:** para avaliação do efeito fixo de estação do ano foi considerada quatro épocas do ano: época 1 - época chuvosa (sessões de aspiração folicular correspondente aos meses de dezembro a abril), época 2 – época seca (sessões de aspiração folicular correspondente aos meses de maio a setembro) e época 3 – época de transição seca/chuva (sessões de aspiração folicular entre os meses de outubro a novembro).
5. **Tipo de sêmen:** para avaliação do efeito fixo de sêmen foi considerada dois tipos de sêmen sendo: tipo 1 (sêmen sexado) e tipo 2 (sêmen convencional).
6. **Efeito de técnico de seleção de oócitos:** para avaliação do efeito fixo de técnico de seleção de oócitos foi considerado os técnicos que realizaram a seleção dos oócitos entre os anos avaliados.
7. **Efeito individual da doadora e do touro:** os efeitos individuais da doadora foram avaliados em relação à variabilidade genética para produção de oócitos

e embriões viáveis e os efeitos individuais do touro relação à produção de embriões viáveis.

As estimativas dos componentes de variância e herdabilidade foram obtidas pelo método da *Máxima Verossimilhança Restrita* (REML), utilizando o programa MTDFREML – *Multiple Trait Derivative Free Restricted Maximum Likelihood* (BOLDMAN et al., 1995) adotando-se o modelo animal uni-caractere, conforme descrito abaixo:

$$Y_{ij} = \mu + EF_i + \alpha_{ij} + e_{ij} \quad (5)$$

Em que:

$Y_{ij}$  = Média dos parâmetros da produção *in vitro* para cada característica  $i$  analisada;

$\mu$  = Média geral;

$EF_i$  = Efeito dos parâmetros genéticos da produção *in vitro*, formado pela combinação dos efeitos fixos;

$\alpha_{ij}$  = Efeito genético aditivo direto do animal  $j$  pertencente ao grupo contemporâneo  $i$ ;

$e_{ij}$  = Efeito residual;

Os grupos de contemporâneos foram formados de acordo com a combinação dos efeitos fixos significativos, a partir da análise de variância pelo PROC GLM do SAS.

O grupo de contemporâneo para avaliação das variáveis: Número Total de Oócitos ( $NT_{OOC}$ ), Taxa de Clivagem ( $TX_{CLIV}$ ), Porcentagem de Conversão de Oócitos para Embriões ( $PC_{O/E}$ ), Porcentagem de conversão Embriões para Prenhez ( $PC_{E/P}$ ) e Porcentagem de Conversão de Oócitos para Prenhez ( $PC_{O/P}$ ) foram formados pela combinação do efeito fixo de ano, fazenda e classe. E o grupo de contemporâneo para avaliação das variáveis: número total de embriões produzidos ( $NT_{EMB}$ ) e número total de prenhez ( $NT_{PREN}$ ), foram formados pela combinação do efeito fixo de ano, fazenda, classe e sêmen.

Na forma matricial, o modelo empregado para análise dos dados é representado por:

$$y = X\beta + Z\alpha + e \quad (6)$$

Em que:

$y$  = Vetor das observações de cada característica avaliada;

$\beta$  = Vetor de efeitos fixos desconhecidos;

$\alpha$  = Vetor dos efeitos aleatórios de valores genéticos aditivos dos animais desconhecidos;

$e$  = Vetor de efeitos aleatórios ambientais/erros desconhecidos;

$X$  e  $Z$  = As matrizes correspondentes às observações, para efeitos fixos, efeitos aleatórios genéticos aditivos dos animais, respectivamente, para os quais assume:

$$\begin{bmatrix} y \\ \alpha \\ e \end{bmatrix} \sim N \left\{ \begin{bmatrix} X\beta \\ 0 \\ 0 \end{bmatrix}, \begin{bmatrix} ZGZ' + R & ZG & R \\ GZ' & G & \emptyset \\ R & \emptyset & R \end{bmatrix} \right\} \quad (7)$$

Em que:

$G$  = Matriz de variâncias e covariâncias dos efeitos aleatórios do vetor  $\alpha$ ;

$R$  = Matriz de variâncias e covariâncias residuais.

As matrizes  $G$  e  $R$  são descritas como:

$$G = A \emptyset G_0 \quad (8)$$

Em que:

$A$  = Matriz que indica o grau de parentesco entre os indivíduos;

$G_0$  = Matriz de variâncias e covariâncias residuais entre as características que compõem as observações;

$\emptyset$  = Operador produto direto entre as matrizes, e:

$$R = I \emptyset R_0 \quad (9)$$

Em que:

$I$  = Matriz identidade de ordem igual à dimensão linha de  $y$ ;

$R_0$  = Matriz de variâncias e covariâncias residuais entre as características que compõem as observações;

$\emptyset$  = Operador produto direto entre as matrizes.



## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Parâmetros produtivos da produção *in vitro* de embriões

Após análise de consistência dos dados, os resultados para análise dos parâmetros produtivos foram: 1.169 sessões de aspirações foliculares (OPU) oriunda de 559 doadoras de oócitos da raça Nelore, as quais geraram um total de 35.131 oócitos viáveis com média de 30,05 oócitos/aspiração folicular. O número de embriões obtidos a partir destes oócitos foi de 11.477 embriões viáveis, com média de 9,82 de embriões/aspiração folicular por doadora, dos quais 9.063 foram transferidos para receptoras e resultaram em 3.527 prenhez, com média de 3,02 prenhez/aspiração folicular por doadora.

Na tabela 1 estão descritas as médias, os respectivos desvios padrão, valores mínimos e máximos e os percentuais de produção de oócitos de acordo com a qualidade morfológica entre os anos de 2015 a 2018.

Tabela 1 – Médias ( $\bar{X}$ ), desvios padrão (DP), valores mínimos (Min.), valores máximos (Max.) e percentuais (%) de produção de oócitos de acordo com qualidade morfológica.

VARIÁVEL	$\bar{X} \pm DP$	Min. – Max.	(%)
Grau I	1,33 $\pm$ 2,64	0 – 40	4,00
Grau II	3,81 $\pm$ 4,32	0 – 43	12,34
Grau III	18,44 $\pm$ 13,03	0 – 93	61,03
Grau IV	6,47 $\pm$ 5,82	0 – 70	22,63
<b>TOTAL</b>	<b>30,05 <math>\pm</math> 19,81</b>	<b>2 – 145</b>	<b>100</b>

A média geral estimada de produção de oócitos por aspiração folicular e seu respectivo desvio padrão no período estudado foi de 30,05  $\pm$  19,81. Estes resultados foram semelhantes aos obtidos por Loiola et al. (2014), que ao analisarem doadoras da raça Nelore para viabilidade de um programa de PIVE obtiveram média de 30,74 por sessões de aspiração folicular. Valores inferiores foram encontrados por Pontes et al.

(2011), que ao analisarem o desempenho de doadoras Nelore em um centro comercial de PIVE encontraram média de 23,35 por sessão de aspiração folicular. Viana et al. (2012) ao avaliarem produção de oócitos com resultados de quatro empresas de PIVE no Brasil estimaram média de produção de oócitos por aspiração folicular de 19,9 com variação de 15,20 e 24,40. Verifica-se altos valores de desvio padrão na maioria dos estudos com produção de oócitos, sendo indicativo que esta variável recebe influência simultânea de fatores ambientais e não ambientais.

A produção total de oócitos viáveis para grau I foi de 1.554, representando 4%, para grau II a produção total foi de 4.456, representado 12,34%, para grau III a produção total foi de 21,56, representando 61,03% e para grau IV a produção total foi de 7.56, representado 22,63%. Observou-se grande variabilidade na PIVE para produção de oócitos, apesar disto, estes resultados são condizentes com os obtidos na literatura demonstrando que a técnica está consolidada no Acre.

Na tabela 2 estão descritos as médias e os respectivos desvios padrão, valores mínimos, valores máximos e os percentuais de produção de embriões de acordo com o estágio embrionário entre os anos de 2015 a 2018.

Tabela 2 – Médias ( $\bar{X}$ ), desvios padrão (DP), valores mínimos (Min.), valores máximos (Máx.) e porcentagens de embriões produzidos, por aspiração/doadora, de acordo com o seu estágio embrionário: Mórula (MO), Blastocisto inicial (BI), Blastocisto (BL), Blastocisto expandido (BX), Blastocisto em eclosão (BN) e Blastocisto eclodido (BE).

VARIÁVEL	$\bar{X} \pm DP$	Min. – Máx.	(%)
MO	0,40 ± 1,30	0 – 18	4,95
BI	2,07 ± 2,95	0 – 33	21,47
BL	2,38 ± 3,09	0 – 26	24,62
BX	4,81 ± 5,53	0 – 60	47,40
BN	0,16 ± 0,96	0 – 13	1,46
BE	0,01 ± 0,11	0 – 04	0,08
<b>TOTAL</b>	<b>9,82 ± 8,10</b>	<b>1 – 69</b>	<b>100</b>

Observa-se na tabela 2 que a média geral estimada de produção de embriões por aspiração folicular/doadora e seu respectivo desvio padrão foi de  $9,82 \pm 8,10$ . Este resultado é similar aos encontrados por Baruselli et al. (2006), ao avaliar doadoras *Bos indicus* onde observaram média de produções de embriões variáveis de 9,8 na raça Nelore. Da mesma forma, Loiola et al. (2014), em doadoras da raça Nelore, encontraram média de 10,09 por aspiração folicular. Entretanto, divergem dos resultados obtidos por Beltrame et al. (2010) que ao estudar a evolução das biotécnicas de transferência de embriões e fertilização *in vitro*, na raça Nelore no

Brasil, a partir do banco de dados da ABCZ, obtiveram média Nacional para produção de embriões pela técnica de fertilização *in vitro* de 6,9 e para a região Norte a média de 7,6.

As proporções de embriões produzidos de acordo com o estágio de desenvolvimento foram: 462 (4,95%) mórula (MO), 2.416 (21,47%) blastocisto inicial (BI), 2.782 (24,62%) blastocisto (BL), 5.624 (47,40%) blastocisto expandido (BX), 185 (1,46%) blastocisto em eclosão (BN) e 8 (0,08%) blastocisto eclodido (BE). Observa-se predominância de estágio de desenvolvimento embrionário de blastocisto expandido, semelhante aos encontrados na literatura em raças zebuínas e condizentes com a fisiologia do animal.

Fonseca et al. (2001) ao avaliar e o estágio de desenvolvimento de embriões coletados a partir de processos superovulatórios em zebuínos encontraram tendência de embriões em estágio de blastocistos. Os resultados observados para MO, BI, BL, BX e BE foram 3,7; 16,3; 37; 42,2; 0,7%, respectivamente. Da mesma forma, Neto et al. (2000) avaliando o desempenho em doadoras da raça Nelore obtiveram resultados para MO, BI, BL e BX com valor de 20; 41,2; 28,94; 2,69% respectivamente.

Na figura 3 encontram-se as porcentagens de prenhez de acordo com o estágio de desenvolvimento embrionário: mórula, blastocisto inicial, blastocisto, blastocisto expandido, blastocisto em eclosão e blastocisto eclodido.

Considerando os estádios de desenvolvimento do embrião, as porcentagens de prenhez foram: 111 (26,98%) para Mórula (MO), 474 (37,64%) para blastocisto inicial (BI), 601 (37,44%) para blastocisto (BL), 825 (40,39%) para blastocisto expandido (BX), 30 (35,56%) para blastocisto em eclosão (BN) e 5 (76,67%) para blastocisto eclodido (BE) (Figura 3).

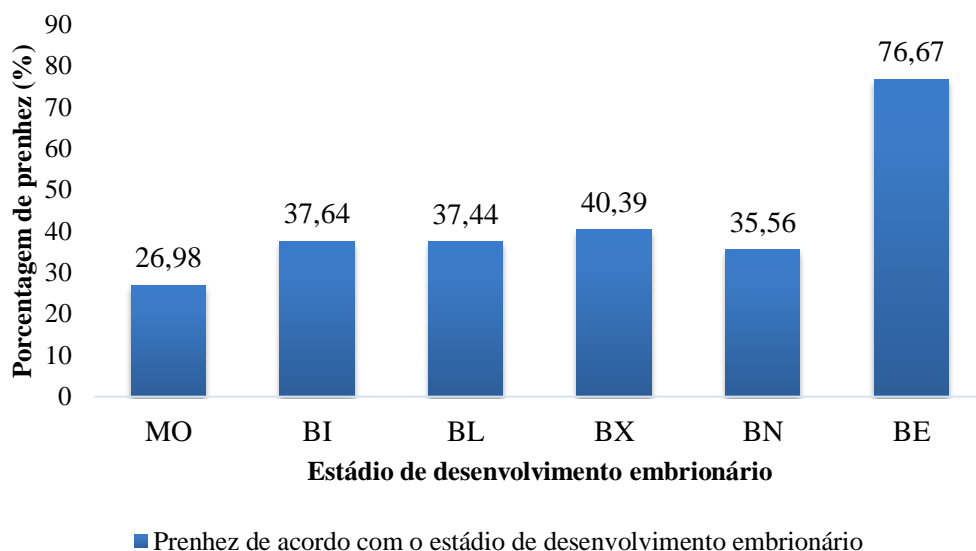


Figura 3 – Porcentagem de prenhez de embriões transferidos de acordo com o estágio de desenvolvimento embrionário: mórula (MO), blastocisto inicial (BI), blastocisto (BL), blastocisto expandido (BX), blastocisto em eclosão (BN) e blastocisto eclodido (BE).

O tipo de desenvolvimento do embrião que apresentou melhor taxa de prenhez foi o BE, com 76,67%, superior ao observado por Scanavez, Campos e Santos (2013) de 47,1%. Segundo Jainudeen et al. (2004) estádios de desenvolvimento muito precoces ou tardios são afetados negativamente e resultam em baixos índices de prenhez. Neste estudo não é possível afirmar que o tipo de desenvolvimento de embrião blastocisto eclodido conduza a uma maior porcentagem de conversão, pois o número de embriões para este estágio foi baixo em comparação com os demais. Logo, este resultado poder ter ocorrido ao acaso.

A porcentagem de prenhez para BI, BL, BX e BN apresentaram índices similares. Entretanto, na literatura há relatos de que as melhores taxas de prenhez são provenientes de embriões em estádios de BL e BX. Neto et al. (2014) quando analisaram taxa de prenhez em receptoras de acordo com o grau de desenvolvimento, observaram resultados para estádios iniciais (MO/BI) de 25% e para estádios avançados (BL/BX) de 57,14%. Da mesma forma, Scanavez, Campos e Santos (2013) obtiveram taxa de prenhez para estádios iniciais (MO/BI), de 50,6% e para estádios avançados (BL/BX) 59,3%.

O estágio de desenvolvimento embrionário que apresentou menor taxa de prenhez foi o embrião mórula. Menor índice de prenhez oriundos do estágio de

embrião MO também foram encontrados por outros autores (NETO et al., 2000; FONSECA et al., 2001; PACHECO et al., 2018). Segundo Pacheco et al. (2018) o estágio de embrião MO se encontra em desenvolvimento precoce quando comparado aos demais e sofre influência negativa conduzindo a menores taxas de prenhez em relação a estádios embrionários avançados.

A média geral estimada de prenhez por aspiração folicular/doadora e seu respectivo desvio padrão foi de  $3,03 \pm 3,63$ , valores obtidos a partir do conjunto de dados. Apesar destes valores serem superiores aos encontrados na literatura, verificase desvio padrão semelhante à média, demonstrando alta variação no êxito da conversão de oócitos em embrião. Desta forma, pode-se inferir que muitos fatores, genéticos e não genéticos influenciam na conversão dos oócitos em embriões. Viana et al. (2010) a partir de resultados com empresas de PIVE obtiveram média de prenhez de 2,7. Também Loiola et al. (2014) encontraram média de 2,7 prenhez por sessão de aspiração folicular.

Na tabela 3 estão descritos as médias e os respectivos desvios padrão, valores mínimos e máximos dos percentuais de Conversão de Oócitos para Embriões e de Embriões para Prenhez, de Oócitos para Prenhez, Taxa de Clivagem e de Descarte. De modo geral, observou-se que os valores de conversão de oócitos para prenhez; de oócitos para embrião e de embrião para prenhez estão próximos aos observados na literatura e apresentam alto valor de desvio padrão, o que resultou em alta oscilação na obtenção dos resultados, provavelmente pela influência de vários fatores ambientais e genéticos.

Tabela 3 – Médias ( $\bar{X}$ ), desvios padrão (DP), valores mínimos (Min.) e máximos (Máx.) para Porcentagem de Conversão de Oócitos/Embriões ( $PC_{O/E}$ ), Porcentagem de Conversão de Embriões/Prenhez ( $PC_{E/P}$ ), Porcentagem de Conversão de Oócitos/Prenhez ( $PC_{O/P}$ ), a Taxa de Clivagem ( $TX_{CLIV}$ ) e Taxa de Descarte ( $TX_{DESC}$ ).

VARIÁVEL	$\bar{X} \pm DP$	Min. – Máx.
$PC_{O/E}$	$34,19 \pm 18,00$	1,9 – 100
$PC_{E/P}$	$38,39 \pm 25,93$	0 – 100
$PC_{O/P}$	$10,68 \pm 11,45$	0 – 100
$TX_{CLIV}$	$66,66 \pm 20,55$	0 – 100
$TX_{DESC}$	$25,28 \pm 36,97$	0 – 100

A  $PC_{O/E}$  obtida neste estudo foi de 34,19 próxima aos valores observados literatura. Loiola et al. (2014), obtiveram taxa de embriões produzidos de 32,85%. Alves et al. (2003), os quais avaliaram a influência do transporte de oócitos na PIVE bovinos, conseguiram taxa de embriões produzidos de 33,3%. Viana et al. (2010) com registros de quatro diferentes centrais comerciais de produção de embriões bovinos *in vitro* no Brasil obteve porcentagens de produção de embriões de 35,4%. Desta forma, verifica-se que os valores observados para esta variável, neste estudo, estão dentro da média nacional, destacando-se o elevado valor do desvio padrão em função do número de fatores que a influenciam.

Foi observada  $PC_{E/P}$  de 38,39, valores próximos aos encontrados por Nogueira et al. (2012), que ao avaliar taxas de prenhez de receptoras de diferentes grupos raciais obteve para a raça Nelore valor próximo a 41,1%. Andrade et al. (2012) trabalhando com animais da raça Nelore e Senepol obteve porcentagens de prenhez, de 39,1% para a raça Nelore e 37,6% para a raça Senepol. Neto et al. (2014) ao estudar Parâmetros que afetam a taxa de prenhez de receptoras bovinas de embriões produzidos *in vitro* em doadoras Nelore obteve taxa em torno de 50% de prenhez. Costa Filho et al. (2013) ao analisar fatores que interferem na eficiência reprodutiva em animais de diferentes grupos genéticos encontraram taxa de prenhez para raça Nelore de 41,1%.

A  $PC_{O/P}$  foi de 10,68 este valor é semelhante ao encontrados em outros trabalhos. Loiola et al. 2014 ao avaliar 123 fêmeas, doadoras de oócitos da raça Nelore, selecionadas com base no mérito genético obteve taxa de Oócitos/Prenhez de 8,78%. Viana et al. (2010) a partir de dados de quatro empresas de PIVE no Brasil com diferentes grupos genéticos de *Bos indicus*, *Bos Taurus* e raças Sintéticas, relatam taxa de Oócitos/Prenhez de 13,6%. Pontes et al. (2011) ao avaliar a produção a PIVE e taxa de prenhez em um programa comercial com 317 doadoras da raça Nelore encontraram taxa de Oócitos/Prenhez de 12,9%.

Os resultados referentes às  $TX_{CLIV}$  no presente estudo foram de 66,66%. É possível encontrar na literatura relatos sobre taxas de clivagem semelhantes, variando de 56 a 70% (ALENCAR COELHO et al., 2002; BARUSELLI et al., 2006; RIBEIRO et al., 2011; LOIOLA et al., 2014; SILVA et al., 2015).

A  $TX_{DESC}$  obtido neste estudo foi elevada, representado 25% da produção total de embriões. Estes descartes ocorreram quando o número de embriões produzidos excedeu ao número de receptoras disponíveis no dia da transferência,

dessa forma, parte dos embriões foram eliminados de forma voluntária pelo produtor ou pelo laboratório.

## 4.2 Parâmetros genéticos: avaliação dos efeitos não genéticos

Para análise dos efeitos não genéticos, considerados como fixos neste estudo, inicialmente procedeu-se análise de variância, por meio do PROC GLM do SAS que realiza o procedimento de quadrados mínimos generalizados. Esta etapa foi importante para definição dos efeitos fixos que compuseram o modelo estatístico utilizado na avaliação genética.

### 4.2.1 Efeito de fazenda

Na tabela 4 estão descritos as médias e os respectivos desvios padrão de Número Total de Oócitos, Número Total de Embriões Clivados, Número Total de Embriões Produzidos e Número Total de Prenhez por Aspiração/Vaca/Fazenda.

Tabela 4 – Número de aspiração folicular ( $N_{AF}$ ), médias ( $\bar{X}$ ) e desvios padrão (DP) de Número Total de Oócitos ( $NT_{OOC}$ ) Número Total de Embriões Clivados ( $NT_{CLIV}$ ), Número Total de Embriões Produzidos ( $NT_{EMB}$ ) e Número Total de Prenhez ( $NT_{PREN}$ ) por aspiração/vaca/fazenda.

FAZENDA	$N_{AF}$	$NT_{OOC}$	$NT_{CLIV}$	$NT_{EMB}$	$NT_{PREN}$
		$\bar{X} \pm DP$	$\bar{X} \pm DP$	$\bar{X} \pm DP$	$\bar{X} \pm DP$
1	93	33,76 ± 21,96	24,90 ± 15,41	10,27 ± 8,65	3,68 ± 3,95
2	141	31,91 ± 20,37	23,77 ± 16,28	9,65 ± 7,68	3,03 ± 3,27
3	30	27,27 ± 18,62	14,43 ± 9,33	8,00 ± 6,54	2,33 ± 2,95
4	258	31,93 ± 19,71	22,66 ± 14,32	11,10 ± 8,77	3,60 ± 4,42
5	90	28,68 ± 17,76	17,63 ± 12,10	9,54 ± 9,02	3,02 ± 3,93
6	300	22,63 ± 16,63	13,62 ± 11,06	6,58 ± 7,01	1,79 ± 2,68
7	249	31,61 ± 21,83	21,51 ± 16,71	9,06 ± 8,56	2,74 ± 3,46
8	14	34,79 ± 16,91	23,08 ± 12,02	10,86 ± 8,81	2,57 ± 3,16
9	80	25,71 ± 18,68	18,99 ± 14,66	7,48 ± 7,60	2,53 ± 3,10
10	36	20,47 ± 14,18	14,73 ± 10,86	6,00 ± 6,46	1,69 ± 2,59
<b>TOTAL</b>	1291	28,83 ± 19,75	19,71 ± 14,67	8,89 ± 8,22	2,76 ± 3,57
PR > F		<0,0001**	<0,0001**	<0,0001**	<0,0001**

\*\* = Diferença significativa a 5% de probabilidade.

Foi observada significância estatística para efeito de fazenda para todas as variáveis avaliadas ( $P < 0,05$ ). As médias para  $NT_{OOC}$  variaram de 20,47 a 33,76; para  $NT_{CLIV}$  houve variação entre 14,73 a 24,90; para  $NT_{EMB}$  foi de seis a 10,27 e para  $NT_{PREN}$  a variação observada foi de 1,69 a 3,68. Desse modo, observa-se alta variação na eficiência de produção de oócitos e embriões entre as fazendas avaliadas. Isto sugere a existência de um conjunto de fatores não identificáveis que ocorreram em cada fazenda que conduziu aos diferentes resultados. Estes fatores podem estar relacionados a qualidade das receptoras, manejo nutricional, manejo sanitário, qualidade do pasto ou do técnico (JUNQUEIRA et al., 2006; MAGAJEVSKI; GÍRIO; MEIRELLES, 2007; HONORATO et al., 2013; MELLO, 2014; MELLO et al., 2016b).

Em relação a  $PC_{O/P}$ , a fazenda que apresentou melhor eficiência foi a fazenda quatro com 11,27%. Esta fazenda realiza intenso processo de seleção dos animais com utilização de touro provados em destaque nos sumários de touros. A fazenda seis e oito foram as fazendas que apresentaram menor eficiência,  $PC_{O/P}$  de 7,90 e 7,38 respectivamente.

No entanto, verifica-se diversos fatores ambientais, inerentes de cada fazenda, que conduziu a maiores e menores taxas de prenhez. Na literatura encontra-se diversos fatores ambientais que podem influenciar nos índices de PIVE como: idade da doadora, ciclo estral, nutrição, escore de condição corporal, sanidade, sazonalidade, a raça, manejo e ambiente (SARTORI; MOLLO, 2007; COSTA FILHO et al., 2013; MELLO et al., 2016b).

#### **4.2.2 Efeito de touro**

Na tabela 5 estão descritos a média geral e os respectivos desvios padrão de Número Total de Embriões clivados, Número Total de Embriões Produzidos e Número Total de Prenhez por aspiração/vaca/touro.



Tabela 5 – Número de aspiração folicular ( $N_{AF}$ ), médias ( $\bar{X}$ ) e desvios padrão (DP) de Número Total de Embriões Clivados ( $NT_{CLIV}$ ), Número Total de Embriões Produzidos ( $NT_{EMB}$ ) e Número Total de Prenhez ( $NT_{PREN}$ ) por aspiração/vaca/touro.

<b>TOUROS</b>	$N_{AF}$	$NT_{CLIV}$	$NT_{EMB}$	$NT_{PREN}$	<b>PR &gt; F</b>
		$\bar{X} \pm DP$	$\bar{X} \pm DP$	$\bar{X} \pm DP$	
70	1291	19,71 $\pm$ 14,67	8,89 $\pm$ 7,85	2,76 $\pm$ 3,57	<0,0001**

\*\* = Diferença significativa a 5% de probabilidade.

Houve efeito significativo para efeito de touro para todas as variáveis avaliadas ( $P < 0,05$ ), indicando que há variabilidade genética e que alguns touros proporcionam melhor eficiência em relação a outros. O efeito de touro também foi encontrado por Mello et al. (2016a) que ao avaliarem este efeito na raça Sindi verificaram que alguns touros apresentam melhor taxa de blastocistos. Watanabe e Oliveira Filho (2000) ao comparar a PIVE bovinos utilizando sêmen de touros de três grupos genéticos, constataram diferença significativa entre touros e entre grupos genéticos nas taxas de clivagem.

De acordo com Coelho et al. (1998) as taxas de desenvolvimento embrionário diferiram entre os reprodutores. Estas diferenças são manifestadas, tanto na capacidade fecundante como na competência de desenvolvimento do embrião. Serafim et al. (2018) ao avaliar a influência do touro doador de sêmen sexado na taxa de formação de blastocistos e resultados de concepção de embriões produzidos *in vitro*, verificaram que no processo de sexagem alguns touros são mais sensíveis e respondem menos que outros.

#### **4.2.3 Efeito de idade da doadora**

Na tabela 6 estão descritos as médias e os respectivos desvios padrão de Número Total de Oócitos, Número Total de Embriões Clivados, Número Total de Embriões Produzidos e Número Total de Prenhez por aspiração/vaca/classe.

Tabela 6 – Número de aspiração folicular ( $N_{AF}$ ), médias ( $\bar{X}$ ) e desvios padrão (DP) do Número Total de Oócitos ( $NT_{OOC}$ ) Número Total de Embriões Clivados ( $NT_{CLIV}$ ), Número Total de Embriões Produzidos ( $NT_{EMB}$ ) e Número Total de Prenhez ( $NT_{PREN}$ ) por aspiração/vaca/classe.

CLASSE	$N_{AF}$	$NT_{OOC}$	$NT_{CLIV}$	$NT_{EMB}$	$NT_{PREN}$
		$\bar{X} \pm DP$	$\bar{X} \pm DP$	$\bar{X} \pm DP$	$\bar{X} \pm DP$
1	163	32,83 ± 21,87	23,70 ± 15,24	10,60 ± 9,59	3,17 ± 4,50
2	103	28,81 ± 22,30	19,92 ± 18,53	8,74 ± 8,22	2,86 ± 3,57
3	183	31,81 ± 19,07	22,03 ± 14,80	9,45 ± 8,27	2,87 ± 3,61
4	273	31,54 ± 19,12	20,69 ± 14,13	10,00 ± 8,92	3,20 ± 3,94
5	223	30,95 ± 19,65	20,60 ± 14,85	10,04 ± 8,12	2,92 ± 3,38
6	170	24,64 ± 19,46	17,10 ± 14,26	6,93 ± 6,99	2,36 ± 2,95
7	114	21,12 ± 14,35	14,32 ± 9,78	6,20 ± 5,44	1,90 ± 2,53
8	62	15,65 ± 11,71	10,63 ± 7,08	4,29 ± 4,40	1,24 ± 1,72
<b>TOTAL</b>	1291	28,83 ± 19,75	19,71 ± 14,67	8,89 ± 8,22	2,76 ± 3,57
PR > F		<0,0001**	<0,0001**	<0,0001**	0,0003**

\*\* = Diferença significativa a 5% de probabilidade.

É possível observar significância estatística para efeito de idade da vaca para todas as variáveis avaliadas ( $P < 0,05$ ). As médias para  $NT_{OOC}$  variaram de 15,65 a 32,83; para  $NT_{CLIV}$  houve variação entre 10,63 a 23,70; para  $NT_{EMB}$  foi de 4,29 a 10,60 e para  $NT_{PREN}$  a variação observada foi de 1,24 a 3,17. Verifica-se que as melhores produções foram das fêmeas mais jovens e ocorrendo diminuição nas categorias das matrizes mais velhas. As vacas de até dois anos, apresentaram melhores produções de oócitos e melhor clivagem, entretanto, os animais entre cinco a sete anos foram os que apresentaram melhor  $PC_{OP}$  com 14% e as vacas acima de 13 anos demonstraram resultados inferiores com 7,92%. Contudo, vacas de até 13 anos demonstram  $PC_{OP}$  relativamente aceitável que variam de nove a 14,14%, somente acima desta idade observou-se maior redução na produção 7,92%. Ressalta-se que a efetividade do melhoramento genético é dependente da utilização de genética atual oriundas de vacas novas de processos seletivos, neste sentido vacas acima de 13 anos possui genética defasada sendo necessária substituição por vacas de melhor potencial genético e com boa produção para PIVE (ROSA, 2013).

Efeito significativo para idade da vaca foi encontrado no trabalho de SU et al. (2012) que ao avaliarem este efeito sobre a competência e desenvolvimento de oócitos em vacas mestiças, encontraram melhores resultados em vacas jovens. Peixoto et al. (2006), ao avaliarem animais zebuínos observaram maior produção de embriões viáveis em doadoras entre sete e oito anos de idade. Da mesma forma,

Mello et al. (2016a) verificaram maior número de oócitos recuperados em doadoras da raça Sindi entre 2 a 6 anos e maior proporção de oócitos viáveis. Essas diferenças entre doadoras mais velhas e mais novas pode estar relacionado aos processos de recrutamento e atresia folicular presentes em cada ciclo estral, sendo que doadoras mais velhas, geralmente apresentam menor reserva folicular devido as alterações no perfil hormonal (NEVES; MARQUES JR, 2008; MELLO et al., 2016a).

#### 4.2.4 Efeito de ano

Na tabela 7 estão descritos as médias e os respectivos desvios padrão de Número Total de Oócitos, Número Total de Embriões Clivados, Número Total de Embriões Produzidos e Número Total de Prenhez por aspiração/vaca/ano.

Tabela 7 – Número de aspiração folicular ( $N_{AF}$ ), médias ( $\bar{X}$ ) e desvios padrão (DP) de Número Total de Oócitos ( $NT_{OOC}$ ) Número Total de Embriões Clivados ( $NT_{CLIV}$ ), Número Total de Embriões Produzidos ( $NT_{EMB}$ ) e Número Total de Prenhez ( $NT_{PREN}$ ) por aspiração/vaca/ano.

ANO	$N_{AF}$	$NT_{OOC}$	$NT_{CLIV}$	$NT_{EMB}$	$NT_{PREN}$
		$\bar{X} \pm DP$	$\bar{X} \pm DP$	$\bar{X} \pm DP$	$\bar{X} \pm DP$
2015	253	31,60 ± 21,32	23,64 ± 15,92	10,12 ± 9,31	3,09 ± 3,77
2016	376	32,22 ± 19,92	22,13 ± 15,04	9,47 ± 8,16	3,18 ± 3,75
2017	606	25,96 ± 18,55	17,35 ± 13,29	8,31 ± 7,90	2,48 ± 3,42
2018	56	24,57 ± 18,65	11,23 ± 12,42	5,77 ± 5,02	1,39 ± 2,03
<b>TOTAL</b>	1291	28,83 ± 19,75	19,71 ± 14,67	8,89 ± 8,22	2,76 ± 3,57
PR > F		<0,0001**	<0,0001**	0,0003**	0,0002**

\*\* = Diferença significativa a 5% de probabilidade.

Houve efeito significativo para efeito de ano para todas as variáveis avaliadas ( $P < 0,05$ ). As médias para  $NT_{OOC}$  variam de 24,57 a 31,60, para  $NT_{CLIV}$  teve variação entre 11,23 a 23,64, para  $NT_{EMB}$  foi de 5,77 a 10,12 e a variação para  $NT_{PREN}$  foi de 1,39 a 3,09. Verifica-se que as melhores produções ocorreram nos anos 2015 e 2016 com decréscimo entre os anos de 2017 e 2018. Entretanto, é difícil estabelecer com clareza quais foram os fatores que ocorreram nestes anos que poderiam explicar a significância deste efeito. Entretanto, o conhecimento deste efeito permite sua inserção nos modelos estatísticos e mensuração de forma mais acurada da herdabilidade.

A temperatura anual máxima média entre os anos de 2015 a 2018 foi de  $32,3 \pm 1,8$ ;  $32,7 \pm 1,5$ ;  $32,3 \pm 1,4$  e  $31,8 \pm 1,4^\circ\text{C}$ , respectivamente, a temperatura anual mínima média de  $22,5 \pm 1,7$ ;  $23,2 \pm 4,3$ ;  $21,9 \pm 1,8$  e  $21,6 \pm 2,1^\circ\text{C}$ , respectivamente, e a precipitação média total anual foi de 167,60; 140,14; 187,04; 187,25 mm. Apesar do ano de 2016 ter sido o período mais seco, mais quente e com maior variação de temperatura, isto não afetou negativamente a PIVE em relação aos anos de 2017 e 2018. Peixoto et al. (2007) analisando efeitos que afetam a taxa de prenhez em 6.806 doadoras zebuínas entre os anos de 1992 a 1999 encontrou efeito de ano para as variáveis estudadas. Estes fatores foram atribuídos principalmente as condições ambientais como: ar, temperatura e umidade.

#### 4.2.5 Efeito de estação do ano

Na tabela 8 estão descritos as médias e os respectivos desvios padrão de Número Total de Oócitos, número total de embriões clivados, número total de embriões produzidos e número total de prenhez por aspiração/vaca/estação.

Tabela 8 – Número de aspiração folicular ( $N_{AF}$ ), médias ( $\bar{X}$ ) e desvios padrão (DP) de número total de oócitos ( $NT_{OOC}$ ) número total de embriões clivados ( $NT_{CLIV}$ ), número total de embriões produzidos ( $NT_{EMB}$ ) e número total de prenhez ( $NT_{PREN}$ ) por aspiração/vaca/estação.

ÉPOCA	$N_{AF}$	$NT_{OOC}$	$NT_{CLIV}$	$NT_{EMB}$	$NT_{PREN}$
		$\bar{X} \pm DP$	$\bar{X} \pm DP$	$\bar{X} \pm DP$	$\bar{X} \pm DP$
1	314	$29,39 \pm 19,79$	$18,47 \pm 15,17$	$8,01 \pm 7,76$	$2,15 \pm 2,93$
2	732	$27,98 \pm 19,41$	$19,41 \pm 13,87$	$9,20 \pm 8,48$	$2,97 \pm 3,82$
3	245	$30,65 \pm 20,60$	$22,05 \pm 16,10$	$9,10 \pm 7,96$	$2,89 \pm 3,46$
<b>TOTAL</b>	1291	$28,83 \pm 19,75$	$19,71 \pm 14,67$	$8,89 \pm 8,22$	$2,76 \pm 3,57$
PR > F		0,1575 <sup>NS</sup>	0,0245**	0,0916 <sup>NS</sup>	0,0024**

\*\* = Diferença significativa a 5% de probabilidade; NS = Diferença não significativa a 5% de probabilidade.

As médias para  $NT_{OOC}$  variaram de 27,98 a 30,65, para  $NT_{CLIV}$  observou-se variação entre 18,47 a 22,05, para  $NT_{EMB}$  de 8,01 a 9,20 e para  $NT_{PREN}$  de 2,15 a 2,89. A variação observada nas estações, refletiu significativamente no  $NT_{CLIV}$  e  $NT_{PREN}$  ( $P < 0,05$ ) no decorrer do ano.

A época de transição seca/chuva resultou em melhor média de oócitos viáveis e melhor clivagem, entretanto, a época que apresentou melhor produção de prenhezes

e melhor  $PC_{O/P}$  foi a época seca com média de 2,97 e taxa de 10,61%. A época que apresentou menor eficiência na PIVE foi a época chuvosa. Uma possível explicação para este resultado é que o efeito significativo obtido para a variável prenhez está relacionado também à categoria da receptora que é muito afetado pelas condições de ambiente.

Não houve efeito significativo para a estação do ano para as variáveis  $NT_{OOC}$  e  $NT_{EMB}$  ( $P > 0,05$ ), a época do ano não influenciou os resultados. Contudo, ao escolher a época da aspiração folicular deve-se considerar a época mais favorável à conversão de oócitos em prenhezes.

Na literatura há relatos de significância para o efeito de estação do ano. Gama Filho et al. (2007) constataram efeito sazonal em novilhas da raça Guzerá, o estresse severo e moderado influenciou na qualidade dos oócitos e na capacidade de desenvolvimento dos embriões. Da mesma forma, Peixoto et al. (2007) avaliando efeitos na taxa de prenhez de doadoras zebuínas, obtiveram efeito significativo para estação de ano, onde a estação do outono conduziu a melhores taxas de prenhezes, em relação as outras estações de verão, inverno e primavera.

Neves et al. (2016) ao avaliar influências climatológicas com as variáveis reprodutivas de vacas Nelore, constatou correlação entre a estação do ano e a taxa de PIVE, onde o período mais quente a taxa de embriões produzidos foi menor.

#### **4.2.6 Efeito do tipo de sêmen**

Na tabela 9 estão descritos as médias e os respectivos desvios padrão de Número Total de Embriões Clivados, Número Total de Embriões Produzidos e Número Total de Prenhez por aspiração/vaca de acordo com o tipo de sêmen sexado ou convencional.

Tabela 9 – Número de aspiração folicular ( $N_{AF}$ ), médias ( $\bar{X}$ ) e desvios padrão (DP) de Número Total de Embriões Clivados ( $NT_{CLIV}$ ), Número Total de Embriões Produzidos ( $NT_{EMB}$ ) e Número Total de Prenhez ( $NT_{PREN}$ ) por aspiração/vaca/sêmen.

<b>SÊMEN</b>	<b><math>N_{AF}</math></b>	<b><math>NT_{CLIV}</math></b>	<b><math>NT_{EMB}</math></b>	<b><math>NT_{PREN}</math></b>
		<b><math>\bar{X} \pm DP</math></b>	<b><math>\bar{X} \pm DP</math></b>	<b><math>\bar{X} \pm DP</math></b>
SEXADO	230	13,82 ± 12,32	6,56 ± 6,81	1,86 ± 2,63
CONVENCIONAL	1054	20,88 ± 14,79	9,35 ± 8,38	2,95 ± 3,72
<b>TOTAL</b>	1284	19,64 ± 14,63	8,85 ± 8,19	2,75 ± 3,57
PR > F		<0,0001**	<0,0001**	<0,0001**

\*\* = Diferença significativa a 5% de probabilidade.

Houve efeito significativo para tipo de sêmen para todas as variáveis avaliadas ( $P < 0,05$ ), evidenciando melhor eficiência do sêmen convencional com média de 20,88 em relação ao sêmen sexado com média de 13,82. A utilização do sêmen convencional aumenta aproximadamente 59% de produção de prenhez em relação ao sêmen sexado. A diferença entre o sêmen sexado e sêmen convencional pode estar relacionado ao processo de sexagem, no qual os espermatozoides são expostos a estresse químicos e físicos diminuindo a sua capacidade de fertilização (ARAÚJO; VOLPAPO; LOPES; 2013).

O efeito do tipo de sêmen também foi observado também por Nascimento et al. (2015) que ao comparar sêmen sexado e convencional, verificaram que os resultados diferiram entre os tipos de sêmen para produção de blastocisto com taxa de 31,06% para sêmen convencional e 21,10% para sêmen sexado. Da mesma forma, Mello et al. (2016a) encontrou efeito de tipo de sêmen para as taxas de clivagem e blastocistos. O sêmen convencional conduziu a melhores resultados com taxa de clivagem e blastocisto de 58,89; 76,42% e sêmen sexado de 27,50; 23,13, respectivamente.

Blondin et al. (2009) ao avaliar os parâmetros do sêmen bovino e determinar as melhores condições de FIV para produzir porcentagem máxima de blastocistos. Verificaram efeito significativo para efeito de sêmen nas taxas de blastocistos. O sêmen convencional conduziu a maiores taxas de blastocistos (22,2%) em relação ao sêmen sexado (10,6%).

Dados que divergem dos resultados deste estudo foram obtidos por Loiola et al. (2014) que ao analisar efeito de tipo de sêmen encontrou efeito não significativo para número de oócitos clivados e taxas de prenhez e efeito significativo para produção de embriões, onde o sêmen sexado favoreceu a produção de embriões em relação ao sêmen convencional com taxa de 47,76% para sêmen sexado e 38,11% para sêmen convencional.

#### 4.2.7 Efeito de técnico para seleção de oócitos e fertilização *in vitro*

Na tabela 10 estão descritos as médias e os respectivos desvios padrão de Número Total de Oócitos, Número Total de Embriões Clivados, Número Total de Embriões Produzidos e Número Total de Prenhez por aspiração/vaca para seleção de oócitos.

Tabela 10 – Número de aspiração folicular ( $N_{AF}$ ), médias ( $\bar{X}$ ) e desvios padrão (DP) de número total de oócitos ( $NT_{OOC}$ ) Número Total de Embriões Clivados ( $NT_{CLIV}$ ), Número Total de Embriões Produzidos ( $NT_{EMB}$ ) e Número Total de Prenhez ( $NT_{PREN}$ ) por aspiração/vaca para seleção de oócitos.

TÉCNICO	$N_{AF}$	$NT_{OOC}$	$NT_{CLIV}$	$NT_{EMB}$	$NT_{PREN}$
		$\bar{X} \pm DP$	$\bar{X} \pm DP$	$\bar{X} \pm DP$	$\bar{X} \pm DP$
A	347	30,47 ± 21,25	23,05 ± 16,40	9,40 ± 8,67	2,99 ± 3,54
B	510	28,15 ± 19,70	19,20 ± 13,96	8,99 ± 8,29	2,67 ± 3,67
C	111	27,93 ± 18,94	16,99 ± 12,46	8,10 ± 7,16	2,14 ± 2,71
D	64	29,08 ± 18,95	17,92 ± 11,44	9,84 ± 8,24	3,11 ± 4,08
<b>TOTAL</b>	1032	28,96 ± 20,11	20,24 ± 14,73	9,09 ± 8,31	2,75 ± 3,57
PR > F		0,3825 <sup>NS</sup>	0,0004 <sup>**</sup>	0,4457 <sup>NS</sup>	0,1256 <sup>NS</sup>

\*\* = Diferença significativa a 5% de probabilidade; NS = Diferença não significativa a 5% de probabilidade.

Observa-se efeito não significativo para as variáveis,  $NT_{OOC}$ ,  $NT_{EMB}$  e  $NT_{PREN}$  ( $p > 0,05$ ) e efeito significativo para  $NT_{CLIV}$  ( $p < 0,05$ ). Apesar da diferença no número total de clivagem entre os técnicos este fato pode ter ocorrido meramente ao acaso.

Foi realizada também análise de variância para verificação do efeito do técnico no processo de fertilização *in vitro*. Não houve efeito significativo para efeito de técnico de fertilização *in vitro* para todas as variáveis avaliadas ( $P > 0,05$ ).

Segundo Varago et al. (2008) a viabilidade econômica da técnica está relacionada a eficiência dos laboratórios em produzir embriões de qualidade que

conduza a bons índices de prenhez. De modo geral, principais pesquisas que visam melhorias nos resultados da PIVE, destacam-se aspectos relacionados aos gametas e embriões, utilização da ultrassonografia, desenvolvimento de meios e cultivos e fatores genéticos e ambientais (PEIXOTO et al., 2004; VARAGO et al., 2008; MERTON et al., 2009a; MERTON et al., 2009b; SIQUEIRA et al., 2012; CAVALIERI et al., 2015; PEREZ et al., 2015; MELLO et al., 2016a).

### **4.3 Parâmetros genéticos: componentes de variância e herdabilidade**

Após análise dos efeitos fixos procedeu-se a construção do modelo estatístico adequado para avaliação genética com objetivo de obtenção dos parâmetros genéticos como os valores genéticos, os componentes de variância, as herdabilidades e as correlações genéticas. Nesta etapa utilizou-se, para estimação dos componentes de variância, o método REML (*Restricted Maximum Likelihood*) e para obtenção do BLUP (*Best linear Unbiased Predictor*) ambas as metodologias foram realizadas por meio do programa MTDFREML (*Multiple Trait Derivative Free REML*) (HENDERSON 1963).

#### **4.3.1 Efeitos genéticos da doadora**

Na tabela 11, são mostrados os componentes de variância e estimativas de herdabilidade para as características relacionadas a produção de oócitos e embriões.



Tabela 11 – Estimativas de Variância Genética Aditiva ( $\sigma_a^2$ ), Variância Ambiental ( $\sigma_e^2$ ), Variância Fenotípica ( $\sigma_p^2$ ) e Herdabilidade ( $h^2$ ) para as características de Número Total de Oócitos (NT<sub>OOC</sub>), Número Total de Embriões Produzidos (NT<sub>EMB</sub>), Número Total de Prenhez (NT<sub>PREN</sub>), Taxa de Clivagem (TX<sub>CLIV</sub>), Porcentagem de Conversão de Oócitos para Embriões (PC<sub>O/E</sub>), Porcentagem de Conversão de Embriões para Prenhez (PC<sub>E/P</sub>) e Porcentagem de Conversão de Oócitos para Prenhez (PC<sub>O/P</sub>).

VARIÁVEL	$\sigma_a^2$	$\sigma_e^2$	$\sigma_p^2$	$h^2$
NT <sub>OOC</sub>	0,06	0,10	0,17	0,38
NT <sub>EMB</sub>	0,06	0,10	0,16	0,34
NT <sub>PREN</sub>	0,03	0,10	0,13	0,24
TX <sub>CLIV</sub>	15,19	349,34	364,53	0,04
PC <sub>O/E</sub>	68,54	375,63	444,17	0,15
PC <sub>E/P</sub>	13,05	83,83	96,88	0,13
PC <sub>O/P</sub>	22,42	454,16	476,58	0,05

As estimativas de herdabilidade para NT<sub>OOC</sub>, NT<sub>EMB</sub>, NT<sub>PREN</sub>, TX<sub>CLIV</sub>, PC<sub>O/E</sub>, PC<sub>E/P</sub> e PC<sub>O/P</sub> foram 0,38; 0,34; 0,24; 0,04; 0,05; 0,15; 0,13, respectivamente. Observa-se que os valores de variância ambiental foram superiores as de variância genotípicas, indicando que os efeitos aleatórios não genéticos tiveram maior influência na variação fenotípica para a produção *in vitro* de oócitos e embriões.

Os resultados encontrados neste estudo para as características de NT<sub>OOC</sub>, NT<sub>EMB</sub>, NT<sub>PREN</sub> Número e os percentuais de PC<sub>O/E</sub> e PC<sub>E/P</sub> apresentam herdabilidade baixa a moderada e sugerem a existência de variação genética aditiva para seleção de doadoras para estas características. Peixoto et al. (2004), ao avaliar fatores genéticos que afetam a resposta superovulatória em doadoras da raça Nelore em um programa MOET, estimou herdabilidade para embriões viáveis que variaram de 0,20 a 0,65.

As estimativas de herdabilidade obtidas neste estudo foram semelhantes aos encontrados por alguns autores. Em estudo conduzido por Perez et al. (2015) encontrou valores de herdabilidade para raça Guzerá de 0,08 a 0,23 para número de oócitos, 0,17 para número de embriões clivados e 0,15 para número de embriões produzidos. Merton et al. (2009) obtiveram estimativa de herdabilidade variando de 0,09 a 0,25 para número de oócitos, 0,21 para número de embriões clivados e 0,07 para número de embriões em vacas Holandesas.

As estimativas de herdabilidade para Número Total de Embriões em programas de PIVE e MOET variam de 0,03 a 0,26 (PEARSON et al., 1996;

TONHATI et al.; 1999; BENYEI et al, 2004; PEIXOTO et al.; 2004; KONIG et al., 2007; MERTON et al., 2009b).

Os resultados relacionados à  $TX_{CLIV}$  e  $PC_{O/P}$  indicam que a variação genética aditiva é praticamente inexistente e as melhorias estão relacionadas principalmente as condições ambientais da técnica de PIVE. Merton et al. (2009a) estimou herdabilidade para taxa de clivagem com valor de 0,07, com magnitude baixa, indicando pouca variabilidade genética para esta característica.

#### 4.4 Correlações fenotípicas e genéticas na produção *in vitro* de embriões

Na tabela 12 estão descritos os resultados de estimativa de correlações fenotípicas e genéticas pelo método de Pearson para as características de Número Total de Oócitos, Número Total de Embriões e Número Total de prenhez.

Tabela 12 – Correlações fenotípicas (acima da diagonal) e genéticas (abaixo da diagonal) entre as características de Número Total de Oócitos ( $NT_{OOC}$ ), Número Total de Embriões Produzidos ( $NT_{EMB}$ ) e Número Total de Prenhez ( $NT_{PREN}$ ).

	$NT_{OOC}$	$NT_{EMB}$	$NT_{PREN}$
$NT_{OOC}$	1	0,71**	0,50**
$NT_{EMB}$	0,91**	1	0,70**
$NT_{PREN}$	0,65**	0,71**	1
$N_{AF}$	<b>1291</b>	<b>1291</b>	<b>1291</b>

\*\* = Diferença significativa a 5% de probabilidade.

De modo geral, podem ser observadas correlações fenotípicas e genéticas são positivas e significativas entre  $NT_{OOC}$ ,  $NT_{EMB}$  e  $NT_{PREN}$ .

A correlação fenotípica entre  $NT_{OOC}$  e  $NT_{EMB}$  foi de 0,71, indicando que a porcentagem de embriões produzidos é positivamente correlacionada com a quantidade e qualidade de oócitos recuperados, demonstrando a importância do processo de aspiração folicular. Merton et al. (2009b), obteve correlação fenotípicas para essas características com valor de 0,48, sendo positiva e moderada.

Em relação a correlação fenotípica entre  $NT_{OOC}$  e  $NT_{PREN}$  esta foi positiva e significativa com valor de 0,50 e a correlação fenotípica entre  $NT_{EMB}$  e  $NT_{PREN}$  foi de 0,70 e também apresenta correlação positiva e de alta magnitude. Portanto, é possível inferir que o êxito na PIVE e na produção de prenhez está diretamente relacionado à qualidade e quantidade de oócitos aspirados e embriões produzidos.

De acordo com Peixoto et al. (2002) ao avaliar correlações fenotípicas pelo método de Pearson em doadoras Nelore de diferentes regiões do Brasil, encontraram as seguintes correlações: 0,72 entre o total de estruturas recuperadas e o número de embriões viáveis; 0,66 entre estruturas recuperadas e o total de prenhez positivas e 0,89 entre número de embriões viáveis e total de prenhez positivas.

Em geral, as correlações genéticas estão de acordo com as correlações fenotípicas. A correlação genética entre  $NT_{OOC}$  e  $NT_{EMB}$  foi positiva e de alta magnitude com valor de 0,90. Perez et al. (2015) ao avaliar aspectos genéticos de doadoras da raça Guzerá em três regiões brasileiras obtiveram correlação entre número de oócitos viáveis e número de embriões viáveis de 0,68, sugerindo que a seleção para número de oócitos pode aumentar o total de embriões produzidos.

Para a correlação genética entre  $NT_{OOC}$  e  $NT_{PREN}$  foi positiva e significativa com valor de 0,65, indicando importante associação entre a qualidade do oócito e o sucesso da PIVE. E a correlação genética entre  $NT_{EMB}$  e  $NT_{PREN}$  foi de 0,71, sendo positiva e de alta magnitude.

A consequência da correlação genética, do ponto de vista de melhoramento genético, é que se duas características economicamente importantes mostram uma correlação altamente positiva, a ênfase na seleção deverá ser apenas nas características de maior facilidade e tempo de medição, reduzindo, desse modo, a complexidade do processo seletivo. (PEREIRA, 1999). De modo geral, as correlações genéticas ocorrem devido ao fenômeno conhecido por pleiotropismo, onde duas ou mais características são influenciadas por um ou mais genes em comum. A partir das correlações obtidas neste estudo pode-se inferir que há mecanismos genéticos e/ou ambientais que influenciam simultaneamente na produção de oócitos, número de embriões e no total de prenhez obtidas.

## 5 CONCLUSÃO

A eficiência no processo de produção de oócitos, embriões e número total de prenhez, obtidos no Acre, estão de acordo com os índices observados em nível nacional.

Os efeitos não genéticos na produção de oócitos/embriões/prenhez devem ser considerados nos modelos de avaliação genética para estas características. Dessa forma, a elaboração de um processo agropecuário contendo protocolo para melhoria das condições ambientais pode elevar os índices de produção *in vitro* de embriões.

As estimativas de herdabilidade encontradas neste estudo, apesar de serem de magnitudes baixas a moderadas, indicam que existe variabilidade genética aditiva para seleção de doadoras com melhor potencial genético para produção de oócitos/embriões/prenhez.

As correlações fenotípicas e genotípicas foram positivas, significativas e de alta magnitude, sugerindo que a seleção para aumento na produção de oócitos conduz ao aumento na produção de embriões e de prenhez.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABCZ, **Pesquisa Quantitativa Zebu**. 2018. Disponível em: <<http://www.zebu.org.br/PesquisaQuantitativa>> Acesso em: 30 de dezembro de 2018.
- ALENCAR COELHO, L.; ESPER, C. R.; GARCIA, J. M.; VANTINI, R.; SILVA FILHO; I. R.; ALMEIDA JR, I. L. Avaliação das condições de maturação oocitária e do efeito do reprodutor na produção *in vitro* de embriões bovinos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 35, n. 3, p. 120-122, 1998.
- ALENCAR, M. M.; BARBOSA, P. F. Melhoramento Genético de Gado de Corte no Brasil. **Boletim Embrapa Pecuária Sudeste**, 2009.
- ALENCAR, M. M. Critérios de seleção em bovinos de corte. **Embrapa Pecuária Sudeste-Outras publicações científicas (ALICE)**, 2010.
- ALVES, R. G. O.; SILVA, L. O. C.; EUCLIDES FILHO, K.; FIGUEREDO, G. R. Disseminação do melhoramento genético em bovinos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.28, n. 6, p.1219-1225, 1999.
- ALVES, D. F.; RAUBER, L. P.; RUBIN, F.B.; BERNARDI, M. L.; DEZEN, D.; SILVA, C. A. M.; RUBIN, M. A. M. Desenvolvimento embrionário *in vitro* de oócitos bovinos mantidos em líquido folicular ou TCM-hepes. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.40, n.4, p.279-286, 2003.
- ALMEIDA, A. P.; SOUZA, A. L.; MENEZES, E. S. B.; ARRUDA, I. J.; RONDINA, D. Recentes avanços na relação entre nutrição e reprodução em ruminantes. **Revista Brasileira de Nutrição Animal**, v. 1, n. 2, p. 34-65, 2007.
- ANDRADE, G. A.; FERNANDES, M. A.; KNYCHALA, R. M.; PEREIRA JUNIOR, M. V.; OLIVEIRA, A. J. NUNES, D. P.; BONATO, G. L.; SANTOS, R. M. Fatores que afetam a taxa de prenhez de receptoras de embriões bovinos produzidos *in vitro*. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 36, n. 1, p. 66-69, jan./mar. 2012.
- ARAÚJO, M. S.; VOLPATO, R.; LOPES, M. D. Produção de embriões bovinos *in vitro* com sêmen sexado. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, v.11, n.3, p.8-15, 2013.
- ARTMANN, T. A.; TOMA, H. S.; PINHEIRO, J. N.; ROMERO, J.; CARVALHO, A.; MONTEIRO TOMA, C. Eficiência produtiva Brasileira e sua associação ao melhoramento genético animal. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 22, n. 1, jan. 2014.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS EXPORTADORAS DE CARNES. Perfil da pecuária no Brasil. **Relatório anual 2016**, p. 1-46, São Paulo, 2016.

- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS EXPORTADORAS DE CARNES. Perfil da pecuária no Brasil. **Relatório anual 2018**, p. 1-48, São Paulo, 2018.
- AZEVEDO, M.; PIRES, M. F. A.; SATURNINO, H. M.; LANA, A. M. Q.; SAMPAIO, I. B. M.; MONTEIRO, H.; MORATO, L.E. Estimativa de níveis críticos superiores do índice de temperatura e umidade para vacas leiteiras 1/2, 3/4 e 7/8 Holandês-Zebu em lactação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 2005.
- BARBOSA, R. T.; MACHADO, R. Panorama da inseminação artificial em bovinos. **Embrapa Pecuária Sudeste-Documentos (INFOTECA-E)**, 2008.
- 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**, v. 14, n. 1, p. 81-90, jan./mar. 2013.
- BARBOSA, F.A.; FILHO, B. S. S.; MERRY, F. D.; AZEVEDO, H. O.; COSTA, W. L. S.; COE, M. T.; BATISTA, E. L. S.; MACIEL, T. G.; SHEEPERS, L. C.; OLIVEIRA, A. R.; RODRIGUES, H. O. **Cenários para a pecuária de corte na Amazônia**. 1 ed. Belo Horizonte: ed. IGC/UFGM, 2015. 146p.
- BARUSELLI, P. S.; et al. Impacto da IATF na eficiência reprodutiva em bovinos de corte. Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada, 2006, Londrina. **Biotecnologia da Reprodução em Bovinos**, 2006. p. 113-132.
- BARUSELLI, P. S.; SÁ FILHO, M. F.; MARTINS, C. M.; NASSER, L. F.; NOGUEIRA, M. F. G.; BARROS, C. M. BÓ, G. A. Superovulation and embryo transfer in *Bos indicus* cattle. **Theriogenology**, v.65, n.1, p.77-88, 2006.
- BARUSELLI, P. S.; SOUZA, A. H.; MARTINS, C. M.; GIMENES, L. U.; SALES, J. N. S.; AYRES, H. ANDRADE, A. F. C.; RAPHAEL, C. F.; ARRUDA, R. P. Sêmen sexado: inseminação artificial e transferência de embriões. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.31, n.3 p.374-381, jul./set. 2007.
- BELTRAME, R. T.; QUIRINO, C. R.; BARIONI, L. G. Estudo da evolução das biotécnicas de transferência de embriões e fertilização *in vitro* na raça Nelore no Brasil. **Embrapa Informática Agropecuária-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2010.
- BENYEI, B. et al. Repeatability and heritability of ovulation number and embryos in dam- daughters pairs in superovulated holstein-friesian cows. **Reproduction in domestic animals**, v.39, n.2, p.99-102, 2004.
- BERTOLINI, M.; BERTOLINI, L. R. Advances in reproductive technologies in cattle: from artificial insemination to cloning. **Revista de la Facultad de Medicina Veterinária y de Zootecnia**, v.56, n. III, p.184-194, 2009.
- BLONDIN, P.; BEAULIEU, M.; FOURNIER, V. MORIN, N. CRAWFORD, L. MADAN, P.; KING, W. A. Analysis of bovine sexed sperm for IVF from sorting to the embryo. **Theriogenology**, v. 71, n. 1, p. 30-38, 2009.
- BOLDMAN, K., KRIESE, L., VAN VLECK, L.D. et al. **A set of program to obtain estimates of variances and covariances: a manual for use of MTDRENL**. Lincoln: USDA/Agricultural Research Service, 1995. 115p.
- BOLS, P. E. J. Transvaginal ovum pick-up in the cow: technical and biological modifications. 1997. Thesis (PhD) – Faculty of Veterinary Medicine, University of Ghent, Belgium, 1997.
- BITENCOURT, M. B.; DIAS, S. A.; SILVA, F. G. A Inserção da pecuária bovina de corte no Acre e sua participação no PIB Do Agronegócio Brasileiro No Período De 1998 A 2007. 2008.

- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2018b. **Sumário Executivo**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/politica-agricola/todas-publicacoes-de-politica-agricola/sumarios-executivos-de-produtos-agricolas/complexo-carnes.pdf>> Acesso em: 09 de março de 2019.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Dados de rebanho bovino e bubalino no Brasil**. 2018a. Disponível em: <[http://www.agricultura.gov.br/assuntos/saude-animal-e-vegetal/saude-animal/programas-de-saude-animal/febre-aftosa/documentos-febre-aftosa/DadosderebanhobovinoebubalinodoBrasil\\_2017.pdf](http://www.agricultura.gov.br/assuntos/saude-animal-e-vegetal/saude-animal/programas-de-saude-animal/febre-aftosa/documentos-febre-aftosa/DadosderebanhobovinoebubalinodoBrasil_2017.pdf)> Acesso em: 30 de dezembro de 2018.
- BRUM, D. S.; LEIVAS, F. G.; BERNARDI, M. L.; MOZZAQUOTRO, F. D.; SILVA, C. A. M.; RUBIN, M. I. B. Cultivo de embriões bovinos produzidos *in vitro*: efeito do número de embriões e da proporção de meio. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 43, n. 2, p. 145-151, 2006.
- CAMPOS, A. M.; LEÃO, K. M.; CABRAL, J. F.; CARVALHO, T. S.; BRASIL, R. B.; GARCIA, J. C. Índices zootécnicos da fase de cria de uma propriedade de gado de corte altamente tecnificada. **Revista Tropica: Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 7, n. 1, 2013.
- CARVALHO, J. O.; SARTORI, R.; MACHADO, G. M.; MOURÃO, G. B.; DODE, M. A. Quality assessment of bovine cryopreserved sperm after sexing by flow cytometry and their use in *in vitro* embryo production. **Theriogenology**, v.74, p.1521–1530, 2010.
- CARVALHO, T. B.; ZEN, S. D. A cadeia de Pecuária de Corte no Brasil: evolução e tendências. **Revista iPecege**, v. 3, n.1, p. 85-99, 2017.
- CAVALIERI, F. L. B.; ANDREAZZI, M. A.; COLOMBO, A. H. B.; EMANUELLI, D. A. B.; MORESKI, D. A. B.; SILVA, W. M. Estudo sobre o cultivo *in vitro* de embriões bovinos durante o transporte. **Arquivos de Veterinária**, Jaboticabal, SP, v.31, n.1, 007-011, 2015.
- COELHO, L. A.; ESPER, C. R.; GARCIA, J. M.; VANTINI, R.; SILVA FILHO, I. R.; ALMEIDA JUNIOR, I. L. Avaliação das condições de maturação oocitária e do efeito do reprodutor na produção *in vitro* de embriões bovinos. **Brazilian Journal of Veterinary Research Animal Science**, São Paulo, v. 35, n. 3, p. 120-122, 1998.
- COELHO, L. A.; ESPER, C. R.; ALVAREZ, R. H.; VANTINI, R. ALMEIDA JUNIOR, I. L. Produção *in vitro* de embriões bovinos: utilização de diferentes fontes de gonadotrofinas na maturação dos oócitos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, p.1117-1121, 2002.
- CORRÊA, E. S.; ANDRADE, P.; EUCLIDES FILHO, K.; ALVES, R. G. O. Avaliação de um sistema de produção de gado de corte. 1. Desempenho reprodutivo. **Revista Brasileira de Zootecnia=Brazilian Journal of Animal Science**, p. 2209-2215, 2000.
- COSTA FILHO, L. C. C.; QUEIROZ, V. L.D.; ROSA, L.S.; ZÚCCARI, C. E. S. N.; COSTA e SILVA, E. V. Fatores que interferem na eficiência reprodutiva de receptoras de embrião bovino. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v.16, n.2, 2014.
- COUTINHO, L. L.; ROSÁRIO, M. F.; JORGE, E. C. Biotecnologia animal. **Estudos Avançados**, v.24, n.70, p.123-147, 2010.

- DEL FAVA, C.; PITUCO, E. M.; GENOVEZ, M. E. Diagnóstico diferencial de doenças da reprodução em bovinos: experiência do Instituto Biológico. **Biológico, São Paulo**, v. 69, n. 2, p. 73-79, 2007.
- DINIZ, J. V.; OCHOA, J. C.; MONTOYA, L. M.; SATRAPA, R.; OKUDA, L. H.; PITUCO, E. M.; MARCELINO, R. R.; OBA, E. Immune-serological identification of infectious agents with influence on bovine embryo transfer in the north of Brazil. **Austral Journal of Veterinary Sciences**, v. 48, n. 2, p. 145-152, 2016.
- DODE, M. A. N.; RODOVALHO, N. C.; UENO, V. G.; ALVES, R. G. O. Efeito do tamanho do folículo na maturação nuclear e citoplasmática de ovócitos de fêmeas zebuínas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 1, p. 207-214, jan. 2000.
- DODE, M. A. N.; LEME, L. O.; SPRÍCIO, J. F. W. Criopreservação de embriões bovinos produzidos *in vitro*. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.37, n.2, p.145-150, abr./jun. 2013.
- DIAS, J. C.; RAMOS, A. F.; ANDRADE, V. J.; EMERICK, L. L.; MARTINS, J. A. M.; SOUZA, F. A. Alguns aspectos da interação nutrição-reprodução em bovinos: energia, proteína, minerais e vitaminas. **PUBVET**, v. 4, p. Art. 738-743, 2010.
- DUARTE JÚNIOR, M. F.; ZERVOUDAKIS, L. K. H.; ZERVOUDAKIS, J. T.; KOCHECK, J. F. W.; FIORAVANTI FILHO, R. S.; FREITAS, L. C. Aspectos relacionados à fisiologia do anestro pós-parto em bovinos. **Colloquium Agrariae**, v.9, n.2, jul./dez. 2013, p.43-71.
- EUCLIDES FILHO, K. E. Evolução do melhoramento genético de bovinos de corte no Brasil. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 56, n. 5, p. 620-626, set./out. 2009.
- EUCLIDES FILHO, Kepler. Evolução do melhoramento genético de bovinos de corte no Brasil. **Ceres**, v.56, n.5, 2015.
- FALCONER, D. S.; MACKAY, T.F.C. **Introduction to quantitative genetics**. 4 ed. New York: Longman Scientific and Technical, 464p., 1996.
- FERNANDES, C. E.; DODE, M. A. N.; GODOY, K.; RODOVALHO, N. Efeito estacional sobre características ovarianas e produção de oócitos em vacas *Bos indicus* no Mato Grosso do Sul. **Brazilian Journal of Veterinary Research Animal Science**, São Paulo, v. 38, n. 3, p. 131-135, 2001.
- FERRAZ, J. B. S.; FELÍCIO, P. E. Production systems—An example from Brazil. **Meat science**, v. 84, n. 2, p. 238-243, 2010.
- FONSECA, J. F.; SILVA FILHO, J. M.; PINTO NETO, A.; PALHARES. Estádios de desenvolvimento embrionário de vacas zebuínas superovuladas Superovulated zebu cows embryonic developmental stages. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.53, n. 6, p.671-676, 2001.
- GALLI, C.; DUCHI, R.; CROTTI, G.; TURINI, P.; PONDERATO, N.; COLLEONI, S.; LAGUTINA, I.; LAZZARI, G. Bovine embryo technologies. **Theriogenology**, v.59, n.2, p.599-616, 2003.
- GAMA FILHO, R. V.; FONSECA, F. A.; UENO, V. G. FONTES, R. S.; QUIRINO, C. R. RAMOS, J. L. G. Sazonalidade na dinâmica folicular ovariana e produção embrionária em novilhas da raça Guzerá. **Brazilian Journal of Veterinary Research Animal Science**, São Paulo, v. 44, n. 6, p. 422-427, 2007.
- GARCIA, J. M.; AVELINO, K. B.; VANTINI, R. Estado da arte da fertilização *in vitro* em bovinos. **In: Annals of the First International Symposium on Animal Reproduction Applied: 14-16 October 2004; Londrina**. Faculdade



- de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 2004. p. 223-230.
- GARNER, D. L.; GLEDHILL, B. L.; PINKEL, D.; LAKE, S.; STEPHENSON, D.; VAN DILLA; JOHNSON, L. A. Quantification of the X- and Y-chromosome-bearing spermatozoa of domestic animals by flow cytometry. **Biologia da Reprodução**, v. 28, p. 312-321, 1983.
- GONÇALVES, P.B.D; FIGUEIREDO, J.R; FREITAS, V.J.F. Biotécnicas aplicadas à reprodução animal. **Transferência e criopreservação de embriões bovinos**, p. 201-239. 2ª ed., São Paulo, ed. ROCA, 2008.
- GONÇALVES, P. B. D.; BARRETA, M. H.; SANDRI, L. R.; FERREIRA, R.; ANTONIAZZI, A. Q. Produção *in vitro* de embriões bovinos: o estado da arte. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 31, n. 2, p. 212-217, abr./jun. 2007.
- GOTTARDI, E. P.; MINGOTI, G. Z. Maturação de oócitos bovinos e influência na aquisição da competência para o desenvolvimento do embrião. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.33, n.2, p.82-94, abr./jun. 2009.
- HENDERSON, C.R. 1963. Selection index and genetic expected advance. In: HANSON, W.D., ROBISON, H.F. (Eds.). **Statistical genetics and plant breeding**. Washington: NASNRC. p.141-163. (Publication, 982).
- HENDERSON, C. R. Best linear unbiased prediction of performance and breeding value. **Proc. 33rd National Breeders' Roundtable, St. Louis, Mo**, p. 172, 1984.
- HONORATO, M. T.; FERRO, R. A. C.; FERRO, D. A. C.; SANTOS, K. J. C.; COSTA, M. A.; FILHO, J. L. R. Importância da escolha de receptoras em um programa de transferência de embriões em bovinos. **PUBVET**, v. 7, p. 1870-1980, 2013.
- IETS. Manual da sociedade internacional de transferência de embriões, **Certificação e identificação de embriões**, p. 109-123, 3ª ed., Copyright, 1998.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Pesquisa pecuária municipal**. 2016. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/3939#resultado>>. Acesso em 12 de novembro de 2017.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Sistema IBGE de Recuperação Eletrônica (SIDRA)**. Disponível em:<<https://sidra.ibge.gov.br/Tabela/3939#resultado>>. Acesso em: 19 abr. 2018.
- JAINUDEEN M.R. et al. Indução da ovulação, produção e transferência de embriões In: HAFEZ, E.S.S.E.; HAFEZ, B. **Reprodução Animal**. São Paulo. Ed. Manole, 2004.
- JUNQUEIRA, J. Ricardo C. R. C.; FREITAS, J. C.; ALFIERIA, A. F.; ALFIERI, A. A. Avaliação do desempenho reprodutivo de um rebanho bovino de corte naturalmente infectado com o BoHV-1, BVDV e *Leptospira hardjo*. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 27, n. 3, 2006.
- KONIG, S.; BOSSELMANN, F.; BORSTEL, V.; SIMIANER, H. Genetic analysis of traits affecting the success of embryo transfer in dairy cattle. **Journal of dairy science**, v.90, n.8, p.3945-3954, 2007.
- LATAWIEC, A. E.; STRASSBURG, B. B. N.; VALENTIM, J.F.; RAMOS, F. ALVES PINTO, H. N. Intensification of cattle ranching production systems:

- socioeconomic and environmental synergies and risks in Brazil. **Animal**, v. 8, n. 8, p. 1255-1263, 2014.
- LIMA, V. F. M. H.; MOREIRA FILHO, C. A.; LUCIO, A. C.; RESENDE, M. V. Sexagem de espermatozoides bovinos por centrifugação em gradiente descontínuo de densidade de Percoll. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, n.8, p.1680-1685, 2011.
- LIMA, J. M. P.; SANTOS, F. A.; PIMENTEL, M. M. L.; BEZERRA, M. B. Progresso metodológico e sua influência na produção *in vitro* de embriões bovinos no Brasil. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.38, n.3, p.135-140, 2014.
- LIRA, T., ROSA, E.M., GARNERO, A.D.V. Parâmetros genéticos de características produtivas e reprodutivas em zebuínos de corte (revisão). **Revista Ciência Animal Brasileira**, v.9, n.1, p.1-22, 2008.
- LÔBO, R. N. B.; LOBO, A. M. B. O. Melhoramento genético como ferramenta para o crescimento e o desenvolvimento da ovinocultura de corte. **Embrapa Caprinos e Ovinos-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2007.
- LÔBO, R.B.; BITTNECOURT, T. C. B. S. C.; PINTO, L. B. Progresso científico em melhoramento animal no Brasil na primeira década do século XXI. 2010. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.39, p.223-235, 2010.
- LOIOLA, M. V. G.; CHALHOUN, M.; RODRIGUES, A. S.; FERRAZ, P. A.; BITTE; BITTENCOURT, R. F.; FILHO, A. L. R. Validação de um programa de produção *in vitro* de embriões bovinos com transporte de oócitos e de embriões por longas distâncias. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 15, n. 1, p. 93-101, jan./mar. 2014.
- LOPES, Paulo Sávio. Uso da iteração nos dados para resolução de equações de modelo misto. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.2, p.438-442, 2000.
- LUSTOSA, A. A.; BARBOZA, N. A.; BARBOSA, Y. G. S.; RODRIGUES, P. K. O.; MAGALHÃES NETO, F. C. R. Aspectos relevantes na produção comercial de embriões bovinos por meio da técnica biotecnológica de fertilização *in vitro*: Revisão. **PUBVET**, v.12, p.130, 2017.
- MAGAJEVSKI, F. S.; GÍRIO, R. J. S.; MEIRELLES, R. B. Pesquisa de Leptospira em fetos de vacas abatidas no estado de São Paulo, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.74, n.2, p.67-72, 2007.
- MARQUES, C. C.; BAPTISTA, M. C.; PEREIRA, R. M.; VASQUES, M. I.; LOPES DA COSTA, L. F.; HORTA, A. E. M. Influência do sêmen de diferentes touros sobre as taxas de fertilização *in vitro* e desenvolvimento de embriões em co-cultura. **Revista Portuguesa de Zootecnia**, v. 2, n. 2, p. 103-110, 1995.
- MALHI, P. S.; ADAMS, G. P.; PIERSON, R. A.; SINGH, J. Bovine model of reproductive aging: response to ovarian synchronization and superstimulation. **Theriogenology**, v.66, n. 5, p.1257-1266, 2006.
- MCMANUS, C.; SAUERESSIG, M. G.; FALCÃO, R. A.; SERRANO, G.; MARCELINO, K. R.A.; PALUDO, G. R. Componentes reprodutivos e produtivos no rebanho de corte da Embrapa Cerrados. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 31, n. 2, p. 648-657, 2002.
- MELLO, R. R. C. Perdas reprodutivas em fêmeas bovinas. ACSA – **Agropecuária Científica no Semi-Árido**, v.10, n.4, p 07-23, out./ dez., 2014.
- 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. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 51, n. 10, p. 1773-1779, out. 2016a.

- MELLO, R. R. C.; FERREIRA, J. E.; SOUSA, S. L. G.; MELLO, M. R. B.; PALHANO. Fatores ligados à doadora que influenciam na produção de embriões *in vitro* (PIVE). **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 40, n. 2, p. 51-57, abr./jun. 2016b.
- MELLO, 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. **Revista Brasileira Animal**, Belo Horizonte, v. 40, n. 2, p. 58-64, abr./jun. 2016c.
- MEIRELLES, C.; FARIA, V.R.; SOUZA, A.B.; WEISS, R.R.; SEGUI, M.S.; KOZICKI, L.E. Eficiência da inseminação artificial com sêmen sexado bovino: Aspectos de viabilidade reprodutiva e econômica. **Archives of Veterinary Science**, v.13, n.2, p.98-103, 2008.
- MERTON, J. S.; ROOS, A. P. W.; MULLAAAT, E.; RUIGH, L.; KAAL, L.; VOS, P. L. A. M.; DIELEMAN, S. J. Factors effecting oocyte quality and quantity in commercial application of embryo technologies in the cattle breeding industry. **Theriogenology**, v.59, p.651–674, 2009a.
- MERTON, J. S. et al. Genetic parameters for oocyte number and embryo production within a bovine ovum pick-up–*in vitro* production embryo-production program. **Theriogenology**, v. 72, n. 7, p. 885-893, 2009b.
- MOCÉ, E; GRAHAM, J. K.; SCHENK, J. L. Effect of sex - sorting on the ability of fresh and cryopreserved bull sperm to undergo an acrosome reaction. **Theriogenology**, v.66, p.929 – 936, 2006.
- NASCIMENTO, P. S.; CHAVES, M. S; SANTOS FILHO, A. S.; GUIDO, S. I.; GUERRA, M. M. P.; BARTOLOMEU, C. C. Produção *in vitro* de embriões utilizando-se sêmen sexado de touros 5/8 Girolando. **Ciência Animal Brasileira**, v.16, n.3, p.358-368 jul./set. 2015.
- NETO, A. P.; SILVA FILHO, J. M.; FONSECA, J. F.; MOTA, M. F.; BELISÁRIO, H.; PARDINI, W. S.; ALVIM, M. T. T. Desempenho de Vacas Doadoras da Raça Nelore, em Programa de Transferência de Embriões. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v. 3, n. 2, 2000.
- NETO, H. F. V.; SILVA, J. C. F.; PEREIRA, L. C.; ANDRADE, J. C. O.; MOURA, M. T.; BARTOLOMEU, C. C; LIMA, P. F.; OLIVEIRA, M. A. L. Parâmetros que afetam a taxa de prenhez de receptoras bovinas de embriões produzidos *in vitro*. **Medicina Veterinária** ISSN 1809-4678, Recife, PE, 2014.
- NEVES, M. M.; MARQUES JR, A. P. Senescência reprodutiva feminina em mamíferos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.32, p.133-140, 2008.
- NEVES, J. P.; MIRANDA, K. L.; TORTORELLA, R. D. Progresso científico em reprodução na primeira década do século XXI. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 39, p. 414-421, 2010.
- NEVES, S.; CAVALIERI, F. L. B.; EMANUELLI, I. P. Influência das condições climatológicas nas variáveis reprodutivas de fêmeas bovinas da raça Nelore. In: VIII MOSTRA INTERNA DE TRABALHOS DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA I MOSTRA INTERNA DE TRABALHOS DE INICIAÇÃO TECNOLÓGICA E INOVAÇÃO, **Anais...** UNICESUMAR – Centro Universitário de Maringá, Paraná, Brasil, 2016.
- NICHOLAS, F. W. Genetic improvement through reproductive technology. **Animal reproduction Science**, v.42, p.205-214, 1996.
- NOGUEIRA, E.; MINGOTI, G. Z.; NICACIO, A. C. Biotécnicas reprodutivas para aceleração do melhoramento genético. **Embrapa Gado de Corte-Capítulo em livro científico (ALICE)**, 2013.

- NOGUEIRA, E. N.; CARDOSO, G. S.; MARQUES JUNIOR, H. R. DIAS, A. M.; BROGES, J. C. Effect of breed and corpus luteum on pregnancy rate of bovine embryo recipients. *Revista brasileira de Zootecnia*, v.41, n.9, p.2129-2133, 2012.
- OLIVEIRA ALVES, A. G.; SILVA, L. O. C.; FILHO, K. E.; FIGUEIREDO, G. R. Disseminação do melhoramento genético em bovinos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 28, n. 6, p. 1219-1225, 1999.
- OLIVEIRA, R. L.; BARBOSA, M. A. A. F.; LADEIRA, M. M.; SILVA, M. M. P.; ZIVIANI, A.; BAGALDO, A. R. Nutrição e manejo de bovinos de corte na fase de cria. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 7, n. 1, 2006.
- PACHECO, S. L.; HOPPEN, A. R.; SOUZA ROSA, F. Comparação da taxa de prenhez conforme o estágio de desenvolvimento de embriões produzidos *in vitro* e transferidos em bovinos de corte e leite. **Revista de Ciências Agroveterinárias e Alimentos**, n.2, 2018.
- PEARSON, R. E.; VAM ARENDONK, J. A. M.; VAN WAGTENDONK, J.; SCHROOTEN, C. Genetic parameters for responsiveness to superovulation. **Journal of Dairy Science**, v. 79, n. Suppl. 1, p. 352-352, 1996.
- PEIXOTO, M. G. C. D.; FONSECA, C. G.; PENNA, M. T. T. Análise multivariada de resultados da ovulação múltipla seguida de transferência de embriões de doadoras zebuínas Multivariate analysis of multiple ovulation followed by embryo transfer results from zebu donors. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.54, n.5, p.492-500, 2002.
- PEIXOTO, M. G. C. D.; PEREIRA, C. S.; BERGMANN, J. A. G.; PENNA, V. M.; FONSECA, C. G. Genetic parameters of multiple ovulation traits in Nelore females. **Theriogenology**, v.62, n. 8, p.1459-1464, 2004
- PEIXOTO, M. G. C. D.; BERGMANN, J. A. G.; FONSECA, C. G.; PENNA, V. M.; PEREIRA, C. S. Effects of environmental factors on multiple ovulation of zebu donors. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, n. 4, p. 567-574, 2006.
- PEIXOTO, M. G. C. D.; BERGMANN, J. A.G.; SUYAMA, E.; CARVALHO, M. R. S. PENNA, V. M. Logistic regression analysis of pregnancy rate following transfer of *Bos indicus* embryos into *Bos indicus* × *Bos taurus* heifers. **Theriogenology**, v.67, n.2, p.287-292, 2007..
- PEREZ, B. C.; PEIXOTO, M. G. C. D.; BRUNELI, F. T.; RAMOS, P. V. B.; BALIEIRO, J. C.C. Parâmetros genéticos para características relacionadas à produção de oócitos e embriões em doadoras da raça Guzará. In: Embrapa Gado de Leite-Artigo em anais de congresso (ALICE). In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 52, 2015, Belo Horizonte. Zootecnia: otimizando recursos e potencialidades: **Anais...** Belo Horizonte: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2015.
- PEREIRA, Jonas Carlos Campos. **Melhoramento genético aplicado à produção animal**. JCC Pereira, 1999.
- PONTES, J. H. F.; MELLO 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.9, p.1640-1646, 2011.

- RATH, D., MOENCH – TEGEDER, G.Ç TAYLOR, U.; JOHNSON, L. A. Improved quality of sex-sorted sperm: a prerequisite for wider comercial application. **Theriogenology**, v.71, p.22–29, 2009.
- RESENDE, M. D. V.; ROSA-PEREZ, J. R. H. Melhoramento animal: predição de valores genéticos pelo modelo animal – BLUP em bovinos de leite, bovinos de corte, ovinos e suínos. **Archives of Veterinary Science**, 4(1):17-29, 1999.
- RIBEIRO, L. V. P.; RIGOLON, L. P.; CAVALIERI, F. L. B. SEKO, M. B.; MARTINEZ, A. C.; RIBEIRO, M. G.; MARTINS, R. R.; ÁVILA, M. R.; CONTI, J. B. Recuperação de oócitos e produção *in vitro* de embriões de vacas estimuladas com FSH ou ECG. **Archivos de zootecnia**, v.60, n.232, p.1021-1029, 2011.
- RODRIGUES, J. L.; RODRIGUES, B. A. Evolução da biotecnologia da reprodução no Brasil e seu papel no melhoramento genético. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 56, n. 4, p. 428-436, jul./ago. 2009.
- ROSA, A. N.; MARTINS, E. N.; MENEZES, G. R. O.; SILVA, L. O. C. Melhoramento genético aplicado em gado de corte: Programa Geneplus-Embrapa. **Embrapa Gado de Corte-Livro científico (ALICE)**, 2013.
- RUFINO, F. A.; SENEDA, M. M.; ALFIERI, A. A. Impacto do herpesvírus bovino 1 e do vírus da diarreia viral bovina na transferência de embriões. **Archives of Veterinary Science**, v. 11, n. 1, 2006.
- RUMPF, R. Avanços metodológicos na produção *in vitro* de embriões. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, p. 229-233, 2007.
- SANTOS, M. V. O.; QUEIROZ NETA, L. B.; BORGES, M. B.; PEREIRA, A. F. Influência do corpo lúteo sobre a recuperação de oócitos imaturos bovinos derivados de fêmeas post-mortem. **HOLOS**, ano 33, v. 07, 2017.
- SANTOS, C. E.; FILTER, C. F. Anuário Brasileiro da Pecuária. Santa Cruz do Sul: Gazeta Santa Cruz, 2018. 33p.
- SARTORI, R.; SARTOR-BERGFELT, R.; MERTENS, S. A; GUENTHER, J. N.; PARRISH, J. J.; WILTBANK, M. C. Fertilization and early embryonic development in heifers and lactating cows in summer and lactating and dry cows in winter. **Journal of dairy science**, v. 85, n. 11, p. 2803-2812, 2002.
- SARTORI, R.; MOLLO, M. R. Influência da ingestão alimentar na fisiologia reprodutiva da fêmea bovina. **Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2007.
- SENEDA, M. M.; ESPER, C. R.; GARCIA, J. M.; ANDRADE, E. R. Aspectos técnicos e biológicos da obtenção de oócitos bovinos: revisão de literature. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.23, n. 1, p.101-110, jan./jun. 2002.
- SENEDA, M. M.; RUBIN, K. C. P.; BLASCHI, W.; LISBOA, L. A.; PONTES, J. H. F. Utilização de uma bomba de infusão contínua como geradora de vácuo para a aspiração folicular transvaginal guiada pela ultra-sonografia. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, v.8, n.2, p.168-175, 2005.
- SERAFIM, P. R.; GOMES, G. M.; GOMES, L. P. M.; BORN, J. L. B.; BORGES, M. S.; CRESPILO, A. M. Sêmen bovino sexado: A produção *in vitro* de embriões pode ser influenciada pelo touro doador do material genético?. **Revista de Saúde**, v. 9, n. 1, p. 04-08, 2018.
- SEVERO, N. C. História da inseminação artificial no Brasil. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 39, n. 1, p. 17-21, jan./mar. 2015.
- 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.
- SILVA, S. V.; GUERRA, M. M. P. Efeitos da criopreservação sobre as células espermáticas e alternativas para redução das crioinjúrias. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 35, n. 4, p. 370-384, 2011.
- SILVA, A. P. T. B.; MELLO, R. R. C.; FERREIRA, J. E.; MELLO, M. R. B. Efeito do acasalamento entre a doadora e o touro (Holandês versus Gir) na produção *in vitro* de embriões bovinos. **Boletim de Indústria Animal**, Nova Odessa, v.72 n.1, p.51-58, 2015.
- SIMÕES, R.; SIQUEIRA, A. F. P.; NICHI, M., VISINTIN, J. A.; ASSUMPÇÃO, M. E. O.D. Qualidade da cromatina espermática e sua implicação no desenvolvimento embrionário inicial de bovinos. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, v. 12, n. 3, p. 18-35, 2014.
- SOUSA, G.G. T.; MAGALHÃES, N. A.; GOMES, L. A.; CORREIA, H. S.; SOUSA JÚNIOR, S. C.; SANTOS, K. R.; GUIMARÃES, J. E. C. Monta natural versus inseminação artificial em bovinos. **PUBVET**, Londrina, v. 6, n. 35, ed. 222; Art.1473, 2012.
- SOUSA, G. G. T.; SOUSA JÚNIOR, S. C.; SANTOS, K. R.; GUIMARÃES, J. E. C.; LUZ, C. S. M.; BARROS JÚNIOR, C. P.; FONSECAS, W. J. L. Características reprodutivas de bovinos da raça Nelore do meio Norte do Brasil. **PUBVET**, v. 6, p. Art. 1387-1392, 2012.
- STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM - SAS. **User's guide**. Cary: SAS Institute, 2002, 525p.
- SU, L.; YANG, S.; HE, X.; LI, X.; MA, J.; WANG, Y.; PRESICCE, G.; JI, W. Effect of donor age on the developmental competence of bovine oocytes retrieved by ovum pick up. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 47, n. 2, p. 184-189, abr. 2012.
- TONHATI, H.; LÔBO, R. B.; OLIVEIRA, H. N. Repeatability and herdability of response to superovulation in holstein cows. **Theriogenology**, v.51, p.1151-1156, 1999.
- TORRES-JUNIOR, J. R. S.; MELO, W. O.; ELIAS, A. K. S.; RODRIGUES, L. S.; PENTEADO, L.; BARUSELLI, P. S. Considerações técnicas e econômicas sobre reprodução assistida em gado de corte. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 33, n. 1, p. 53-58, 2009.
- TUBMAN, L. M.; BRINK, Z.; SEIDEL, G. E. J. Characteristics of calves produced with sperm sexed by flow cytometry/cell sorting. **Journal of animal science**, v.82, n.4, p.1029-1036, 2004.
- VALENTIM, J.F.; ANDRADE, C.M.S. O desafio da pecuária extensiva sustentada. **Embrapa Acre-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2005.
- VARAGO, F. C.; MENDONÇA, L. F.; LAGARES, M. A.; Produção *in vitro* de embriões bovinos: estado da arte e perspectiva de uma técnica em constante evolução. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.32, n.2, p.100-109, abr./jun. 2008.
- VIANA, J. H. M.; BOLS, P. E. J. Variáveis biológicas associadas a recuperação de complexos cumulus-oócito por aspiração folicular. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 3, Suplemento 1, 2005.
- VIANA, J. H. M.; SIQUEIRA, L. G. B.; PALHÃO, M. P.; CAMARGO, S. A. Use of *in vitro* fertilization technique in the last decade and its effect on Brazilian

- embryo industry and animal production. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 38, supl. 2, p. 661-674, 2010.
- VIANA, J. H. M.; SIQUEIRA, L. G. B. PALHAO, M. P. CAMARGO, L. S. A. Features and perspectives of the Brazilian *in vitro* embryo industry. **Animal Reprodução**, v.9, n.1, p.12-18, 2012.
- VIANA, J. H.; FIGUEREDO, A. C. S.; SIQUEIRA, L. G. B. Brazilian embryo industry in context: pitfalls, lessons, and expectations for the future. **Animal Reproduction**, v. 14, n. 3, p. 476-481, jul./set. 2017.
- VIEIRA, R. J. Biotécnicas aplicadas à reprodução bovina: generalidades. **Ciência Animal**, Fortaleza, v. 22, n. 1 p. 55-65, jun. 2012.
- VILLADIEGO, F. A. C.; GUIMARÃES, J. D.; COSTA, E. P.; ALVAREZ, J. A. C.; LEONS, V. H. G.; LÓPEZ, C. J. R. Sêmen sexado através de citometria de fluxo e centrifugação por gradiente de concentração. **Revista de Medicina Veterinária**, n.36, p. 121-133, Bogotá, Colômbia, 2018.
- WAGTENDONK DE LEEUW, A. M. Ovum Pick Up and *In vitro* Production in the bovine after use in several generations: A 2005 status. **Theriogenology**, v.65, p.914-925, 2006.
- WALTERO, E. M. M.; CALIXTO, C.; VALE, D. F.; PEREIRA, J. L.; CURCIO, A. G.; LOGULLO, C.; DIAS, A. J. B.; GOMES, H. F. Sinalização por insulina durante a maturação *in vitro* de oócitos bovinos. **Brazilian Journal of Veterinary Medicine**, v.35, n. Supl. 1, p.12-20, 2013.
- WATANABE, Y. F.; OLIVEIRA FILHO, E. B. Efeito de reprodutores, distribuídos em três grupos genéticos, na produção *in vitro* de embriões bovinos. **Arquivos Veterinária**, v. 16 (1), p.22-27, 2000.
- WATENABE, Y. F.; OLIVEIRA FILHO, E. B. Efeito de reprodutores, distribuídos em três grupos genéticos, na produção *in vitro* de embriões bovinos. **Arquivos de Veterinária**, n.16(1), p.22-27, 2000.
- ZHANG, M.; LU, K. H.; SEIDEL, G. E. Development of bovine embryos after *in vitro* fertilization of oocytes with flow cytometrically sorted, stained and unsorted sperm from different bulls. **Theriogenology**, v.60, p.1657-1663, 2003.