

## **Parâmetros produtivos e genéticos da produção *in vitro* de embriões Nelore no Estado do Acre**

**Productive and Genetic Parameters of In Vitro Production of Nelore Embryos in the State of Acre, Brazil**

**Parámetros productivos y genéticos de la producción *in vitro* de embriones Nelore en el Estado de Acre, Brasil**

Recebido: 11/05/2022 | Revisado: 22/05/2022 | Aceito: 25/05/2022 | Publicado: 29/05/2022

### **Antônia Kaylyanne Pinheiro**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2968-6707>  
Universidade Federal do Acre, Brasil  
E-mail: [kaylyanne@hotmail.com](mailto:kaylyanne@hotmail.com)

### **José Marques Carneiro Junior**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9968-7612>  
EMBRAPA-AC, Brasil  
E-mail: [marques.junior@embrapa.br](mailto:marques.junior@embrapa.br)

### **Adalgiza Pinto Neto**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2180-2390>  
Universidade Federal da Fronteira Sul, Brasil  
E-mail: [adalgiza.neto@uffs.edu.br](mailto:adalgiza.neto@uffs.edu.br)

### **Hélton Aparecido Garcia Gregianini**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6360-7833>  
In Vitro Acre, Brasil  
E-mail: [heltonivacre@gmail.com](mailto:heltonivacre@gmail.com)

### **Jennifer Teodoro Ferreira Gregianini**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8521-9199>  
In Vitro Acre, Brasil  
E-mail: [jenniferivacre@gmail.com](mailto:jenniferivacre@gmail.com)

### **Rafael Augusto Satrapa**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0827-7501>  
Universidade Federal do Acre, Brasil  
E-mail: [rafael.satrapa@ufac.br](mailto:rafael.satrapa@ufac.br)

### **Camila Keterine Gorzelanski Trenkel**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7614-1473>  
Universidade Federal da Fronteira Sul, Brasil  
E-mail: [catrenkel@gmail.com](mailto:catrenkel@gmail.com)

### **Andressa Pereira Braga**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7992-182X>  
Universidade Federal do Acre, Brasil  
E-mail: [ufac.andressa@gmail.com](mailto:ufac.andressa@gmail.com)

### **Mauricio Santos Silva**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1624-4419>  
Universidade Federal do Acre, Brasil  
E-mail: [mauricio\\_lpj@hotmail.com](mailto:mauricio_lpj@hotmail.com)

### **Resumo**

Objetivou-se avaliar dados retrospectivos da produção *in vitro* de embriões (PIV) em Nelore, no Estado do Acre, a fim de estabelecer parâmetros não genéticos e genéticos. Para tanto, dados de 1292 sessões de aspirações foliculares guiadas por ultra som realizadas em 571 doadoras Nelore, distribuídas em dez fazendas no Acre, entre os anos de 2015 e 2018, foram coletados e analisados para estimativa de parâmetros produtivos e não genéticos, utilizando-se o Método de Quadrados Mínimos Generalizados através do Software SAS, e efeitos genéticos pelo Método de Máxima Verossimilhança Restrita, utilizando-se o software MTDFREML. Observou-se número médio de 30,05; 9,82 e 3,03 para oócitos, embriões e gestação por aspiração/vaca, respectivamente; e porcentagens médias de 34,19; 38,39 e 10,68% de taxa de conversão de oócito/embrião, de embrião/gestação e de oócito/gestação, respectivamente. Para os efeitos genéticos, observou-se que a herdabilidade apresentou magnitude baixa a média, indicando variabilidade genética para produção de oócitos, embriões e gestação. As correlações fenotípicas e genéticas entre número total de oócitos, embriões e gestação foram positivas e de alta magnitude, indicando que a seleção para aumento na produção de oócitos resulta em aumento na produção de embriões e na taxa de gestação. Conclui-se que os efeitos não genéticos na PIV devem ser considerados nos modelos de avaliação genética para estas características, e 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 e gestações.

**Palavras-chave:** Bovinos de corte; PIVE; Efeitos fixos; Herdabilidade; Correlações.

### Abstract

This study aimed at evaluating retrospective data in order to establish non-genetic and genetic parameters of In Vitro Embryo Production (IVP) of the Nelore breed, in the State of Acre, Brazil. Therefore, data from 1,292 sessions of ultrasound-guided follicular aspirations performed in 571 Nelore donors, distributed in ten farms in Acre, between 2015 and 2018, were collected and analyzed in order to estimate production and non-genetic parameters, by using the Generalized Least Squares Method with SAS Software, and genetic effects by the Restricted Maximum Likelihood Method, by using MTDFREML software. Mean values for number of oocytes, embryos and pregnancy by aspiration per cow of 30.05, 9.82 and 3.03, were respectively obtained; and mean conversion rates of oocyte/embryo, embryo/pregnancy and oocyte/pregnancy of 34.19; 38.39 and 10.68%, respectively. For the genetic effects, it was observed that the heritability presented low to medium magnitude, thus indicating genetic variability for the production of oocytes, embryos and pregnancy. Phenotypic and genetic correlations between total number of oocytes, embryos and pregnancy were positive and of high magnitude, indicating that selection for increased oocyte production results in increased embryo production and pregnancy rate. It is concluded that the non-genetic effects on In Vitro Embryo Production should be considered in the genetic evaluation models for these traits, and the heritability estimates found in this study, despite being of low to moderate magnitudes, indicate that there is additive genetic variability for the selection of donors with the best genetic potential for the production of oocytes, embryos and pregnancies.

**Keywords:** Beef cattle farming; In Vitro embryo production; Fixed effects; Heritability; Correlations.

### Resumen

El objetivo fue evaluar datos retrospectivos sobre la producción de embriones in vitro (PIV) en Nelore, en el Estado de Acre, para establecer parámetros no genéticos y genéticos. Para ello, se recopilaron y analizaron datos de 1292 sesiones de aspiraciones foliculares guiadas por ultrasonido realizadas en 571 donantes Nelore, distribuidas en diez fincas en Acre, entre 2015 y 2018, para estimar parámetros productivos y no genéticos, utilizando -si el Generalizado Método de Mínimos Cuadrados a través del Software SAS, y efectos genéticos a través del Método de Máxima Verosimilitud Restringida, utilizando el software MTDFREML. Se observó un número promedio de 30,05; 9,82 y 3,03 para ovocitos, embriones y aspiración/preñez de vaca, respectivamente; y porcentajes medios de 34,19; 38,39 y 10,68% de conversión ovocito/embrión, embrión/embarazo y ovocito/embarazo, respectivamente. Para los efectos genéticos, se observó que la heredabilidad presentó magnitud baja a media, indicando variabilidad genética para la producción de ovocitos, embriones y gestación. Las correlaciones fenotípicas y genéticas entre el número total de ovocitos, embriones y preñez fueron positivas y de gran magnitud, lo que indica que la selección para aumentar la producción de ovocitos da como resultado una mayor producción de embriones y tasa de preñez. Se concluye que los efectos no genéticos sobre la IVP deben ser considerados en los modelos de evaluación genética para estas características, y las estimaciones de heredabilidad encontradas en este estudio, a pesar de ser de magnitudes bajas a moderadas, indican que existe una variabilidad genética aditiva para la selección de donantes. con mejor potencial genético para la producción de ovocitos, embriones y embarazos.

**Palabras clave:** Ganadería vacuna de carne; Producción de embriones *in vitro*; Efectos fijos; Heredabilidad; Correlaciones.

## 1. Introdução

A pecuária de corte é uma das atividades produtivas mais importantes para o agronegócio brasileiro, registrando importantes avanços quantitativos e qualitativos. O melhoramento genético aliado ao uso de tecnologias pode contribuir para o aumento do potencial genético dos animais nos sistemas de produção (Rosa, 2013). Diante disto, as biotecnologias reprodutivas são importantes ferramentas para o avanço do melhoramento genético dos rebanhos (Vieira, 2012).

As limitações relativas ao progresso genético pela monta natural contribuíram para impulsionar a pesquisa, desenvolvimento e aplicação das biotecnologias reprodutivas. Assim, o uso da inseminação artificial (IA), a transferência de embriões (TE) e a produção *in vitro* de embriões (PIVE) tem contribuído para redução do intervalo de gerações e consequentemente acelerar o progresso genético dos rebanhos (Viana et al., 2010). A IA 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.

Apesar dos grandes avanços promovidos pela IA, 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., 2016). 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 (Loiola et al., 2014; Caldas-Bussiere et al., 2021).

O uso rotineiro da PIVE ainda apresenta dificuldades técnicas, alto custo financeiro e baixo número de embriões viáveis (Scanavez; Campos; Santos, 2013). Um dos motivos desta baixa produção de embriões está relacionado a fatores que influenciam a PIVE, dentre eles, os fatores ambientais, as condições de cultivo da FIV, as condições fisiológicas da doadora, efeito de touro e os fatores genéticos relacionados à PIVE (Peixoto et al., 2006; Mello et al., 2016; Queiroz et al., 2022).

Diversos autores avaliaram efeitos não genéticos na PIVE, como maior produção de embriões viáveis em doadoras de acordo com a idade (Peixoto et al., 2006); menor taxa de produção de embriões (35%) no período mais quente do ano, em relação ao período mais ameno (55%) (Neves et al. 2016); efeito do ano e estação de ano na taxa de gestação de doadoras zebuínas (Peixoto et al., 2007) e efeito do touro e do tipo de sêmen sobre a taxa de blastocistos de Nelore e Gir (Morotti et al., 2014).

Adicionalmente, estudos indicam variação genética aditiva para características relacionadas à produção de oócitos e embriões, estimando a herdabilidade para embriões transferíveis, em Nelore de 0,20 a 0,65 (Peixoto et al., 2004) e em Guzerá, herdabilidade de 0,08 a 0,23 para número de oócitos; de 0,17 para número de embriões clivados e 0,15 para embriões produzidos (Perez et al., 2015).

Neste contexto, objetiva-se com esse estudo avaliar os parâmetros produtivos e genéticos da produção *in vitro* de embriões em bovinos Nelore no Acre.

## 2. Metodologia

Este estudo foi realizado com dados coletados em um laboratório comercial de produção *in vitro* de embriões, *In Vitro* Acre, localizado em Rio Branco, Estado do Acre. Os dados referem-se a 1.292 sessões de aspirações foliculares guiadas por ultrassom, realizadas em 571 doadoras Nelore, distribuídas em dez fazendas no Acre entre os anos de 2015 a 2018, mediante pesquisa de campo quantitativa (Pereira et al., 2018).

Os oócitos foram coletados por meio da técnica de aspiração folicular *Ovum Pick-up* (OPU), por um só técnico, e encaminhados ao laboratório para maturação *in vitro*, sendo 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 obtido das centrais de comercialização de sêmen. O protocolo utilizado baseou-se na técnica de centrifugação através do gradiente descontínuo de Percoll, com concentração espermática de 5x10<sup>6</sup> espermatozoides/mL. A incubação (*Complexos Cumulus Oophorus* - COCs e espermatozoides) foi realizada 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 *cumulus* dos zigotos e os mesmos foram mantidos em incubadora com temperatura de 38,5°C, 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 17 a inovulação. Todo procedimento laboratorial para a PIVE foi realizado por um só técnico.

O protocolo de preparação das receptoras para inovulação iniciou-se no dia zero (D0) com a inserção do dispositivo intravaginal com 1g de progesterona (P<sub>4</sub> - Reproneo, Biogenesis) e aplicação de 2mL de benzoato de estradiol (BE-Bioestrogen, Biogenesis Bago). No dia oito (D8) foi retirado o implante, aplicando 2mL de prostaglandina (PGF<sub>2α</sub> - D-cloprostenol: Croniben, Biogenesis Bago), 300UI (1,5mL) de gonadotrofina coriônica equina (eCG – Ecegon, Biogenesis Bago) e 2mL de cipionato de estradiol (CE- Croni-cip, Biogenesis Bago). No dia dezessete (D17) foi realizada a inovulação

dos embriões. O diagnóstico de gestação foi realizado em 30 e 60 dias após a inovulação, por meio da ultrassonografia transretal (DP 10 Vet Mindray).

Para análise estatística foi considerado as seguintes variáveis: total de OPU ( $NT_{AF}$ ); de COCs ( $NT_{OOC}$ ), de embriões clivados ( $NT_{CLIV}$ ), de embriões produzidos ( $NT_{EMB}$ ), de gestação ( $NT_{GEST}$ ), e os percentuais de conversão de oócitos para embriões ( $PC_{O/E}$ ), conversão de embriões para gestação ( $PC_{E/G}$ ), conversão de oócitos para Gestação ( $PC_{O/G}$ ) e taxa de clivagem ( $TX_{CLIV}$ ).

Para as variáveis relacionadas ao  $NT_{OOC}$  foi considerado o número total COCs viáveis; para a variável  $NT_{CLIV}$  foi considerado o total de embriões clivados em relação aos COCs viáveis, para a variável  $NT_{EMB}$  foi considerado o total de embriões produzidos em relação aos embriões clivados e para a variável  $NT_{GEST}$  foi considerado o total de gestação em relação aos embriões produzidos. E os percentuais foram calculados de acordo com as equações:

- A variável de  $PC_{O/E}$  foi calculada pela equação:  $PC_{O/E} = \frac{NT_{EMB}}{NT_{OOC}} \times 100$
- A variável de  $PC_{E/G}$  foi calculada pela equação:  $PC_{E/G} = \frac{NT_{GEST}}{NT_{EMB}} \times 100$
- A variável  $PC_{O/G}$  foi calculada pela equação:  $PC_{O/G} = \frac{NT_{GEST}}{NT_{OOC}} \times 100$
- A variável  $TX_{CLIV}$  foi calculada pela equação:  $TX_{CLIV} = \frac{NT_{CLIV}}{NT_{OOC}} \times 100$

Inicialmente, realizou-se 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), a fim de verificar a significância dos efeitos não genéticos (efeitos fixos) que afetam a PIVE. A normalidade dos dados foi analisada pelo teste de Shapiro-Wilk, e as médias comparadas pelo Teste de Duncan, considerando de 5% de significância.

Foram avaliados os seguintes efeitos fixos: de fazenda (engloba todas as variáveis relacionadas ao manejo específico da fazenda); idade da doadora (idade da doadora no ano da aspiração, sendo: Classe 1: doadoras até dois anos; Classe 2: 2-3 anos; Classe 3: 3-5 anos; Classe 4: 5-7 anos; Classe 5: 7-9 anos; Classe 6: 9-11 anos; Classe 7: 11-13 anos e Classe 8: doadoras acima de 13 anos); efeito de época do ano sobre a aspiração folicular (época 1: chuvosa, meses de dezembro a abril; época 2: época seca, meses de maio a setembro e época 3: transição seca/chuva, meses de outubro a novembro); tipo de sêmen (sexado e convencional), efeito individual da doadora e do touro (avaliados em relação à variabilidade genética na produção *in vitro*).

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, de acordo com:

$$Y_{ij} = \mu + EF_i + \alpha_{ij} + e_{ij}$$

em que:  $Y_{ij}$  = Média dos parâmetros da PIVE para cada característica  $i$  analisada;  $\mu$  = Média geral;  $EF_i$  = Efeito dos parâmetros genéticos da PIVE, formado pela combinação dos efeitos fixos;  $\alpha_{ij}$  = Efeito genético aditivo direto do animal  $j$  pertencente ao grupo contemporâneo  $i$  e  $e_{ij}$  = 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:  $NT_{OOC}$ ,  $TX_{CLIV}$ ,  $PC_{O/E}$ ,  $PC_{E/P}$  e  $PC_{O/P}$  foram formados pela combinação do efeito fixo de ano, fazenda e classe. E o grupo de contemporâneo para avaliação das variáveis:  $NT_{EMB}$  e  $NT_{GEST}$  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:

$$y = X\beta + Z\alpha + e$$

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

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

em que:  $G$  = Matriz de variâncias e covariâncias dos efeitos aleatórios do vetor  $\alpha$  e  $R$  = Matriz de variâncias e covariâncias residuais.

As matrizes  $G$  e  $R$  são descritas como:  $G = A_{\emptyset} G_{\emptyset}$

em que:  $A$  = Matriz que indica o grau de parentesco entre os indivíduos;  $G_{\emptyset}$  = Matriz de variâncias e covariâncias residuais entre as características que compõem as observações e  $\emptyset$  = Operador produto direto entre as matrizes, e:  $R = I_{\emptyset} R_{\emptyset}$

$I$  = Matriz identidade de ordem igual à dimensão linha de  $y$ ;  $R_{\emptyset}$  = Matriz de variâncias e covariâncias residuais entre as características que compõem as observações e  $\emptyset$  = Operador produto direto entre as matrizes.

### 3. Resultados e Discussão

A média geral de produção de COCs por aspiração folicular/doadora 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 Nelore para viabilidade de um programa de PIVE, obtiveram média de 30,74 COCs por 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. Em todos os estudos, observou-se valores expressivos de desvio padrão, para a variável produção de oócitos, sendo indicativo que esta variável recebe influência simultânea de fatores ambientais e não ambientais.

Nesse estudo, a média geral de embriões produzidos foi de  $9,82 \pm 8,10$  embriões por aspiração folicular/doadora, sendo similar aos resultados relatados por Baruselli et al. (2006), ao avaliarem doadoras *Bos indicus*, onde observaram média 9,8 embriões em doadoras da Raça Nelore. De forma semelhante, Loiola et al. (2014) relataram em doadoras Nelore, média de 10,09 embriões por aspiração folicular.

A média de gestação por aspiração folicular/doadora foi de  $3,03 \pm 3,63$ . Embora esses valores sejam superiores aos relatados por Viana et al. (2010) e Loiola et al. (2014), observou-se que o desvio padrão apresentado nesse estudo para essa variável foi superior à média da própria variável, demonstrando alta variação no êxito da conversão de oócitos em embrião. Desta forma, pode-se inferir que fatores, genéticos e não genéticos poderiam influenciar na conversão dos oócitos em embriões.

De modo geral, observou-se que os valores de  $PC_{O/E}$ ,  $PC_{E/G}$  e  $PC_{O/G}$  estão próximos aos observados na literatura. A  $PC_{O/E}$  obtida neste estudo foi de 34,19%, próxima aos valores observados por Alves et al. (2003), os quais avaliaram a influência do transporte de oócitos na PIVE bovinos, relatando 33% de taxa de embriões produzidos. De forma semelhante, Viana et al. (2010) com registros de quatro diferentes centrais comerciais de PIVE em bovinos no Brasil, relataram 35,4% de produção de embriões. Desta forma, verifica-se que os valores observados para esta variável, neste estudo, estão dentro da média nacional.

Observou-se que a  $PC_{E/G}$  de 38,39% foram próximas aos valores relatados por Nogueira et al. (2012), que ao avaliarem taxas de gestação de receptoras de diferentes grupos raciais, obtiveram para a Raça Nelore valor próximo a 41,1%.

Andrade et al. (2012) trabalhando com animais Nelore e Senepol, relataram porcentagem de gestação de 39,1% para Nelore e 37,6% para Senepol.

A PC<sub>OG</sub> foi de 10,68, sendo semelhante ao relatado por Viana et al. (2010), que a partir de dados de quatro empresas de PIVE no Brasil, com diferentes grupos genéticos de *Bos indicus*, *Bos Taurus* e raças Sintéticas, relataram taxa de oócitos/gestação de 13,6%. Pontes et al. (2011) ao avaliarem a produção a PIVE e taxa de gestação em um programa comercial com 317 doadoras Nelore encontraram taxa de oócitos/gestação de 12,9%.

Os resultados referentes às TX<sub>CLIV</sub> no presente estudo foram de 66,66%, semelhantes ao observado na literatura que variaram entre 56 a 70% (Ribeiro et al., 2011; Loiola et al., 2014; Silva et al., 2015).

Na Tabela 1 estão apresentados os resultados médios ( $\pm$  desvio padrão) das variáveis OPU, total de COCs, clivagens, embriões produzidos e gestação em cada fazenda estudada, onde se observou que o efeito fazenda influenciou significativamente cada uma das variáveis estudadas ( $p < 0,05$ ).

**Tabela 1** – Média ( $\pm$  desvio padrão) de aspiração folicular (N<sub>AF</sub>), de COCs (NT<sub>OOc</sub>), de embriões clivados (NT<sub>CLIV</sub>), de embriões produzidos (NT<sub>EMB</sub>) e de gestação (NT<sub>PREN</sub>) por aspiração/vaca em cada Fazenda estudada.

FAZENDA	N <sub>AF</sub>	NT <sub>OOc</sub>	NT <sub>CLIV</sub>	NT <sub>EMB</sub>	NT <sub>GEST</sub>
1	93	33,76 $\pm$ 21,96 <sup>a</sup>	24,90 $\pm$ 15,41 <sup>a</sup>	10,27 $\pm$ 8,65 <sup>a</sup>	3,68 $\pm$ 3,95 <sup>a</sup>
2	141	31,91 $\pm$ 20,37 <sup>ab</sup>	23,77 $\pm$ 16,28 <sup>ab</sup>	9,65 $\pm$ 7,68 <sup>ab</sup>	3,03 $\pm$ 3,27 <sup>ab</sup>
3	30	27,27 $\pm$ 18,62 <sup>abcd</sup>	14,43 $\pm$ 9,33 <sup>c</sup>	8,00 $\pm$ 6,54 <sup>abc</sup>	2,33 $\pm$ 2,95 <sup>b</sup>
4	258	31,93 $\pm$ 19,71 <sup>abc</sup>	22,66 $\pm$ 14,32 <sup>ab</sup>	11,10 $\pm$ 8,77 <sup>ab</sup>	3,60 $\pm$ 4,42 <sup>ab</sup>
5	90	28,68 $\pm$ 17,76 <sup>abcd</sup>	17,63 $\pm$ 12,10 <sup>bc</sup>	9,54 $\pm$ 9,02 <sup>abc</sup>	3,02 $\pm$ 3,93 <sup>ab</sup>
6	300	22,63 $\pm$ 16,63 <sup>cd</sup>	13,62 $\pm$ 11,06 <sup>c</sup>	6,58 $\pm$ 7,01 <sup>bc</sup>	1,79 $\pm$ 2,68 <sup>b</sup>
7	249	31,61 $\pm$ 21,83 <sup>ab</sup>	21,51 $\pm$ 16,71 <sup>ab</sup>	9,06 $\pm$ 8,56 <sup>abc</sup>	2,74 $\pm$ 3,46 <sup>ab</sup>
8	14	34,79 $\pm$ 16,91 <sup>ab</sup>	23,08 $\pm$ 12,02 <sup>ab</sup>	10,86 $\pm$ 8,81 <sup>ab</sup>	2,57 $\pm$ 3,16 <sup>ab</sup>
9	80	25,71 $\pm$ 18,68 <sup>bcd</sup>	18,99 $\pm$ 14,66 <sup>abc</sup>	7,48 $\pm$ 7,60 <sup>abc</sup>	2,53 $\pm$ 3,10 <sup>ab</sup>
10	36	20,47 $\pm$ 14,18 <sup>d</sup>	14,73 $\pm$ 10,86 <sup>c</sup>	6,00 $\pm$ 6,46 <sup>c</sup>	1,69 $\pm$ 2,59 <sup>b</sup>
<b>TOTAL</b>	1291	28,83 $\pm$ 19,75	19,71 $\pm$ 14,67	8,89 $\pm$ 8,22	2,76 $\pm$ 3,57
<b>PR &gt; F</b>		<0,0001**	<0,0001**	<0,0001**	<0,0001**

<sup>abcd</sup>Médias seguidas por letras diferentes, na mesma coluna, diferem ( $p < 0,05$ ). Fonte: Dados da pesquisa.

Observa-se alta variação na eficiência da PIVE entre as fazendas avaliadas, o que sugere a existência de um conjunto de fatores ambientais não identificáveis inerentes de cada fazenda que conduziu aos diferentes resultados. Na literatura encontram-se descritos fatores ambientais e de manejo que podem influenciar nos índices de PIVE como: receptoras, idade da doadora, ciclo estral, nutrição, escore de condição corporal, sanidade, sazonalidade, técnico, a raça, manejo e ambiente (Costa Filho et al., 2013; Junqueira et al., 2006).

Na Tabela 2 estão dispostos os resultados desse estudo considerando a de idade da doadora, que influenciou todas as variáveis avaliadas ( $p < 0,05$ ).

**Tabela 2** – Média ( $\pm$  desvio padrão) de aspiração folicular ( $N_{AF}$ ), de COCs ( $NT_{OOC}$ ), de embriões clivados ( $NT_{CLIV}$ ), de embriões produzidos ( $NT_{EMB}$ ) e de gestação ( $NT_{PREN}$ ) por aspiração/vaca de acordo com a faixa etária da doadora.

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

<sup>abcd</sup>Médias seguidas por letras diferentes, na mesma coluna, diferem ( $p < 0,05$ ). Fonte: Dados da pesquisa.

Observou-se que as variáveis apresentadas na Tabela 2 diminuíram de acordo com o avançar da idade das matrizes, sendo que fêmeas mais jovens apresentaram desempenho superior a PIVE. Vacas de até dois anos (Classe 1) apresentaram resultados médios superiores relativos a produções de oócitos e clivagem, enquanto que, animais entre cinco a sete anos (Classe 4) apresentaram a melhor  $PC_{OP}$  e vacas com mais de 13 anos (Classe 8), a menor (14% e 7,92%, respectivamente). Contudo, vacas de até 13 anos demonstraram  $PC_{OP}$  variando de nove a 14,14%, ressaltando 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 possuem genética defasada, sendo necessária substituição por vacas de melhor potencial genético e com melhor produção para PIVE (Rosa, 2013).

Efeito significativo para idade da vaca foi relatado por Peixoto et al. (2006), ao avaliarem animais zebuínos ao observarem a maior produção de embriões viáveis em doadoras entre sete e oito anos. Da mesma forma, Mello et al. (2016) verificaram maior número de oócitos recuperados em doadoras da raça Sindi entre 2 a 6 anos. Essas diferenças entre doadoras de diferentes faixas etárias podem estar relacionadas aos processos de recrutamento e atresia folicular presentes em cada ciclo estral, sendo que doadoras mais velhas, geralmente apresentam menor reserva folicular devido às alterações no perfil hormonal (Neves; Marques JR, 2008).

Observou-se que o  $NT_{CLIV}$  e  $NT_{GEST}$  ( $p < 0,05$ ) foi influenciado pela época do ano que a OPU foi realizada na Fazenda (Tabela 4).

**Tabela 4** – Média ( $\pm$  desvio padrão) de aspiração folicular ( $N_{AF}$ ), de COCs ( $NT_{OOC}$ ), de embriões clivados ( $NT_{CLIV}$ ), de embriões produzidos ( $NT_{EMB}$ ) e de gestação ( $NT_{PREN}$ ) por aspiração/vaca de acordo com época do ano.

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

<sup>ab</sup>Médias seguidas por letras diferentes, na mesma coluna, diferem ( $p < 0,05$ ). Fonte: Dados da pesquisa.

Na época das chuvas observou-se menor média de gestação, uma vez que para o sucesso da gestação há de se considerar a categoria da receptora que é muito afetado pelas condições de ambiente.

Não se observou efeito da estação do ano para as variáveis NT<sub>OOB</sub> e NT<sub>EMB</sub> (p>0,05). No entanto, ao escolher a época da aspiração folicular deve-se considerar a época mais favorável à conversão de oócitos em gestação. Peixoto et al. (2007) avaliando efeitos na taxa de gestação de doadoras zebuínas, obtiveram efeito significativo para estação de ano, onde a estação do outono conduziu a melhores taxas de gestação. Da mesma forma Neves et al. (2016) ao avaliarem influências climatológicas em 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.

Houve efeito significativo para tipo de sêmen para todas as variáveis avaliadas (p<0,05), evidenciando melhor eficiência do sêmen convencional (Tabela 5).

**Tabela 5** – Média ( $\pm$  desvio padrão) de aspiração folicular (N<sub>AF</sub>), de COCs (NT<sub>OOB</sub>), de embriões clivados (NT<sub>CLIV</sub>), de embriões produzidos (NT<sub>EMB</sub>) e de gestação (NT<sub>PREN</sub>) por aspiração/vaca de acordo com o tipo de sêmen utilizado.

SÊMEN	N <sub>AF</sub>	NT <sub>CLIV</sub>	NT <sub>EMB</sub>	NT <sub>PREN</sub>
		$\bar{X} \pm DP$	$\bar{X} \pm DP$	$\bar{X} \pm DP$
<b>Sexado</b>	230	13,82 $\pm$ 12,32 <sup>b</sup>	6,56 $\pm$ 6,81 <sup>b</sup>	1,86 $\pm$ 2,63 <sup>b</sup>
<b>Convencional</b>	1054	20,88 $\pm$ 14,79 <sup>a</sup>	9,35 $\pm$ 8,38 <sup>a</sup>	2,95 $\pm$ 3,72 <sup>a</sup>
<b>TOTAL</b>	1284	19,64 $\pm$ 14,63	8,85 $\pm$ 8,19	2,75 $\pm$ 3,57
<b>PR &gt; F</b>		<0,0001**	<0,0001**	<0,0001**

<sup>ab</sup>Médias seguidas por letras diferentes, na mesma coluna, diferem (p<0,05). Fonte: Dados da pesquisa.

A utilização do sêmen convencional aumenta aproximadamente 59% de produção de gestação em relação ao sêmen sexado. A diferença entre o sêmen sexado e convencional pode estar relacionada ao processo de sexagem, no qual os espermatozoides são expostos a estresse químicos e físicos diminuindo a sua capacidade de fertilização (Serafim et al., 2018). Nascimento et al. (2015) ao compararem o sêmen sexado e convencional, verificaram que os resultados diferiram para produção de blastocisto com taxa de 31,06% para sêmen convencional e 21,10% para sêmen sexado. Da mesma forma, Mello et al. (2016) encontraram 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.

O efeito de touro influenciou o NT<sub>CLIV</sub>, NT<sub>EMB</sub> e NT<sub>GEST</sub> da PIVE desse estudo (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 Watanabe e Oliveira Filho (2000) ao compararem a PIVE em bovinos, utilizando sêmen de touros de três grupos genéticos, e constatarem diferença significativa entre touros e entre grupos genéticos nas taxas de clivagem. Coelho et al. (1998) relataram que as taxas de desenvolvimento embrionário diferem entre os reprodutores. Estas diferenças são manifestadas, tanto na capacidade fecundante como na competência de desenvolvimento do embrião. Serafim et al. (2018) ao avaliarem 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.

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 (Tabela 6).

**Tabela 6** – 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 Gestação (NT<sub>GEST</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 Gestação (PC<sub>E/G</sub>) e Porcentagem de Conversão de Oócitos para Gestação (PC<sub>O/G</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>GEST</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/G</sub>	13,05	83,83	96,88	0,13
PC <sub>O/G</sub>	22,42	454,16	476,58	0,05

Fonte: Dados da pesquisa.

Os resultados encontrados neste estudo para as características de NT<sub>OOC</sub>, NT<sub>EMB</sub>, NT<sub>PREN</sub>, TX<sub>CLIV</sub> 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 avaliarem 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 outros autores. Em estudo conduzido por Perez et al. (2015), foi relatado valores de herdabilidade para raça Guzerá de 0,08 a 0,23 para número de oócitos, 0,17 para embriões clivados e 0,15 para embriões produzidos. Merton et al. (2009a) obtiveram estimativa de herdabilidade variando de 0,09 a 0,25 para número de oócitos, 0,21 para embriões clivados e 0,07 para embriões viáveis em vacas Holandesas. As estimativas de herdabilidade para embriões em programas de PIVE e MOET variam de 0,03 a 0,26 (Peixoto et al., 2004; König et al., 2007; Merton et al., 2009b). Os resultados relacionados à TX<sub>CLIV</sub> e PC<sub>O/g</sub> 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.

De modo geral, podem ser observadas correlações fenotípicas e genéticas positivas e significativas entre NT<sub>OOC</sub>, NT<sub>EMB</sub> e NT<sub>GEST</sub> (Tabela 7).

**Tabela 7** – 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 Produzidos (NT<sub>EMB</sub>) e Número Total de Gestação (NT<sub>GEST</sub>).

	NT <sub>OOC</sub>	NT <sub>EMB</sub>	NT <sub>GEST</sub>
NT <sub>OOC</sub>	1	0,71**	0,50**
NT <sub>EMB</sub>	0,91**	1	0,70**
NT <sub>PREN</sub>	0,65**	0,71**	1
NAF	1291	1291	1291

\*\* = Diferença significativa a 5% de probabilidade. Fonte: Dados da pesquisa.

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), relataram correção fenotípicas para essas características, com valor de 0,48, sendo positiva e moderada. Houve correlação fenotípica positiva e significativa entre  $NT_{OOC}$  e  $NT_{GEST}$ , com valor de 0,50 e a correlação fenotípica entre  $NT_{EMB}$  e  $NT_{PREN}$  foi de 0,70, o que também apresenta alta magnitude. Portanto, é possível inferir que o êxito na PIVE está diretamente relacionado à qualidade e quantidade de oócitos aspirados e embriões produzidos. De acordo com Peixoto et al. (2002) ao avaliar correlações fenotípicas em doadoras Nelore de diferentes regiões do Brasil, encontraram as seguintes correlações: 0,72 entre o total de estruturas recuperadas e embriões viáveis; 0,66 entre estruturas recuperadas e o total de gestação e 0,89 entre embriões viáveis e total de gestação.

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 avaliarem aspectos genéticos de doadoras da Raça Guzerá em três regiões brasileiras obtiveram correlação entre oócitos viáveis e 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  $NT_{GEST}$  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  $NT_{GEST}$  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, 2008). 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, embriões e gestação.

#### 4. Conclusão

A eficiência no processo de produção de oócitos, embriões e gestação, obtidos no Acre, nas condições desse estudo, estão de acordo com os índices observados na literatura nacional. Os efeitos não genéticos na produção de oócitos, embriões e gestação devem ser considerados nos modelos de avaliação genética para estas características.

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 e gestação.

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 gestação.

No entanto, estudos complementares sobre os parâmetros produtivos e genéticos da produção *in vitro* de embriões em bovinos, serão continuamente desenvolvidos visando incrementar os sistemas de produção de gado de corte, sobretudo aqueles inseridos no Estado do Acre.

#### Referências

- Alves, D. F., Rauber, L. P., Rubin, F. B. et al. (2003). Desenvolvimento embrionário *in vitro* de oócitos bovinos mantidos em líquido folicular ou TCM-hepes. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, 40, (4), 279-286.
- Andrade, G. A., Fernandes, M. A., Knychala, R. M. et al. (2012) Fatores que afetam a taxa de prenhez de receptoras de embriões bovinos produzidos *in vitro*. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, 36, (1), 66-69.
- Baruselli, P. S., Sá Filho, M. F., Martins, C. M. et al. (2006). Superovulation and embryo transfer in *Bos indicus* cattle. *Theriogenology*, 65, (1), 77-88.

- Boldman, K., Kriese, L., Van Vleck, L. D. et al. (1995). A set of programs to obtain estimates of variances and covariances: a manual for use of MTDFRENL. *Lincoln: USDA/ARS*, 115.
- Caldas-Bussiere, M. C. et al. (2021). A L-arginina na produção *in vitro* de embriões bovinos: perspectivas para o futuro. *Rev Bras Reprod Anim*, 45, (4), p.600-607.
- Coelho, L. A., Esper, C. R., Garcia, J. M. et al. (1998). Avaliação das condições de maturação oocitária e do efeito do reprodutor na produção *in vitro* de embriões bovinos. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, 35, (3), 120-122.
- Costa Filho, L. C. C., Queiroz, V. L. D., Rosa, L. S. et al. (2013). Fatores que interferem na eficiência reprodutiva de receptoras de embrião bovino. *Arq. Ciênc. Vet. Zool. UNIPAR*, 16, (2).
- Junqueira, J. R. C., Freitas, J. C., Alfieri, A. F., Alfieri, A. A. (2006). Avaliação do desempenho reprodutivo de um rebanho bovino de corte naturalmente infectado com o BoHV-1, BVDV e Leptospira hardjo. *Semina: Ci. Agr.*, 27, (3).
- Konig, S., Bosselmann, F., Borstel, V. et al. (2007). Genetic analysis of traits affecting the success of embryo transfer in dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 90, (8),3945-3954.
- Loiola, M. V. G., Chalhoub, M., Rodrigues, A. S. et al. (2014). Validação de um programa de produção *in vitro* de embriões bovinos com transporte de oócitos e de embriões por longas distâncias. *Ciênc. Anim. Bras.*, Goiânia, 15, (1), 93-101.
- Mello, R. R. C., Mello, M. R. B., Sousa, S. L. G. et al. (2016). Parâmetros da produção *in vitro* de embriões da raça Sindi. *Pesq. Agropec. Bras.*, 51, (10), 1773-1779.
- Merton, J. S., Roos, A. P. W., Mullaat, E. et al. (2009a). Factors effecting oocyte quality and quantity in commercial application of embryo technologies in the cattle breeding industry. *Theriogenology*, 59, 651-674.
- Merton, J. S. et al. (2009b). Genetic parameters for oocyte number and embryo production within a bovine ovum pick-up-*in vitro* production embryo-production program. *Theriogenology*, 72, (7), 885-893.
- Morotti, F., Sanches, B. V., Pontes, J. H. F., Basso, A. C., Siqueira, E. R., Lisboa, L. A., Seneda, M. M. (2014). Pregnancy rate and birth rate of calves from a large-scale IVF program using reverse-sorted semen in *Bos indicus*, *Bos indicus-taurus* and *Bos taurus* cattle. *Theriogenology*, 81,696-701.
- Nascimento, P. S., Chaves, M. S, Santos Filho, A. S. et al. (2015). Produção *in vitro* de embriões utilizando-se sêmen sexado de touros 5/8 Girolando. *Ciênc. Anim. Bras.*, 16, (3), 358-368.
- Neves, M. M., & Marques JR, A. P. (2008). Senescência reprodutiva feminina em mamíferos. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, 32, 133-140.
- Neves, S., Cavalieri, F. L. B., Emanuelli, I. P. (2016). 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, PR*.
- Nogueira, E. N., Cardoso, G. S., Marques Junior, H. R. et al. (2012). Effect of breed and corpus luteum on pregnancy rate of bovine embryo recipients. *Ver. Bras. Zootec.*, 41, (9), 2129-2133.
- Peixoto, M. G. C. D., Pereira, C. S., Bergmann, J. A. G. et al. (2004). Genetic parameters of multiple ovulation traits in Nelore females. *Theriogenology*, 62, (8),1459-1464.
- Peixoto, M. G. C. D., Bergmann, J. A. G., Fonseca, C. G. et al. (2006). Effects of environmental factors on multiple ovulations of zebu donors. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 58, (4), 567-574.
- Peixoto, M. G. C. D., Bergmann, J. A. G., Suyama, E. et al. (2007). Logistic regression analysis of pregnancy rate following transfer of *Bos indicus* embryos into *Bos indicus*× *Bos taurus* heifers. *Theriogenology*, 67, (2), 287-292.
- Peixoto, M. G. C. D., Fonseca, C. G., Penna, M. T. T. (2002). 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. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 54, (5),492-500.
- Pereira, J. C. C. (2008). Melhoramento genético aplicado à produção animal, Belo Horizonte.
- Pereira, A., S., Shitsuka, D., M., Parreira, F., J. & Shitsuka, R. (2018). Metodologia da pesquisa científica. UFSM.
- Perez, B. C., Peixoto, M. G. C. D., Bruneli, F. T. et al. (2015). Parâmetros genéticos para características relacionadas à produção de oócitos e embriões em doadoras da raça Guzera. In: Embrapa Gado de Leite-Artigo em anais de congresso (ALICE). In: *Reunião Anual Da Sociedade Brasileira De Zootecnia*, 52, Belo Horizonte. *Anais... Belo Horizonte: Sociedade Brasileira de Zootecnia*.
- Pontes, J. H. F., Mello Sterza, F. A., Basso, A. C. et al. (2011). Ovum pick up, *in vitro* embryo production, and pregnancy rates from a large-scale commercial program using Nelore cattle (*Bos indicus*) donors. *Theriogenology*, 75, (9), 1640-1646.
- Queiroz, I. F. et al. (2022). Melatonina: Efeitos Na Produção *in vitro* de embriões bovinos. *Revista Interação Interdisciplinar*, (01), p.18-26.
- Ribeiro, L. V. P., Rigolon, L. P., Cavalieri, F. L. B. et al. (2011). Recuperação de oócitos e produção *in vitro* de embriões de vacas estimuladas com FSH ou ECG. *Arch. Zootec.*, 60, (232),1021-1029.
- Rosa, A. N., Martins, E. N., Menezes, G. R. O. et al. (2013). Melhoramento genético aplicado em gado de corte: Programa Geneplus - Embrapa. *Embrapa Gado de Corte*. Livro científico (ALICE).

- Serafim, P. R., Gomes, G. M., Gomes, L. P. M. et al. (2018). Sêmen bovino sexado: A produção *in vitro* de embriões pode ser influenciada pelo touro doador do material genético? *Rev. Saúde*, 9, (1), 4-08.
- Silva, A. P. T. B., Mello, R. R. C., Ferreira, J. E. et al. (2015). Efeito do acasalamento entre a doadora e o touro (Holandês versus Gir) na produção *in vitro* de embriões bovinos. *B. Industr. Anim., Nova Odessa*, 72, (1), 51-58.
- Scanavez, A. L., Campos, C. C., Santos, R. M. (2013). Taxa de prenhez e de perda de gestação em receptoras de embriões bovinos produzidos *in vitro*. *Arq. Bras. Med. Vet. e Zootec.*, 65, (3), 722-728.
- Statistical Analysis System - SAS. (2002). User's guide. Cary: SAS Institute, 525p.
- Vieira, R. J. (2012). Biotécnicas aplicadas à reprodução bovina: generalidades. *Ciência Animal, Fortaleza*, 22, (1), 55-65.
- Viana, J. H. M., Siqueira, L. G. B., Palhão, M. P. et al. (2010). Use of *in vitro* fertilization technique in the last decade and its effect on Brazilian embryo industry and animal production. *Act. Sci. Vet.*, 38, (2), 661-674.
- Viana, J. H. M., Siqueira, L. G. B., Palhao, M. P., & Camargo, L. S. A. (2012). Features and perspectives of the Brazilian *in vitro* embryo industry. *Animal Reprodução*, 9, (1), 12-18.
- Watanabe, Y. F., & Oliveira Filho, E. B. (2000). Efeito de reprodutores, distribuídos em três grupos genéticos, na produção *in vitro* de embriões bovinos. *Arq. Vet.*, 16, 22-27.