

Taxa de gestação após transferência de embriões bovinos produzidos *in vitro*

Pregnancy rate after transfer of *in vitro* produced bovine embryos

Tasa de preñez después de la transferencia de embriones bovinos producidos *in vitro*

Recebido: 26/07/2022 | Revisado: 09/08/2022 | Aceito: 10/08/2022 | Publicado: 19/08/2022

Camila Keterine Gorzelanski Trenkel

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

Adalgiza Pinto Neto

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

Leandro Francisco Cichoski

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5921-9531>
Sêmima Biotecnologia da Reprodução Animal, Brasil
E-mail: Xikovet@hotmail.com

Matheus Ramos Rosin

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4103-3522>
Universidade Federal da Fronteira Sul, Brasil
E-mail: mtr.rosin@gmail.com

Jonatas Cattelam

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4395-2189>
Universidade Federal da Fronteira Sul, Brasil
E-mail: jonatas.cattelam@uffs.edu.br

Resumo

Objetivou-se com esse estudo avaliar a influência do horário da transferência de embriões, do estágio de desenvolvimento e da qualidade dos embriões transferidos, do processamento dos embriões, do ovário ipsilateral ao corpo lúteo (CL) e do tamanho do CL, sobre a taxa de gestação de receptoras embriões bovinos produzidos *in vitro* (PIV) oriundos de raças de corte e leite. Para tanto, utilizou-se dados retrospectivos de 419 transferências de embriões bovinos PIV, sendo 245 oriundas de embriões de raças de corte e 174 de raças de leite, entre os meses de fevereiro a novembro de 2021. A taxa de gestação foi calculada considerando-se os efeitos do horário de realização da transferência dos embriões a receptoras, da fase de desenvolvimento embrionário, da qualidade e processamento do embrião, ovário ipsilateral ao CL e do tamanho do CL. As porcentagens médias foram comparadas pelo Qui-quadrado, mediante pacote estatístico SAS versão 9.2, considerando 5% de significância ($p < 0,05$). As 419 transferências de embriões produzidos *in vitro* resultaram em 29,04% de gestação. Não se observou influência do horário da transferência de embriões às receptoras, do estágio de desenvolvimento dos embriões, do ovário ipsilateral ao CL e do tamanho do CL sobre taxa de gestação de receptoras após transferência de embriões PIV oriundos de raças de corte e leite ($p > 0,05$). Contudo, a qualidade e o processamento dos embriões produzidos *in vitro* exerceram efeitos sobre a taxa de gestação, após transferência de embriões de raças de corte e leite ($p < 0,05$).

Palavras-chave: Biotecnologia; Reprodução assistida; PIV.

Abstract

The objective of this study was to evaluate the influence of the time of embryo transfer, the stage of development and the quality of the transferred embryos, the processing of embryos, from the ipsilateral ovary to the corpus luteum and the size of the corpus luteum, on the pregnancy rate of recipients for *in vitro* produced bovine embryos from beef and dairy cattle breeds. For this purpose, retrospective data from 419 transfers of *in vitro* produced bovine embryos were used, 245 from beef cattle breeds and 174 from dairy cattle breeds, between February and November 2021. The pregnancy rate was calculated considering the effects of the time of embryo transfer to recipients, the stage of embryonic development, the quality and processing of the embryo, the ovary ipsilateral to the corpus luteum and the size of the corpus luteum. Mean percentages were compared by using chi-square, using the SAS statistical package version 9.2, considering 5% significance ($p < 0.05$). The 419 transfers of *in vitro* produced embryos resulted in 29.04% of pregnancy. There was no influence of the timing of embryo transfer to recipients, the stage of embryo development, the ipsilateral ovary to the corpus luteum and the size of the corpus luteum on the pregnancy rate of recipients after transfer of *in vitro* produced embryos from beef and dairy cattle breeds ($p > 0.05$). However, the quality and processing of *in vitro* produced embryos exerted effects on the pregnancy rate after embryo transfer from beef and dairy cattle breeds ($p < 0.05$).

Keywords: Biotechnology; Assisted reproduction; *In Vitro* production.

Resumen

El objetivo de este estudio fue evaluar la influencia del tiempo de transferencia embrionaria, el estadio de desarrollo y la calidad de los embriones transferidos, el procesamiento de los embriones, desde el ovario ipsilateral hasta el cuerpo lúteo y el tamaño del cuerpo lúteo, sobre la tasa de preñez de las receptoras de embriones bovinos producidos *in vitro* de razas de ganado vacuno de carne y lechero. Para ello, se utilizaron datos retrospectivos de 419 transferencias de embriones bovinos producidos *in vitro*, 245 de razas de ganado vacuno de carne y 174 de razas de ganado vacuno lechero, entre febrero y noviembre de 2021. La tasa de preñez se calculó considerando los efectos del momento de la transferencia embrionaria a las receptoras, el estadio de desarrollo embrionario, la calidad y el procesamiento del embrión, el ovario ipsilateral al cuerpo lúteo y el tamaño del cuerpo lúteo. Los porcentajes medios se compararon mediante el chi-cuadrado, utilizando el paquete estadístico SAS versión 9.2, considerando una significancia del 5% ($p < 0,05$). Las 419 transferencias de embriones producidos *in vitro* resultaron en una tasa de preñez del 29,04%. No hubo influencia del momento de la transferencia de embriones a las receptoras, la etapa de desarrollo del embrión, el ovario ipsilateral al cuerpo lúteo y el tamaño del cuerpo lúteo en la tasa de preñez de las receptoras después de la transferencia de embriones producidos *in vitro* de razas de ganado vacuno de carne y lechero ($p > 0,05$). Sin embargo, la calidad y el procesamiento de los embriones producidos *in vitro* ejercieron efectos sobre la tasa de preñez después de la transferencia de embriones de ganado vacuno de carne y lechero ($p < 0,05$).

Palabras clave: Biotecnología; Reproducción asistida; Producción *in vitro*.

1. Introdução

A produtividade dos rebanhos bovinos vem crescendo consideravelmente, decorrente de processos de melhoramento e seleção genética, os quais visam maximizar características produtivas, através da implantação e aperfeiçoamento de biotecnologias da reprodução animal (Mello et al., 2016). Desse modo, a crescente aplicação de biotécnicas como a inseminação artificial em tempo fixo (IATF), transferência de embriões (TE) e produção *in vitro* (PIV) de embriões, é capaz de otimizar o potencial reprodutivo de fêmeas bovinas, bem como melhorar os indicadores de produtividade e lucratividade na produção de bovinos de corte e leite (Scanavez; et al., 2013).

A produção *in vitro* de embriões bovinos porta-se como uma relevante biotécnica aplicada à reprodução assistida, apresentando-se como uma ferramenta eficaz na potencialização da eficiência reprodutiva e na geração de animais geneticamente superiores, contribuindo para o crescimento da produtividade da pecuária brasileira (Leal et al., 2020). Essa técnica consiste na interação do espermatozoide com o oócito fora do trato reprodutivo da fêmea, sob condições laboratoriais, resultando na formação de um novo indivíduo, gerando embriões viáveis oriundos de fêmeas saudáveis de alto valor genético, ou ainda obtendo descendentes de fêmeas não aptas a se reproduzirem por técnicas convencionais (Souza, Abade, 2018; Ealy, et al., 2019; Grázia; Santos, 2021).

O processo da PIV envolve a coleta de oócitos, mediante técnica de aspiração folicular guiada por ultrassom (OPU), além da maturação *in vitro* (MIV), fecundação *in vitro* (FIV) e o cultivo *in vitro* (CIV) de zigotos e embriões fora do útero da fêmea, até o estágio de blastocisto, no qual os embriões podem ser criopreservados e/ou transferidos para o útero de fêmeas receptoras sincronizadas (Souza-Fabjan et al., 2014; Mello et al., 2016).

Como principal vantagem, a PIV promove aumento significativo no número de crias concebidas por fêmea. Silva et al. (2015) relataram que, cada doadora é capaz de produzir cerca de 50 gestações por ano, uma vez que, fisiologicamente, só seria possível a obtenção de um bezerro ao ano, viabilizando o aproveitamento de fêmeas com alterações reprodutivas que impeçam sua reprodução, de animais senis e pré-púberes, sendo uma alternativa para otimizar a padronização dos rebanhos, com animais geneticamente superiores, além de impedir o descarte precoce de fêmeas de alto mérito genético (Scanavez; et al., 2013; Silva et al., 2015; Baruselli et al., 2019).

No entanto, a variabilidade no sucesso das transferências de embriões *in vitro* é um dos impasses para a sua expansão, uma vez que, para que se obtenha taxas de gestação satisfatórias por meio da PIV, alguns fatores necessitam serem observados, considerando suas influências no resultado da técnica (Jelonschek et al., 2018), como a qualidade do corpo lúteo, a sincronia das doadoras e receptoras, raça da doadora, a qualidade do embrião, o efeito do reprodutor, a qualidade e viabilidade do sêmen,

o estresse térmico, o período do ano e o número de transferências de embriões prévias a receptora, bem como a condição corporal e nutricional das mesmas (Andrade et al., 2012; Mello et al., 2016; Becher et al., 2018).

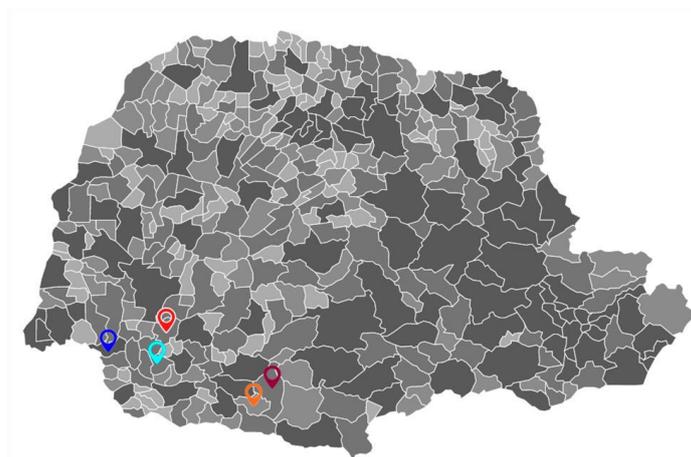
A taxa de gestação das receptoras porta-se como um ponto decisivo para a ascensão da PIV e da transferência de embriões, uma vez que, uma vez que a mesma varia em torno de 55% após transferência de embriões morfologicamente viáveis (Ribeiro Filho et al., 2011), evidenciando perda aproximada de metade dos embriões coletados, o que torna a técnica relativamente onerosa para os produtores, interferindo negativamente na implantação da mesma nos sistemas de criação de bovinos (Fernandes 1999; Ribeiro Filho et al., 2011). Portanto, são inúmeros os fatores que comprometem a taxa de gestação das receptoras, sendo eles intrínsecos ao embrião, ao ambiente uterino, como também aspectos relacionados ao processo de inovulação (Becher et al., 2018).

Partindo do exposto, objetivou-se com esse estudo avaliar a influência do horário da transferência de embriões, do estágio de desenvolvimento e da qualidade dos embriões transferidos, do processamento dos embriões, do ovário ipsilateral ao corpo lúteo e do tamanho do corpo lúteo, sobre a taxa de gestação de receptoras que receberam embriões bovinos produzidos *in vitro* oriundos de raças de corte e leite.

2. Metodologia

Estudou-se dados retrospectivos de 419 transferências de embriões bovinos produzidos *in vitro*, entre os meses de fevereiro a novembro de 2021. Oriundas de 245 embriões de raças de corte (Brangus, Braford, Nelore e Hereford) de três propriedades localizadas nos municípios de Três Barras, Honório Serpa e Mangueirinha, e 174 embriões oriundos de raça de leite (Holandesa) de 13 propriedades nos municípios de Capanema e Salto do Lontra, todas no Estado do Paraná.

Figura 1 – Distribuição geográfica no Estado do Paraná, dos municípios onde os dados desse estudo foram obtidos. As propriedades de criação de gado de corte encontram-se nos municípios em tons de vermelho e as propriedades de atividade leiteira em tons de azul.



Fonte: Adaptado de IBGE (2010).

Coletou-se dados referentes ao horário da transferência dos embriões a receptora; do estágio de desenvolvimento embrionário (mórula, blastocisto inicial, blastocisto, blastocisto expandido) e a qualidade do embrião transferido (Grau 1: pelo menos 85% da massa embrionária viável e intacta e Grau 2: ao menos 50% do material celular composto por massa embrionária viável e intacta;), com base no escore de classificação embrionária de quatro graus, sendo eles: 1: embrião de qualidade excelente ou boa; 2: embrião de qualidade regular; 3: embrião de qualidade ruim e 4: embrião morto ou degenerado

(Stringfellow; Seidel, 1998); do processamento do embrião transferido (fresco ou criopreservado); do ovário ipsilateral ao corpo lúteo (esquerdo ou direito) e do tamanho do corpo lúteo (1: pequeno, 2: médio ou 3: grande).

Os dados foram coletados, organizados, tabulados em planilhas e submetidos a análise estatística. A taxa de gestação foi calculada considerando-se os efeitos do horário de realização da transferência dos embriões, fase de desenvolvimento embrionário, qualidade e processamento do embrião, ovário ipsilateral ao corpo lúteo e o tamanho do corpo lúteo. O tamanho do corpo lúteo também foi avaliado conforme sua ocorrência no ovário esquerdo ou direito.

As porcentagens médias foram comparadas pelo Teste de Dispersão de Frequência (Qui-quadrado), mediante pacote estatístico SAS versão 9.2, considerando 5% de significância ($p < 0,05$).

3. Resultados e Discussão

Foram realizadas 419 transferências de embriões produzidos *in vitro*, que resultaram em 29,04% de gestação. Dessas transferências, 245 embriões foram provenientes de fêmeas bovinas de raças de corte (Brangus, Braford, Nelore e Hereford) e 174 de raça leiteira (Holandesa), que resultaram em taxa de gestação de 29,92% e 27,81%, respectivamente. Valores divergentes foram apresentados por Scanavez, Campos e Santos (2013), ao relatarem taxa de gestação de 57,8% (636/1100), após 1100 transferências de embriões produzidos *in vitro* oriundos de doadoras das raças Gir e Holandesa.

De maneira semelhante, Niemann et al. (2002) ao discorrerem sobre os avanços da PIV e da transferência de embriões, apresentaram valores médios de taxa de gestação de até 50%. Em contrapartida Nonato Júnior et al. (2004), ao avaliarem as diferenças entre programas de TE produzidos *in vivo* e *in vitro*, relataram taxa de gestação de 35,5% (310/849) para embriões PIV e 46,5% (105/226) para transferências realizadas com embriões *in vivo*. Esses autores, acrescentam ainda, que a PIV resulta em maior número de embriões produzidos, no entanto, a utilização de embriões *in vivo* viabiliza maior percentual de taxa de gestação, tendo em vista que a PIV ainda apresenta algumas limitações, tais como a qualidade biológica dos embriões e dificuldades no processo de criopreservação embrionária e de oócitos (Castilho et al., 2009).

Não se observou diferença na taxa de gestação de embriões PIV, de raças de corte após a TE em qualquer hora do dia e, de raça Holandesa a partir das 13:30 horas ($p > 0,05$), como mostra a Tabela 1.

Tabela 1 – Taxa de gestação de embriões bovinos, de raças de corte e leite, produzidos *in vitro*, de acordo com o horário de transferência a receptoras.

Horário da TE	Taxa de gestação (%)			
	Nº de embriões de raças de corte	Nº de embriões de raças de leite	Raças de Corte	Raça de Leite
07:30 – 10:30	88	-	38,33 ^a	-
10:31 – 13:30	74	-	17,14 ^a	-
13:31 – 16:30	50	66	28,00 ^a	18,46 ^A
16:31 – 19:00	24	68	16,67 ^a	38,78 ^A
Após 19:01	09	40	25,00 ^a	31,58 ^A
Valor de p			0,0664	0,1442

^{Aa}Valores seguidos por letras iguais, na mesma coluna, não diferem ($p > 0,05$). Fonte: Dados da pesquisa.

Muitos são os fatores que interferem o resultado dos programas de PIV e transferência de embriões, incluindo o estresse térmico, uma vez que, a eficiência reprodutiva de vacas em lactação sob condições ambientais de altas temperaturas é comprometida, onde se observa efeito deletério do estresse térmico na fertilidade e sobrevivência do embrião (Vasconcelos et

al., 2006). Ademais, as variações climáticas evidenciadas em diferentes épocas do ano podem influenciar a produção de embriões, especialmente em animais taurinos, o que é justificado pela maior sensibilidade desses animais ao estresse calórico, decorrente de altas temperaturas e umidade relativa do ar, como é observado no verão em países de clima tropical (Alves et al., 2009).

Vacas holandesas expostas a temperaturas superiores a 29°C, um dia antes da inseminação artificial apresentam menores taxas de concepção (Silva et al., 2010; Bonato et al., 2014), e receptoras de embriões, com aumento da temperatura retal, apresentaram menor taxa de gestação aos 25 dias pós-inovulação e aumento da taxa de perdas embrionárias (Vasconcelos et al., 2006). A mensuração de parâmetros como a temperatura retal (TR) e frequência respiratória (FR) dos animais, bem como dados de temperatura ambiente, umidade relativa do ar (UR) e índice de temperatura e umidade (ITU), é importante para a avaliação da influência do estresse térmico sobre as taxas de gestação de TE de embriões PIV. Mesmo que nesse estudo tais parâmetros não tenham sido avaliados, a literatura relata suas relevâncias no sucesso de programas de PIV e TE de embriões bovinos (Armstrong, 1994).

Alves et al. (2009) relataram médias de temperatura ambiente e ITU obtidas em horários das 12:00 e 18:00 horas, em épocas de verão, superiores aos limites estabelecidos para o conforto térmico de bovinos, onde os animais apresentavam-se sob condições ambientais estressantes. Adicionalmente, estudos apontaram diferenças da influência do estresse térmico na produção de oócitos e embriões, em fêmeas zebuínas e taurinas, uma vez que, vacas taurinas apresentam menor produção de oócitos viáveis quando comparado com animais zebuínos. Apesar da maior produção oocitária de fêmeas zebu, as mesmas sofrem diminuição na produção de embriões, principalmente nos meses mais frios do ano (Pereira, 2012; Jelonschek et al., 2018).

Não se observou diferenças na taxa de gestação de embriões PIV, em raças de corte após a TE nos estádios de blastocisto e blastocisto expandido, e na raça Holandesa nos estádios de mórula, blastocisto inicial, blastocisto e blastocisto expandido ($p>0,05$), Tabela 2.

Tabela 2 – Taxa de gestação de embriões bovinos, de raças de corte e leite, produzidos *in vitro*, de acordo com o estágio de desenvolvimento do embrião.

Estádio de desenvolvimento do embrião	Taxa de gestação (%)			
	Nº de embriões de raças de corte	Nº de embriões de raças de leite	Raças de Corte	Raça de Leite
MO	-	08	-	37,50 ^A
BI	-	33	-	15,63 ^A
BL	42	42	31,63 ^a	25,00 ^A
BX	203	66	23,08 ^a	20,83 ^A
Valor de p			0,2240	0,2240

^{Aa}Valores seguidos por letras iguais, na mesma coluna, não diferem ($p>0,05$).Fonte: Dados da pesquisa.

Os dados da Tabela 2 corroboram com os obtidos por Mello et al. (2016), ao avaliarem a taxa de gestação mediante diferentes graus de assincronia embrião-receptora, que não observaram diferenças na taxa de gestação de receptoras que receberam embriões em diferentes estádios de desenvolvimento, desde mórula inicial até blastocisto expandido. De maneira semelhante, Scanavez, Campos e Santos (2013) não detectaram efeitos do grau de desenvolvimento do embrião nas taxas de gestação e perdas embrionárias.

Em contrapartida, Neto et al. (2014), relataram taxa de gestação de embriões transferidos em estágio de desenvolvimento inicial (mórula e blastocisto inicial) e embriões de estágio desenvolvido (blastocisto e blastocisto expandido), de 25% e 57,14% respectivamente, e salientaram que existem diferenças bioquímicas e metabólicas nos diferentes estádios de desenvolvimento embrionário, que podem afetar os resultados das taxas de gestação, sendo que embriões transferidos em estádios iniciais podem apresentar retardos em seu desenvolvimento e assim comprometer a gestação. Adicionalmente, Grázia e Santos (2021), também evidenciaram maiores taxas de gestação em fêmeas que receberam embriões em estádios de desenvolvimento mais avançado.

Giorgetti et al. (1995) discorreram sobre a influência da morfologia do embrião e estágio de clivagem, sobre as taxas de gestação após fertilização *in vitro* e TE, com o intuito de otimizar a qualidade dos embriões, e assim, maximizar os resultados obtidos por meio da PIV de embriões bovinos. A qualidade dos embriões produzidos está intimamente relacionada aos processos realizados durante as técnicas de aspiração folicular, cultivo, maturação e fertilização *in vitro* (Coelho et al., 1998; Jelonschek et al., 2018).

Vários fatores interferem na qualidade do embrião, Hidaka et al. (2018), por exemplo, relataram que maiores concentrações de Glutathione (GSH) em óocitos aspirados promove desenvolvimento embrionário mais satisfatório.

Dessa forma, a qualidade do embrião apresenta-se como um fator de grande relevância para o sucesso dos programas de transferência de embriões. Tendo em vista que, a classificação da qualidade embrionária pode ser realizada mediante análise microscópica de critérios morfológicos, como a coloração das células, a homogeneidade e tamanho dos blastômeros, a granulação citoplasmática e o grau de fragmentação dos blastômeros (Alvarez et al., 2008). Ainda, com base em critérios morfológicos a Sociedade Internacional de Transferência de Embriões, elaborou um guia de classificação de qualidade e/ou viabilidade do embrião em quatro graus, sendo eles: grau 1: excelente ou bom; grau 2: regular; grau 3: ruim e grau 4: morto ou degenerado (Stringfellow; Seidel, 1998).

A taxa de gestação de embriões bovinos PIV, após TE com embriões de qualidade grau 1 e grau 2, em gado de corte, foi semelhante ($p>0,05$), e na raça Holandesa, resultou em maior taxa de gestação em transferências realizadas com embriões de qualidade grau 2 ($p<0,05$), Tabela 3.

Tabela 3 – Taxa de gestação de embriões bovinos, de raças de corte e leite, produzidos *in vitro*, de acordo com a qualidade do embrião.

Qualidade	Taxa de gestação (%)			
	Nº de embriões de raças de corte	Nº de embriões de raças de leite	Raças de Corte	Raça de Leite
1	221	142	30,17 ^a	26,36 ^B
2	24	5	27,27 ^a	75,00 ^A
Valor de p			0,7694	0,0088

^aValores seguidos por letras iguais, na mesma coluna, não diferem ($p>0,05$).

^{BA}Valores seguidos por letras diferentes, na mesma coluna, diferem ($p<0,05$).

Fonte: Dados da pesquisa.

Dados divergentes aos relatados nesse estudo foram evidenciados por Andrade et al. (2012), que não observaram influência da qualidade embrionária na taxa de gestação, após TE de embriões de qualidade grau 1 e grau 2. Adicionalmente, Spell et al. (2001), também não relataram efeitos da qualidade do embrião sobre as taxas de gestação. Alvarez et al. (2008), abordaram que existe uma relação positiva entre a qualidade morfológica dos embriões e a taxa de gestação, e acrescentaram

que embriões de melhor qualidade resultaram em índices de gestação mais elevados quando comparado com embriões de baixa qualidade.

Sabe-se que a eficiência em avaliar a qualidade e viabilidade dos embriões PIV apresenta-se como um fator de suma importância para o sucesso dos programas de TE produzidos *in vitro*, tendo em vista que, a utilização de embriões considerados mais aptos a promoverem a gestação otimiza o melhoramento genético dos rebanhos e reduz perdas financeiras associadas à técnica, como também um embrião de maior qualidade possui maior valor comercial agregado (Caetano, 2018). Ademais, a avaliação morfológica dos embriões é realizada mediante técnicas que objetivam diferenciar embriões viáveis e não viáveis, sendo considerada uma abordagem prática, especialmente na aplicação da transferência de embriões bovinos e humanos (Alikani et al., 1999).

No entanto, essa abordagem é considerada por alguns autores pouco precisa, visto que muitos embriões considerados morfológicamente fora do padrão, também resultam em gestação. A avaliação morfológica dos embriões é um método que pode gerar variações de interpretação dos graus de qualidade embrionária entre os profissionais (Farin et al., 1999; Van Soom et al., 2001; Caetano, 2018). Corroborando com os achados desse estudo, poder-se-ia supor que a maior taxa de gestação de embriões PIV observada após transferência de embriões de qualidade grau 2, na raça Holandesa, poderia ser decorrente de variações na graduação do escore qualidade embrionária pelos avaliadores, e/ou ainda, pela capacidade inerente dos embriões de características morfológicas inferiores levar a gestação a termo.

Não se observou diferença na taxa de gestação de embriões PIV, da raça Holandesa após a TE de embriões frescos ou congelados ($p>0,05$), e que foi superior em raças de corte após TE de embriões frescos ($p<0,05$), Tabela 4.

Tabela 4 – Taxa de gestação de embriões bovinos, de raças de corte e leite, produzidos *in vitro*, de acordo com o processamento do embrião.

Processamento	Taxa de gestação (%)			
	Nº de embriões de raças de corte	Nº de embriões de raças de leite	Raças de Corte	Raça de Leite
Fresco	215	123	36,27 ^A	28,66 ^A
Congelado	30	51	0,00 ^B	25,00 ^A
Valor de p			0,0032	0,4397

^{AB}Valores seguidos por letras diferentes, na mesma coluna, diferem ($p<0,05$).

^AValores seguidos por letras iguais, na mesma coluna, não diferem ($p>0,05$).

Fonte: Dados da pesquisa.

As técnicas de criopreservação de embriões bovinos contam com uma vasta possibilidade de protocolos bem definidos, os quais resultam em bons índices de sobrevivência embrionária, viabilizando sua aplicação comercial. No entanto, existem fatores inerentes ao embrião que influenciam nas técnicas de criopreservação, que até o momento não foram completamente elucidados (Werlich et al., 2006; Santin; et al., 2009).

Braga et al. (2017), ao avaliarem a taxa de gestação de embriões frescos ou congelados transferidos para receptoras da raça Brangus, obtiveram percentuais de taxa de gestação de 56,87% e 43,67%, respectivamente, sendo possível evidenciar maiores taxas de gestação após TE de embriões frescos em raças de corte, o que corrobora com os resultados desse estudo. No entanto, Borges Filho (2018), ao realizar um estudo com novilhas e vacas da raça Nelore e avaliar a taxa de gestação após TE de embriões PIV criopreservados e a fresco, não evidenciou diferenças na taxa de concepção entre os dois grupos.

Sabe-se que o aumento da sensibilidade dos embriões PIV aos processos de criopreservação, é decorrente de mudanças na estrutura embrionária, como o menor número de células no embrioblasto, da maior proporção de gotas lipídicas intracelulares e do aumento da permeabilidade da zona pelúcida. Além disso, embriões PIV apresentam menor taxa de compactação do embrioblasto, elevando sua susceptibilidade as crioinjúrias, resultando no maior estresse oxidativo das células, o que leva a diminuição do número de gestações e nascimentos em relação a utilização de embriões frescos (Ramos et al., 2006; Marques et al., 2021).

Não se observou diferença na taxa de gestação de acordo com local da ovulação, ovário direito ou esquerdo, após TE de embriões PIV de raças de corte e leite ($p>0,05$), como mostra a Tabela 5.

Tabela 5 – Taxa de gestação de embriões bovinos, de raças de corte e leite, produzidos *in vitro*, de acordo com o ovário ipsilateral ao CL.

Ovário	Taxa de gestação (%)	
	Raças de Corte	Raça de Leite
Direito	34,66 ^a	23,28 ^A
Esquerdo	23,07 ^a	33,33 ^A
Valor de p	0,0964	0,0974

^{Aa}Valores seguidos por letras iguais, na mesma coluna, não diferem ($p>0,05$).
Fonte: Dados da pesquisa.

Scanavez, et al., (2013), não evidenciaram variações na taxa de gestação e perdas embrionárias, quanto ao ovário da localização do corpo lúteo (direito ou esquerdo), obtendo taxa de gestação de 58,9% e 55,4%, respectivamente. De maneira semelhante, Andrade et al. (2012) não observaram efeitos do lado do corpo lúteo na taxa de gestação, e ainda salientaram que o importante é a qualidade do CL que a receptora possui no momento da inovulação e não o lado em que ocorreu a ovulação. Adicionalmente, Mello (2004) encontrou taxa de gestação semelhante entre receptoras que apresentavam CL do lado direito ou esquerdo. Os resultados desse estudo, coincide com a literatura citada.

O sucesso dos programas de transferência de embriões PIV, bem como a manutenção da gestação, relacionam-se com a qualidade do corpo lúteo da receptora (Andrade et al., 2012; Jelonschek et al., 2018). Na Tabela 6 é possível observar a taxa de gestação de embriões produzidos *in vitro*, de acordo com o tamanho do corpo lúteo, sendo 1: pequeno, 2: médio ou 3: grande. No presente estudo, a taxa de gestação foi semelhante em receptoras que apresentaram CL pequeno, médio ou grande, após TE de embriões PIV de raças de corte e raça de leite ($p>0,05$).

Tabela 6 – Taxa de gestação de embriões bovinos, de raças de corte e leite, produzidos *in vitro*, de acordo com o tamanho do CL.

Tamanho do CL	Taxa de gestação (%)	
	Raças de Corte	Raça de Leite
1	20,00 ^a	0,00 ^A
2	33,82 ^a	26,32 ^A
3	27,27 ^a	30,56 ^A
Valor de p	0,9113	0,4016

^{Aa}Valores seguidos por letras iguais, na mesma coluna, não diferem ($p>0,05$).
Fonte: Dados da pesquisa.

Pessoa et al. (2014), ao avaliarem o tamanho do corpo lúteo (pequeno, médio ou grande) e a taxa de gestação de embriões PIV frescos e criopreservados, relataram que o volume luteal não exerce efeito direto sobre a gestação. De forma semelhante Leal et al. (2009), relataram que não houveram diferenças significativas nas taxas de gestação de acordo com o tamanho do CL, tendo em vista que, os corpos lúteos considerados grandes produziram maior concentração de Progesterona (P₄) quando comparado aos médios e pequenos, o que não afetou as taxas de gestação. Esses relatos foram semelhantes ao encontrado nesse estudo, uma vez que o tamanho do corpo lúteo não influenciou na taxa de gestação ($p>0,05$ – Tabela 6).

Kenyon et al. (2013), relataram variações nos percentuais de taxa de gestação de acordo com a concentração de Progesterona, sendo que a taxa de gestação foi maior em vacas com concentração de P₄ sérica $>5\text{ng/mL}$, e vacas com $<2\text{ng/mL}$ não obtiveram sucesso na manutenção da gestação. Ainda, Mann (2012), ao avaliar dados oriundos de vacas de leite não lactantes da raça Holandesa, evidenciou que o tamanho do corpo lúteo e a concentração sérica de P₄ aumentaram do quinto ao oitavo dia, e do oitavo ao 16º dia do ciclo, salientando que a elevação da P₄ plasmática não apresenta correlação com o discreto crescimento do corpo lúteo. Assim, observaram que o tamanho do CL produz efeitos sobre a concentração de P₄ até o oitavo dia do seu desenvolvimento e ao alcançar sua maturidade passa a não exercer influência na concentração hormonal.

A Tabela 7 apresenta o percentual de ocorrência de corpos lúteos de tamanho 1, 2 ou 3 (pequeno, médio ou grande), e sua prevalência no ovário direito e esquerdo de receptoras de raças de corte e raça de leite.

Tabela 7 – Tamanho do corpo lúteo de acordo com sua ocorrência no ovário direito ou esquerdo em raças de corte e raça de leite.

Tamanho CL	Raças de Corte		Valor de p
	Ovário Direito	Ovário Esquerdo	
1	4,38% ^a	10,71% ^a	0,0868
2	40,35% ^a	28,57% ^a	0,0874
3	23,68% ^a	25,00% ^a	0,8313

Tamanho CL	Raça de Leite		Valor de p
	Ovário Direito	Ovário Esquerdo	
1	1,10% ^A	4,28% ^A	0,1992
2	52,74% ^A	55,71% ^A	0,7089
3	41,76% ^A	35,71% ^A	0,4374

^{Aa}Valores seguidos por letras iguais, na mesma linha, não diferem ($p>0,05$).
Fonte: Dados da pesquisa

Demczuk et al. (1998), relataram que a predominância das ovulações em fêmeas bovinas é no ovário direito, sendo de 36,0% e 64,0%, para ovulações no ovário esquerdo e direito, respectivamente, sem exercer influência sobre a taxa de gestação. Nas condições desse estudo, não foram observadas diferenças na ocorrência de CL de tamanho 1, 2 ou 3 entre os ovários direito e esquerdo de fêmeas de raças de corte e raça de leite ($p>0,05$). Em estudo realizado por Dantas et al. (2018), foram analisadas matrizes que apresentavam corpo lúteo no ovário direito e esquerdo, sendo que 84,81% das matrizes incluídas no programa de TE apresentavam CL no ovário direito e 82,39% das fêmeas selecionadas possuíam CL no ovário esquerdo, não sendo possível identificar diferenças entre os dois grupos, sendo assim, não houve distinção de funcionalidade entre os dois ovários, direito e esquerdo, o que foi observado nos animais de corte e leite desse estudo.

4. Conclusão

Conclui-se que o horário da transferência de embriões às receptoras, estágio de desenvolvimento dos embriões, ovário ipsilateral ao CL e tamanho do corpo lúteo não influenciaram a taxa de gestação de receptoras que receberam embriões produzidos *in vitro* oriundos de raças de corte e leite. Contudo, a qualidade e o processamento dos embriões PIV exerceram efeitos sobre a taxa de gestação, após TE de embriões de raças de corte e leite.

Referências

- Alvarez, R. H., et al. (2008). Transfer of bovine blastocysts derived from short-term in vitro culture of low quality morulae produced *in vivo*. *Reproduction in Domestic Animals*, 43, (3).
- Alves, B. R. C., et al. (2009). Desempenho de novilhas Holandês na produção de embriões F1 Holandês-Zebu, em condições tropicais. *Revista Brasileira de Ciências Veterinárias*, 16, (1).
- Alikani, M. et al. (1999). Human embryo fragmentation in vitro and its implications for pregnancy and implantation. *Assisted Reproductive Technology*, 71, (5).
- Andrade, G. A., et al. (2012). Fatores que afetam a taxa de prenhez de receptoras de embriões bovinos produzidos *in vitro*. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, Belo Horizonte, 36, (1).
- Armstrong, D. V. (1994). Heat stress interaction with shade and cooling. *Journal of Dairy Science*, 77.
- Baruselli, P. S., et al. (2019). Estratégias para aumentar a produção de embriões em bovinos. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, Belo Horizonte, 43, (2).
- Becher, B. G., et al. (2018). Fatores que afetam a produção *in vitro* de embriões (PIVE) em bovinos. *Centro Científico Conhecer*, Goiânia, 15, (28).
- Bonato, G. L., et al. (2014). Sazonalidade da temperatura retal e da taxa de concepção de vacas Jersey leiteiras. *Boletim de Indústria Animal*, Nova Odessa, 71, (2).
- Borges Filho, G. N. (2018). *Taxa de concepção e gestação de embriões produzidos in vitro, transferidos a fresco ou criopreservado, em vacas e novilhas nelore*. Orientador: Joaquim Mansano Garcia. Dissertação (Mestrado em Reprodução Animal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal.
- Braga, H., et al. (2017). Taxa de prenhez de embriões frescos ou congelados de angus e brangus transferidos para receptoras bovinas. *Revista Eletrônica Biotecnologia, Biotecnologia e Saúde*, Curitiba, (18).
- Caetano, D. P. (2018). *Perfil transcricional da criotolerância de embriões produzidos in vitro*. Orientador: Matheus José Sudano. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal do Pampa – UNIPAMPA, Uruguaiana.
- Coelho, L. A., et al. (1998). 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*, São Paulo, 35, (5).
- Castilho, C., et al. (2009). Associação da MOET e OPU-PIV na produção de embriões bovinos. *Ciência Animal Brasileira*, 10, (1).
- Dantas, K. S., et al. (2018). Seleção de receptoras em um programa de transferência de embriões (PIVE) em bovinos no nordeste do Brasil. *Ciência Animal*, 28, (1).
- Demczuk, E., et al. (1998). Transferência de embrião em vacas da raça Simental na região noroeste do Paraná e Sul do Mato Grosso do Sul. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, São Paulo, 35, (4).
- Ealy, A. D., Wooldridge, L. K., & Mccoski, S. R. (2019). Board invited review: post-transfer consequences of in vitro-produced embryos in cattle. *Journal of Animal Science*, 30, (6).
- Farin, P. W., Slenning, B. D., & Britt, J. H. (1999). Estimates of pregnancy outcomes based on selection of bovine embryos produced in vivo or in vitro. *Theriogenology*, 52, (4).
- Fernandes, C. A. C. (1999). Inovações não cirúrgicas e taxa de gestação de receptoras de embrião. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 51, (3).
- Giorgetti, C., et al. (1995). Embryo score to predict implantation after in-vitro fertilization: based on 957 singles embryo transfers. *Human Reproduction*, 10, (9).
- Grázia, J. G. V., & Santos, G. M. (2021). Avaliação do estágio de desenvolvimento embrionário na taxa de prenhez em receptoras de embriões bovinos produzidos *in vitro*. *Brazilian Journal of Animal and Environmental Research*, Curitiba, 4, (3).
- Hidaka, T., et al. (2018). Variations in bovine embryo production between individual donors for opu-ivf are closely related to glutathione concentrations in oocytes during in vitro maturation. *Theriogenology*, 113.
- IBGE, Estados e Cidades. <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pr/panorama>.

- Jelonschek, J. P., et al. (2018). Fatores que afetam a taxa de gestação de receptoras de embriões produzidos *in vitro*. Revisão de literatura. *Scientific Electronic Archives*, 11, (6).
- Kenyon, A. G., et al. (2013). Minimal progesterone concentration required for embryo survival after embryo transfer in lactating holstein cows. *Animal Reproduction Science*, 136, (4).
- Leal, L. S., et al. (2009). Avaliação do corpo lúteo, contratilidade uterina e concentrações plasmáticas de progesterona e estradiol em receptoras de embriões bovinos. *Ciência Animal Brasileira*, 10, (1).
- Leal, G. R., et al. (2021). The spom-adapted ivm system improves in vitro production of bovine embryos. *Theriogenology*, 158.
- Mann, G. E. (2009). Corpus luteum size and plasma progesterone concentration in cows. *Animal Reproduction Science*, 115.
- Marques, T. C., et al. (2021). Blastocoel fluid removal and melatonin supplementation in the culture medium improve the viability of vitrified bovine embryos. *Theriogenology*, 160.
- Mello, V. F. (2004). *Influência da receptora e do embrião sobre a viabilidade embrionária e sexo determinados através da ultrassonografia*. Orientador: Aécio Martin Júnior. 2004. Dissertação (Mestrado em Reprodução Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Mello, R. R. C., et al. (2016). Produção *in vitro* (PIV) de embriões em bovinos. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, Belo Horizonte, 40, (2).
- Neto, H. F. V., et al. (2014). Parâmetros que afetam a taxa de prenhez de receptoras bovinas de embriões produzidos *in vitro*. *Medicina Veterinária (UFRPE)*, Recife, 8, (3).
- Niemann, H., et al. (2002). Gene Expression Patterns in Bovine *in vitro*-Produced and Nuclear Transfer-Derived Embryos and Their Implications for Early Development. *Cloning and Stem Cells*, 4, (1).
- Nonato Júnior, I., et al. (2004). Produção de embriões em vacas nelore com a utilização associada de FIV e TE. In: Reunião Anual Da Sociedade Brasileira De Tecnologia De Embriões, 18., 2004, Barra Bonita. *Anais... Barra Bonita: Acta Scientiae Veterinariae*, 32.
- Pereira, A. (2012). *Variações climáticas ao longo do ano e resultados da PIVE em doadoras de diferentes grupos genéticos*. Orientador: Carlos Antônio de Carvalho Fernandes. 60f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade José do Rosário Vellano, Alfenas.
- Pessoa, A. B. C. M., Pereira, E. T. N., & Melo, M. I. V. (2014). Influência do local de inovação e do tamanho de corpo lúteo sobre a taxa de prenhez em programa de transferência de embriões bovinos em tempo fixo. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, Belo Horizonte, 38, (4).
- Ramos, A. A., et al. (2006). Efeito do transporte no desenvolvimento de embriões bovinos cultivados *in vitro* a fresco ou reaquecidos após vitrificação. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 35, (6).
- Ribeiro Filho, A. L., et al. (2011). Taxa de gestação de receptoras de embriões bovinos com diferentes graus de dificuldades no procedimento de inovação. *Ciência Animal Brasileira*, Goiânia, 12, (4).
- Santin, T. R., Blume, H., & Mondadori, R. G. (2009). Criopreservação de embriões – metodologias de vitrificação. *Veterinária e Zootecnia*, 16, (4).
- 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*. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 65, (3).
- Silva, E. V. C., et al. (2010). Efeito do manejo e de variáveis bioclimáticas sobre a taxa de gestação em vacas receptoras de embriões. *Ciência Animal Brasileira*, Goiânia, 11, (2).
- Silva, J. S., et al. (2015). Aspectos comerciais da transferência de embriões e fertilização *in vitro* em bovinos – revisão. *Nutri Time*, Viçosa, 12, (5).
- Stringfellow, D. A., & Seidel, S. M. (1998). Manual da Sociedade Internacional de Transferência de Embriões. (3ª Edição).
- Souza-Fajan, J. M. G., et al. (2014). In vitro production of small ruminant embryos: Late improvements and further research. *Theriogenology*, 81, (9).
- Souza, N. S., & Abade, C. C. (2018). Produção *in vitro* de embriões bovinos: etapas de produção e histórico no Brasil. *Ciência Veterinária UniFil*, 1, (3).
- Spell, A. R., et al. (2001). Evaluating recipient and embryo factors that affect pregnancy rates of embryo transfer in beef cattle. *Theriogenology*, 56, (2).
- Van Soom, A., et al. (2001). Silicone oil used in microdrop culture can affect bovine embryonic development and freezability. *Reproduction in Domestic Animals*, 36, (3-4).
- Vasconcelos, J. L. M., et al. (2006). Factors potentially affecting fertility of lactating dairy cow recipients. *Theriogenology*, 65, (1).
- Werlich, D. R., et al. (2006). Embriões bovinos PIV vitrificados em diferentes soluções crioprotetoras com ou sem o uso de nitrogênio super-resfriado. *Acta Scientiae Veterinariae*, 34, (1).